

Técnicas de monitoreo para ecosistemas fluviales de la Argentina



Ministerio de Ambiente
y Desarrollo Sostenible
Argentina

CONICET



Técnicas de monitoreo para ecosistemas fluviales de la Argentina

Adonis Giorgi
Eduardo Domínguez
Nora Gómez

Compiladores

Giorgi, Adonis

Técnicas de monitoreo para ecosistemas fluviales de la Argentina / Adonis Giorgi ; Eduardo Domínguez ; Nora Gomez. - 1a ed. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires : Consejo Nacional Investigaciones Científicas Técnicas - CONICET, 2022.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-950-692-199-6

1. Ecosistemas. 2. Aguas Fluviales. I. Domínguez, Eduardo. II. Gomez, Nora. III. Título. CDD 577.6

© 2022 CONICET

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

© 2022 Adonis Giorgi

© 2022 Eduardo Domínguez

© 2022 Nora Gómez

Idea y dirección general del proyecto:

Adonis Giorgi

Eduardo Domínguez

Nora Gómez

Foto de tapa:

Arroyo Noques, Tucumán, Argentina.

Eduardo Domínguez

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.) 2022. *Técnicas de monitoreo para ecosistemas fluviales de la Argentina*. REM.AQUA (Red de Evaluación y Monitoreo de Ecosistemas Acuáticos), Conicet.



Autoridades

Presidente de la Nación

Alberto Fernández

Jefe de Gabinete de Ministros

Juan Manzur

Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible

Ministro de Ambiente y Desarrollo Sostenible

Juan Cabandié

Titular de la Unidad de Gabinete de Asesores

Sr. Juan Manuel Vallone

Secretaria de Política Ambiental en Recursos Naturales

Dra. Beatriz Domingorena

Directora Nacional de Gestión Ambiental del Agua y los Ecosistemas Acuáticos

Dra. Gabriela Liliana Gonzalez Trilla

Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación

Ministro de Ciencia, Tecnología e Innovación

Lic. Daniel Fernando Filmus

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

Presidenta

Dra. Ana María Franchi

Vicepresidente de Asuntos Científicos

Dr. Mario Martín Pecheny

Vicepresidente de Asuntos Tecnológicos

Dr. Roberto Daniel Rivarola

Gerente de Desarrollo Científico y Tecnológico

Prof. Liliana Sacco

Directora de Convenios y Proyectos

Dra. Patricia Maccagno

Prólogo

Adonis Giorgi
Eduardo Domínguez
Nora Gómez

En el año 2020, se publicó el libro *La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de la Argentina. Bases para el análisis de la integridad ecológica*, producido por el grupo de trabajo "Biomonitores" de la REM.AQUA (Red de Evaluación y Monitoreo de Ecosistemas Acuáticos). Este libro, además de recopilar los diferentes tipos de índices que se utilizan en el biomonitoreo de sistemas fluviales en distintas regiones del país, incluyó capítulos de interés general, como aspectos legales y educación, problemáticas de las cuencas y recomendaciones para la gestión. Este primer paso permitió reconocer las fortalezas y debilidades que afrontamos como país frente a las necesidades que impone la gestión del agua, respetando la integridad ecológica de los ecosistemas acuáticos. La idea subyacente del mismo fue promover la utilización de la comunidad acuática, constituida por seres vivos como nosotros, para la bioindicación de la calidad biológica del agua.

Durante mucho tiempo se discutieron los valores de los parámetros "aceptables" de calidad de agua, generalmente basados en parámetros físicos y químicos, frecuentemente sugeridos o impuestos por partes interesadas en un uso económico abusivo de un bien común e imprescindible para la vida, como es el AGUA. Estos valores no siempre se corresponden con una biota saludable. Es por esto que la filosofía de utilizar los organismos acuáticos como indicadores parte de considerar que si la calidad del agua no es buena para ellos, tampoco puede serlo para nosotros.

Teniendo en cuenta las consideraciones precedentes restaba entonces pasar de la teoría a la práctica, considerando además que los encargados de llevar adelante las evaluaciones probablemente son los mismo que realizan los análisis de la calidad del agua por los medios tradicionales. Posiblemente en algunos casos no serán biólogos, o no tienen los

suficientes conocimientos específicos para realizar los muestreos, la separación y determinación de los organismos, y finalmente llegar al cálculo de los índices y su interpretación. Para ello, nos propusimos generar "manuales", lo más completos posibles en cuanto a la descripción de cada método y proceso para llevarlo a cabo, pero al mismo tiempo lo suficientemente simple y dinámico como para hacerlo accesible al gestor que tenga que realizarlo.

Este primer manual, está dirigido a explicar las metodologías requeridas para el biomonitoreo de ecosistemas fluviales de Argentina atendiendo las particularidades de las distintas regiones del país y focalizando el interés en los grupos de organismos frecuentemente utilizados en la evaluación y monitoreo de ríos y arroyos. Se trata de una publicación dinámica, que se irá mejorando con su uso y las demandas que surjan de los distintos ámbitos de la gestión. Este mecanismo permitirá perfeccionarlo e incorporar nuevas metodologías que serán necesarias ante los nuevos desafíos ambientales que imponga la conservación de los recursos acuáticos de Argentina. Próximamente se prevé la edición de un segundo manual dedicado a los ecosistemas lénticos realizado también con la participación de numerosos especialistas.

Mantener e incrementar la integridad ecológica de los de los ecosistemas acuáticos de Argentina es un compromiso que debemos asumir como sociedad para alcanzar un desarrollo sostenible. Para ello es fundamental que los científicos contribuyamos a facilitar la tarea de técnicos y gestores para lograr que el monitoreo de los ecosistemas acuáticos se realice de modo integral y permanente.

Por ello, agradecemos el compromiso, esfuerzo y apoyo de los autores, instituciones y diseñadores que hicieron posible la elaboración de este libro de técnicas.

Prólogo

REM-AQUA
Nora Gómez
Coordinadora Científica

La conservación de los ecosistemas acuáticos y su biodiversidad es central para la gestión de los cuerpos de agua, la cual asegura el acceso al agua de manera sostenible. La Red de Evaluación y Monitoreo de Ecosistemas Acuáticos de Argentina (REM-AQUA) propone este abordaje para el manejo de los ecosistemas acuáticos del país. Además, considera que es vital generar un espacio que permita la interacción de los distintos actores necesarios para llevarla adelante, contribuyendo a interpretar los problemas a partir de diagnósticos integrales, con metodologías que contemplen el análisis de la estructura y funcionamiento de los ecosistemas acuáticos. Es este contexto que nos lleva a reconocer inexorablemente que el empleo de descriptores de la biota juntamente con los de la calidad del hábitat y del agua nos proporcionan una medida integradora de los impactos que puede recibir un ecosistema acuático. Para esto se requiere de herramientas de evaluación y monitoreo, como las que se brindan en esta publicación.

Técnicas de monitoreo para ecosistemas fluviales de la Argentina es el logro del trabajo mancomunado de numerosos especialistas vinculados a la ecología acuática, que aunaron sus conocimientos para producir este documento, en el espacio propiciado por la REM-AQUA. El contenido del manual está orientado a la evaluación de la integridad ecológica de los ecosistemas fluviales del país, a través de aportar estrategias de monitoreo y evaluación de alcance nacional. Este producto se suma al incesante trabajo que se realiza en la red en temas de bioindicación, calidad del agua, regímenes hidrológicos, caudales ambientales y servicios ecosistémicos. El trabajo colaborativo entre científicos y los generadores de políticas públicas ha permitido identificar necesidades y plasmarlas en un documento, como el que se presenta aquí. El mismo aborda técnicas para evaluar el hábitat, el estado de la biota, la física y la química del agua.

Las metodologías desarrolladas en este documento pueden ser aplicadas, por ejemplo, para diagnosticar la severidad del deterioro ambiental de un curso de agua, identificar sus fuentes y causas, evaluar la efectividad de acciones de control o bien de actividades de restauración o rehabilitación. También provee herramientas para la caracterización regional de los ecosistemas fluviales de Argentina.

Esta publicación es un producto que surge de la interacción entre el Ministerio de Ambiente de la Nación y el CONICET, a través de la REM-AQUA como integrante de la Red Interinstitucional Orientada a la Solución de Problemas (RIOSP) del CONICET. En sus objetivos figuran la promoción de la seguridad hídrica, que para alcanzarla requiere conocer la integridad ecológica de los ecosistemas acuáticos, la cual necesita de metodologías de evaluación y monitoreo adaptadas a las particularidades de las distintas ecorregiones del país. Desde la REM-AQUA deseamos que esta publicación sienta las bases para comenzar a evaluar los cuerpos de agua de Argentina en un marco de consensos entre el ámbito académico y de la gestión. Esto contribuirá a definir cuáles son las características deseables que deben reunir los ecosistemas acuáticos de Argentina, para permitir la vida de los organismos en coexistencia con los usos del agua.

Autores

Accattatis, Victoria

Instituto Nacional de Limnología (INALI), CONICET-UNL. Ciudad Universitaria. Colectora Ruta Nacional 168, Paraje El Pozo, (3000), Santa Fe.

Armendáriz, Laura C.

Instituto de Limnología Dr. Raúl A. Ringuelet (ILPLA). CONICET-Facultad de Ciencias Naturales y Museo-UNLP.

Assef, Yanina

Centro de Investigación Esquel de Montaña y Estepa Patagónica (CIEMEP)-CONICET-UNPSJB. Roca 780. Esquel. Chubut (9200).

Avigliano, Esteban

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires. Argentina CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina.

Brand, Cecilia

Centro de Investigación Esquel de Montaña y Estepa Patagónica (CIEMEP)-CONICET-UNPSJB. Roca 780. Esquel. Chubut (9200).

Bustamante, Gustavo

UNSL-Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis. Ejército de los Andes 950 (1er Bloque 2do piso) San Luis Capital (5700).

Cibils-Martina, Luciana

Instituto de Ciencias de la Tierra, Biodiversidad y Ambiente (ICBIA). Universidad Nacional de Río Cuarto – CONICET. Departamento de Ciencias Naturales.

Ciocco, Néstor

Laboratorio de Entomología. Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas (IADIZA). CCT Mendoza CONICET-UNCuyo.

Cochero, Joaquín

Instituto de Limnología Dr. Raúl A. Ringuelet (ILPLA). CONICET-Facultad de Ciencias Naturales y Museo-UNLP.

Cortelezzi, Agustina

Instituto Multidisciplinario sobre Ecosistemas y Desarrollo Sustentable Campus Universitario - Arroyo Seco S/N UNCPBA - Tandil.

Daruich, Jorgelina

UNSL-Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis. Ejército de los Andes 950 (1er Bloque 2do piso) San Luis Capital (5700).

Devercelli, Melina

Instituto Nacional de Limnología (INALI-CONICET-UNL), Ciudad Universitaria. Colectora Ruta Nac. 168, Paraje El Pozo, (3000), Santa Fe

Domínguez, Eduardo

Instituto de Biodiversidad Neotropical (IBN). CONICET – U.N.T. Facultad de Ciencias Naturales e IML.

Fernández, Hugo R.

Instituto de Biodiversidad Neotropical (IBN). CONICET – U.N.T. Facultad de Ciencias Naturales e IML.

Fernández Cirelli, Alicia

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias, Buenos Aires, Argentina CONICET - Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina. Universidad de Buenos Aires. Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA), Buenos Aires, Argentina.

Gil, Angélica

UNSL-Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis. Ejército de los Andes 950 (1er Bloque 2do piso) San Luis Capital (5700).

Giorgi, Adonis

Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES)-UNLu-CONICET. Departamento de Ciencias Básicas-UNLu.

Gómez, Nora

Instituto de Limnología Dr. Raúl A. Ringuelet (ILPLA) CONICET - UNLP

González, Carolina

Instituto de Ecología, Genética y Evolución (IEGEB) CONICET - Universidad de Buenos Aires; Departamento de Ecología, Genética y Evolución, FCEN, Universidad de Buenos Aires

Huber, Paula

Instituto Nacional de Limnología (INALI), CONICET - UNL. Ciudad Universitaria. Colectora Ruta Nacional 168, Paraje El Pozo, (3000), Santa Fe.

Kutschker, Adriana

Universidad Nacional de la Patagonia SJB. Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud. Sede Esquel. Sarmiento 849. 9200. Esquel. Chubut.

Licursi, Magdalena

Instituto Nacional de Limnología (INALI-CONICET-UNL) - Ciudad Universitaria. Colectora Ruta Nac. 168, Paraje El Pozo, (3000), Santa Fe.

Lucero, Julieta del R.

Instituto de Ciencias de la Tierra, Biodiversidad y Ambiente (ICBIA). Universidad Nacional de Río Cuarto – CONICET. Departamento de Ciencias Naturales.

Macchi, Pablo

Universidad Nacional de Río Negro. Instituto de Investigación en Paleobiología y Geología (CONICET-UNRN). Grupo Limnología y bioindicadores Av. Roca 1242 -General Roca (R8332FDZ) Provincia de Río Negro -Argentina.

Marchese, Mercedes R.

Instituto Nacional de Limnología (INALI-CONICET-UNL). Ciudad Universitaria Colectora Ruta Nac. 168, Paraje El Pozo, (3000), Santa Fe.

Márquez, Javier A.

Instituto de Ciencias de la Tierra, Biodiversidad y Ambiente (ICBIA). Universidad Nacional de Río Cuarto – CONICET. Departamento de Ciencias Naturales.

Metz, Sebastian

Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH), CONICET - UNSAM. Av. Intendente Marino Km 8,200, Chascomús (7130), Buenos Aires.

Miserendino, María Laura

Centro de Investigación Esquel de Montaña y Estepa Patagónica (CIEMEP)-CONICET-UNPSJB. Roca 780. Esquel. Chubut (9200).

Montilla, Victoria

Instituto de Ciencias de la Tierra, Biodiversidad y Ambiente (ICBIA). Universidad Nacional de Río Cuarto – CONICET. Departamento de Ciencias Naturales.

Moreno, Liliana E.

UNSL-Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia; Universidad Nacional de San Luis. Ejército de los Andes 950 (1er Bloque 2do piso) San Luis Capital (5700).

Ocon, Carolina S.

Instituto de Limnología Dr. Raúl A. Ringuelet (ILPLA). CONICET-Facultad de Ciencias Naturales y Museo-UNLP.

O'Farrell, Inés

Instituto de Ecología, Genética y Evolución (IEGEB) CONICET - Universidad de Buenos Aires; Departamento de Ecología, Genética y Evolución, FCEN, Universidad de Buenos Aires.

Papazian, Gabriela

Universidad Nacional de la Patagonia SJB. Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud. Sede Esquel. Sarmiento 849. 9200. Esquel. Chubut.

Pero, Edgardo

Instituto de Biodiversidad Neotropical (IBN). CONICET –U.N.T. Facultad de Ciencias Naturales e IML.

Principe, Romina E.

Instituto de Ciencias de la Tierra, Biodiversidad y Ambiente (ICBIA). Universidad Nacional de Río Cuarto – CONICET. Departamento de Ciencias Naturales.

Reynaga, Celina

Instituto de Biodiversidad Neotropical (IBN). CONICET –U.N.T. Facultad de Ciencias Naturales e IML.

Rigacci, Laura

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

Rodríguez Capitulo, Alberto

Instituto de Limnología Dr. Raúl A. Ringuelet (ILPLA). CONICET - Facultad de Ciencias Naturales y Museo - UNLP.

Rodríguez Castro, Carolina

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

Scheibler, Erica

Laboratorio de Entomología. Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas (IADIZA). CCT Mendoza CONICET-UNCuyo.

Taboada , María de los Ángeles

Instituto de Ecosistemas de Aguas Continentales-Área Biología Integrativa-Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 221 (4000) Tucumán.

Thompson, Gustavo A.

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires. Argentina. CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina.

Unrein, Fernando

Laboratorio de Ecología Acuática. Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH)-CC 164 (B7130IWA) Chascomús, Provincia de Buenos Aires. Argentina

Volpedo, Alejandra V.

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires. Argentina. CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina. Universidad de Buenos Aires. Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA), Buenos Aires, Argentina.

Yema, Lilien

Instituto de Ecología, Genética y Evolución (IEGEB) CONICET - Universidad de Buenos Aires; Departamento de Ecología, Genética y Evolución, FCEN, Universidad de Buenos Aires.

Zilli, Florencia L.

Instituto Nacional de Limnología (INALI-CONICET-UNL). Ciudad Universitaria Colectora Ruta Nac. 168, Paraje El Pozo, (3000), Santa Fe

Índice

7	<u>Prólogo</u>
9	<u>Prólogo REM-AQUA</u>
10	<u>Autores</u>
15	<u>Introducción. Estructura básica del manual y selección de protocolos</u>
19	<u>Técnicas de campo y laboratorio: físicas, químicas y morfométricas</u>
21	<u>Parámetros físico-químicos en muestras de agua medidas <i>in situ</i> y en el laboratorio</u>
34	<u>Descripciones técnicas físico-químicas</u>
44	<u>Distribución regional de los protocolos-ecorregiones</u>
46	<u>Tipos de ríos: estimaciones de caudal y morfometría</u>
50	<u>Tipos de sustratos</u>
51	<u>Recomendaciones de seguridad para el campo y laboratorio</u>
55	<u>Técnicas de campo y laboratorio para el estudio de macroinvertebrados</u>
57	<u>Materiales de colecta y equipos de muestreo</u>
63	<u>Procedimientos de muestreo</u>
72	<u>Índices regionales con macroinvertebrados</u>
72	<u>Región del NOA</u>
74	<u>a. Altos Andes y Puna (ABI)</u>
75	<u>b. Yungas (IBY-4)</u>
76	<u>c. Montes de Sierras y Bolsones (BMWP*, ASPT, IBF)</u>
78	<u>Región NEA</u>
80	<u>a. Identificación, recuentos y asignación funcional</u>
80	<u>b. Índices (IMRP, IBMPAM, BMWP, IBF, SIGNAL 2)</u>
94	<u>Región Cuyo (IBSSL)</u>
97	<u>Región Centro</u>
97	<u>a. Muestreo</u>
97	<u>b. Aplicación de Índices (IBC, BMWP)</u>
102	<u>Región Pampa</u>
102	<u>a. Los cursos de agua de la llanura</u>
102	<u>b. Procedimiento de muestreo</u>
102	<u>c. Índices bióticos de aplicación en biomonitoreos de arroyos y ríos pampeanos (IBPAMP, IMRP,PBMWP)</u>
109	<u>Región Patagonia</u>
109	<u>a. Campo de aplicación</u>
109	<u>b. Recomendaciones</u>
109	<u>c. Procedimiento de muestreo</u>
113	<u>d. Aplicación de índices bióticos (BMPS)</u>
119	<u>Técnicas de campo y laboratorio para el estudio de algas y cianobacterias</u>
121	<u>Principales grupos taxonómicos de algas</u>
128	<u>Muestreo de campo y conservación de muestras</u>
131	<u>Ensamblajes de algas</u>
131	<u>Fitoplancton</u>
133	<u>a. Obtención de muestras de fitoplancton</u>
135	<u>b. Laboratorio</u>
137	<u>c. Almacenamiento de muestras</u>
139	<u>d. Indicadores del fitoplancton</u>
141	<u>Bentos y sustratos sumergidos (IPS, IDP)</u>
145	<u>a. Índices taxonómicos empleando diatomeas</u>
148	<u>b. Índices no taxonómicos</u>
149	<u>c. Particularidades para la región Patagonia</u>
150	<u>d. Muestreo</u>

157	Clorofila-a planctónica
163	Floraciones de cianobacterias
171	Evaluación de la concentración de cianotoxinas
181	Limpieza de frústulos de diatomeas
186	Identificación y recuento de algas del bentos
188	Estimación de la biomasa del bentos
190	Determinación del ADN ambiental
201	Índices de calidad de hábitat y de ribera
203	Protocolos para índices de hábitat y de ribera
203	Región NOA (QBRy)
205	Región NEA
205	Región Cuyo
207	Región Centro (IIH, CBR)
211	Región Pampas (IHRPlata, ICRUM, ICRPUSHI, ICR
215	Región Patagonia (IVH, QBRp)
223	Interpretación de la Integridad Ecológica
227	Anexos

Introducción

Estructura básica del manual y selección de protocolos

Este manual reúne una serie de protocolos y recomendaciones para realizar el muestreo y monitoreo en ambiente lóticos. Está dirigido, principalmente, a personal técnico que interviene en tareas de gestión ambiental, pero pretendemos que también resulte una herramienta útil para quienes se acercan al estudio de la ecología acuática fluvial desde su profesión o como integrantes de asociaciones civiles enfocadas en temas ambientales.

El manual reúne recomendaciones para el muestreo de sistemas fluviales que se encuentren en distintas regiones del país. En cada caso corresponderá seleccionar aquellas características más relevantes de acuerdo a cada una de las ecorregiones, al tamaño del río, y al sustrato dominante. También se pueden seleccionar dos grandes grupos no sistemáticos que habitualmente se utilizan para la bioindicación y pueden utilizarse en el biomonitoreo: los macroinvertebrados y las algas. De esta forma, podrán seleccionarse los protocolos más adecuados para poder realizar el muestreo y el monitoreo de un determinado tipo de río.

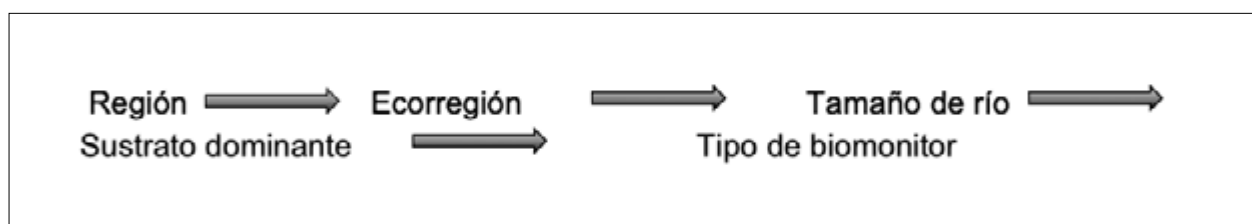
El manual incluye algunos capítulos generales como el de química de las aguas que refiere a los parámetros más relevantes para el monitoreo; otro, sobre las ecorregiones de la Argentina; y otro, sobre algunas de las características geomorfológicas que deben tenerse en cuenta en el muestreo de ríos.

A continuación, hay una serie de capítulos escritos por especialistas de distintas regiones del país

sobre los protocolos y los índices bióticos más utilizados con invertebrados y/o algas.

Como el área ribereña se considera parte del río, también se ofrece en este manual una serie de índices de calidad de ribera y/o del hábitat desarrollados en las distintas regiones. Tanto los índices bióticos, como los ribereños, pueden utilizarse en zonas diferentes a las que han sido generadas si son fisonómica y paisajísticamente semejantes, aunque, en todos los casos, se deberán realizar los ajustes necesarios para adaptar el índice a un lugar nuevo e intentar validar la información brindada por el índice a través de la comparación con otra fuente diferente de obtención de información. De ese modo, los índices bióticos que indican grados de contaminación suelen ser calibrados contra resultados de un conjunto de variables físico-químicas indicadoras de contaminación. Por otro lado, los índices de calidad de ribera también pueden validarse considerando la función ecológica alterada al disminuir la calidad del área ribereña. En general, un área ribereña de baja calidad incrementa los procesos de erosión e incrementa la velocidad de ingreso de un soluto desde la ribera al cauce.

Para programar el monitoreo de un río, debe realizarse la selección de las estaciones de muestreo y de los parámetros a relevar, y tomar las decisiones más adecuadas para obtener la mayor información posible. Para este fin, se deberían transitar los siguientes pasos metodológicos para organizar un monitoreo adecuado:



Paso 1. Identificar todas las variables que podamos definir de los ecosistemas acuáticos que debemos monitorear.

Paso 2. Priorizar criterios.

En los criterios de decisión deberá tenerse en cuenta principalmente: a. en qué región y ecorregión está ubicado el río que se pretende monitorear; b. el tamaño de río que pretende monitorear; c. los tipos de sustratos predominantes en el ambiente fluvial; d. el tipo de características de las áreas de ribera (formaciones vegetales o paisaje en los que se enmarque ese río); e. la capacidad de coleccionar muestras químicas, biológicas y ecológicas; f. la capacidad de analizarlas. Una vez realizado este paso y establecidos los protocolos que serían necesarios adoptar, se puede decidir la incorporación o exclusión de alguno de ellos. Por ejemplo: decidir cuál/es tipos de comunidades, grupos de organismos o ensamblajes se utilizarán como bioindicadores (macroinvertebrados, algas).

Paso 3. Identificar la importancia de los criterios y definir objetivos.

Un monitoreo debe ser sostenido en el tiempo. Si consideramos que los protocolos seleccionados no se pueden realizar con una frecuencia determinada (mensual, por ejemplo), puede decidirse bajar la frecuencia del monitoreo (bimensual, estacional, semestral, anual) o reducir la frecuencia de análisis de algunas variables. Por ejemplo, se pueden hacer algunos controles en forma mensual y otros de modo bimensual. Debe tenerse en cuenta que, en algunos casos, puede resultar mucho más útil un monitoreo más espaciado en el tiempo, pero utilizando todos los medios a nuestro alcance, y en otros, puede ser prudente organizar un monitoreo más simple, pero con una alta frecuencia para poder sostenerlo de modo prolongado. Estos criterios deben estar organizados para poder cumplir los objetivos que se quieren lograr. Si se pretende controlar la calidad de un efluente, se deben establecer las estaciones de muestreo antes y después del área de vertido del mismo. Si los procesos industriales acontecen en determinados periodos de tiempo o estaciones, se deben coordinar con los momentos de la actividad industrial, pero también con los periodos de preparación y de finalización de la misma ya que pueden llegar a ser más contaminantes que la misma actividad.

Paso 4. Decidir las variables posibles y más informativas para el monitoreo.

En cada plan de monitoreo se pueden seleccionar distintas opciones para decidir el muestreo más adecuado, pero hay que tener en cuenta que no todos los indicadores reflejan la misma característica del ambiente fluvial. Por ello, es recomendable

mantener un monitoreo que refleje el estado físico-químico y biológico del agua, pero también la calidad del cauce y su ribera. No es importante que la frecuencia de registros sea exactamente la misma, ya que las escalas de cambio de los distintos indicadores también varían. Por ejemplo, aunque varíe temporalmente el oxígeno disuelto, puede sostenerse una comunidad de invertebrados similar. A su vez, los cambios en la ribera serán variables estacionales pero no debieran cambiar con una frecuencia diaria. Nuevamente, para esta etapa, muchas de estas definiciones dependerán de los objetivos.

Paso 5. Seleccionar una alternativa.

La opción más conveniente se seleccionará tomando en cuenta la importancia de los criterios y cada una de sus alternativas.

Paso 6. Implementar la alternativa.

Primero, se realizará el muestreo de acuerdo a la o las combinaciones de alternativas que se hayan decidido, luego se comenzará con el proceso de monitoreo.

Paso 7. Evaluar la efectividad de la decisión.

Luego de un tiempo, no menor a un año, se deberá evaluar el monitoreo realizado en cuanto a indicadores y frecuencia de toma, y a errores y omisiones cometidas. También se evaluará si los datos y resultados corresponden con los objetivos. Siempre es mejor agregar alguna medida que retirar una que se ha venido haciendo, ya que pierde valor comparativo para el monitoreo.

Dentro de las decisiones a tomar se encuentran diferentes tipos de nodos o niveles:

- Primer nodo: es la región o área de trabajo en la que nos ubicamos; dentro de ella puede haber varias ecorregiones. A partir de esta decisión, se produce la primera división en función de la variable más importante que, en nuestro caso, es la ecorregión.
- Nodos intermedios: tras la primera división, encontramos estos nodos que vuelven a dividir el conjunto de datos en función de las siguientes variables: el tamaño u orden del río, el tipo de sustrato dominante, la estructura de la vegetación ribereña (ej.: bosque, estepa).
- Nodos terminales: se ubican en la parte inferior del esquema y su función es indicar qué bioindicador conviene usar junto con aspectos fisicoquímicos e hidrológicos a considerar.
- Al analizar una cuenca determinada puede ser necesario aplicar distintos protocolos de

recolección de información y análisis, si estas cuencas atraviesan distintas ecorregiones. Habrá cuencas con mayor grado de homogeneidad (según las ecorregiones que atraviesan) que otras.

En este manual, además, se asignan una serie de secciones en las que se explican técnicas específicas, varias de ellas usadas habitualmente. Las mismas son independientes unas de otras y permiten implementar una o más técnicas de análisis que quieran incluirse en el monitoreo o que puedan realizarse como un monitoreo de modo independiente en una época determinada del año o de

condiciones hidrológicas particulares (ej.: aguas bajas o altas). Las secciones incluyen la descripción de técnicas químicas y biológicas específicas, así como explicaciones que pueden ayudar a complementar algunos diseños de monitoreo.

Finalmente, en el último capítulo, se recomienda que el biomonitoreo se complemente con la aplicación de técnicas físicas, químicas, biológicas y ecológicas. De ese modo, se podrá evaluar el grado de integridad ecológica del ecosistema fluvial al contar con información proveniente de indicadores químicos, bióticos (ej.: macroinvertebrados, algas, etc.) y de calidad del hábitat y la ribera.

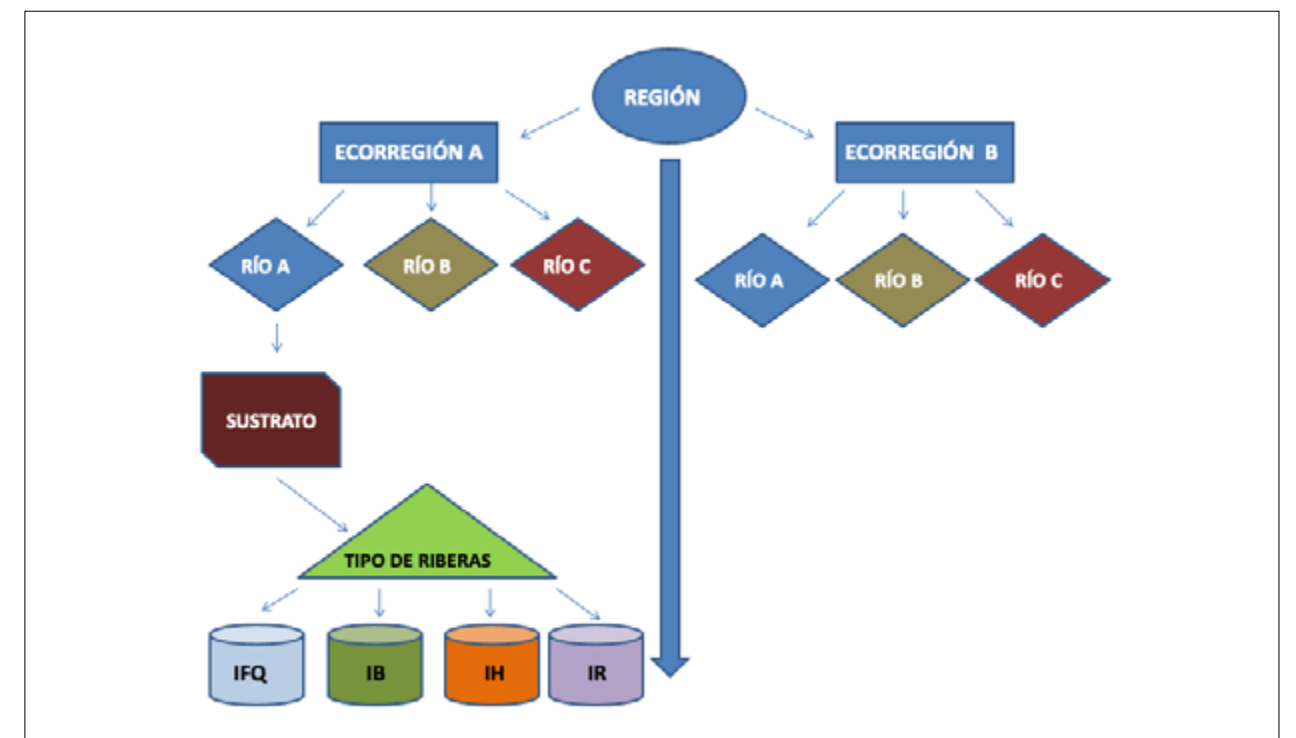


Figura 1: Esquema del árbol de decisiones para la selección de los diferentes criterios con los que se evaluarán los ríos a monitorear. IFQ: índice fisicoquímico; IB: índice biológico; IH: índice de hábitat; IR: índice de ribera.

**Técnicas de campo
y laboratorio:
físicas, químicas
y morfométricas**

Parámetros físico-químicos en muestras de agua medidos *in situ* y en el laboratorio

Alejandra Vanina Volpedo; Gustavo Ariel Thompson, Esteban Avigliano y Alicia Fernández Cirelli

Consideraciones generales: En términos generales, en ambientes lóticos como ríos y arroyos se recomienda coleccionar las muestras en áreas donde el agua circule y evitar las zonas estancadas. Según el tipo de estudio que queramos realizar, se deberán definir las pautas de los lugares de extracción de las muestras. Para el caso de determinaciones de calidad de agua en general, sin suponer fuentes de contaminación puntuales, se puede realizar la toma de muestra de agua en el centro del cauce y a una profundidad no menor de 20 cm.

Para obtener una mejor representación del sitio de estudio se recomienda coleccionar las muestras por triplicado. Esto permite hacer análisis más robustos y facilita la posibilidad de comparación a futuro con otros datos.

Los sitios de colecta de muestras pueden estar distribuidos espacial y temporalmente, según los objetivos del muestreo. A modo de ejemplo, en un cauce de un río pueden tomarse tres puntos de colecta de agua (margen izquierda, centro y margen derecha) que se integran en una sola muestra. También se puede generar una muestra con volúmenes separados por lapsos (por ejemplo, diariamente, estacionalmente, etc.).

Muestreo, análisis, interpretación y confiabilidad de los datos químicos

La colecta de muestras debe ser estadísticamente representativa del conjunto total de datos que se quiere medir, para que los resultados que se obtengan de su análisis permitan conclusiones objetivas, defendibles y sólidamente fundamentadas.

Para desarrollar un plan de muestreo debe decirse cuándo, dónde y qué cantidad de muestras deben ser coleccionadas. El diseño del muestreo de-

pendará de los objetivos del estudio y del alcance que quiera tenerse con los mismos.

En muestreos bidimensionales (horizontales), se debe determinar la posición georeferenciada y se puede desarrollar de varias maneras:

a. Muestreo al azar: la zona se divide en áreas mínimas representativas (por ej. parcelas de 1 m²) y se eligen una cantidad de posiciones al azar asociadas a la cantidad de muestras que se quieren coleccionar.

b. Muestreo en transecta o en pierna: se elige la posición de partida y la longitud de la transecta, así como la distancia mínima entre los puntos de muestreo, y luego se coleccionan las muestras sobre la transecta.

c. Muestreo en etapas: se divide la zona en subunidades regulares y se considera alguna característica física o hidrológica del cuerpo de agua, por ejemplo, antes o después de un tributario o de un efluente, o de una obra ingenieril etc. y luego se coleccionan las muestras en cada subunidad.

d. Muestreo en grilla: se toman muestras a intervalos regulares de espaciado fijo (Fernández Cirelli y Volpedo, 2020).

En el caso de muestreos tridimensionales (ej.: grandes ríos), debe además tenerse en cuenta la dimensión vertical, como es el caso para muestras en profundidad.

La distribución temporal también ofrece variantes. Muchos fenómenos tienen características cíclicas; las muestras afectadas por actividad biológica pueden exhibir grandes cambios en el tiempo asociados a las estaciones del año, al momento del día (mañana, tarde o noche), a un periodo interanual (sequías, inundaciones) o asociados al fenómeno hidroclicmático del Niño (ENSO).

Los datos obtenidos en el laboratorio analítico deben ser técnicamente válidos, legalmente defendibles y de reconocible calidad a fin de obtener un resultado confiable. Todas las medidas tienen errores que pueden ser sistemáticos, que definen la calidad analítica del método y son indicadores usados para evaluar el método empleado. Los procedimientos deben tener un control de calidad que identifique y controle la fuente de error (Blesa et al., 2012).

La precisión es un indicador de la reproducibilidad de la medida y será alta si se usa un método de alta precisión. La exactitud de una medida es su cercanía al valor verdadero; una medida es exacta cuando el error del azar como el error sistemático es bajo. La precisión puede ser calculada repitiendo los análisis de una misma muestra; la exactitud sólo puede ser comprobada analizando muestras de patrones de referencia o por comparación de los resultados de distintos laboratorios.

Por otro lado, hay que considerar los límites de detección (la concentración más baja de un parámetro analítico en una muestra que se puede detectar, aunque no necesariamente cuantificar) y de cuantificación (que es la concentración más baja que se puede determinar con exactitud y precisión aceptables). En la práctica, se considera que el límite de cuantificación es cinco veces el límite de detección (APHA 2017).

Se acepta internacionalmente que la calidad de las mediciones químicas y la comparabilidad de los resultados están basados en los siguientes aspectos: uso de métodos analíticos validados, equipos debidamente mantenidos y calibrados, uso de materiales de referencia para las calibraciones, control de calidad interno efectivo, participación en esquemas de ensayos interlaboratorios, auditorías independientes de los procedimientos y personal debidamente entrenado. Estos aspectos son fundamentales, pues, para determinar la calidad del agua, debemos saber qué contiene y en qué cantidad para considerarla apta para cada uso específico (no debe exceder un límite determinado). Por lo tanto, debemos asegurar la representatividad del muestreo y la calidad de las mediciones químicas para que los resultados obtenidos nos permitan alcanzar conclusiones válidas.

Diseños de muestreo

Se pueden realizar dos tipos diferentes de muestreos en cuerpos de agua (ríos, lagos y aguas superficiales).

Muestreo puntual: donde se colecta la muestra en una ubicación, profundidad y hora seleccionada. Normalmente, la cantidad de agua tomada es suficiente para todos los análisis físicos y químicos que se realizarán. A veces, si el dispositivo de muestreo es pequeño y se deben realizar muchos análisis, se tomarán dos muestras en una estación en un pequeño intervalo de tiempo (15 minutos) y se mezclarán en el mismo envase o contenedor de transporte.

Muestreo compuesto: es decir, muestras compuestas de varias ubicaciones, profundidades o tiempos diferentes para cumplir algunos objetivos específicos de monitoreo. Las muestras compuestas pueden ser de los siguientes tipos:

- **Profundidad integrada:** más comúnmente compuesta por dos o más partes iguales recogidas a intervalos de profundidad predeterminados entre la superficie y el fondo. Existen distintos equipos o métodos que permiten recoger e integrar una muestra de agua desde la superficie a la profundidad requerida en un cuerpo de agua (por ejemplo, bombas sumergibles).
- **Área integrada:** se realiza combinando una serie de muestras tomadas en varios puntos de muestreo distribuidos espacialmente en el cuerpo del agua (pero generalmente todos a una profundidad o a intervalos de profundidad predeterminados).
- **Muestreo integrado en el tiempo:** se realiza mezclando volúmenes iguales de agua recogida en una estación de muestreo a intervalos de tiempo cortos y regulares.
- **Integrado de descarga:** se recogen muestras y se mide la tasa de descarga a intervalos regulares durante el período de interés. Un arreglo común es tomar muestras cada 2 horas durante un período de 24 horas. A continuación, se realiza la muestra compuesta mezclando porciones de la muestra individual que sean proporcionales a la tasa de descarga en el momento en que se tomó la muestra

Elaboración de “blancos” para el muestreo

Un tema importante para considerar es la elaboración de “blancos” que son muestras de agua destilada o ultrapura que se usa en el muestreo. Esto permite que en el caso de que se hayan producido errores humanos en la colecta de muestras,

por ejemplo, problemas con los envases, con el equipamiento o con la preservación de las muestras, se tenga un control y se pueda detectar el punto donde ocurrió el error. Los blancos son muy importantes y deben ser considerados particularmente, ya que permitirán un análisis más detallado y certero de los datos colectados en el muestreo.

Los “blancos de campo” (BC) permiten verificar que no haya contaminación durante los procedimientos que se realizan en el terreno. Para ello, debemos llevar al sitio de muestreo un envase con agua destilada o ultrapura para poder generar el blanco de campo. Durante el procedimiento de colecta de muestras, se debe abrir y cerrar un envase con agua destilada siguiendo los mismos pasos que hicimos cuando se manipularon y acondicionaron las muestras. De esta forma, cualquier elemento que midamos en este blanco nos informará sobre los niveles de contaminación producto del manejo y acondicionamiento.

El “blanco de envases” (BE) se genera en el laboratorio y sirve para analizar si existe algún tipo de contaminación causado por el envase que estamos utilizando; como por ejemplo, por las paredes internas del envase en su proceso de producción o por el enjuagado para su limpieza. Para este paso, se procede a llenar con agua destilada o ultra pura (la misma utilizada para los blancos anteriores) y se deja en el laboratorio hasta regresar de la campaña de muestreos. Este blanco no se lleva al campo, permanece en el laboratorio.

El “blanco de equipamiento” (BEq) es uno de los más importantes ya que define la contaminación de las muestras por el uso de equipamiento. Este blanco se toma cuando terminamos de tomar una muestra en un punto y ya hemos enjuagado de forma estandarizada a los equipos para proceder al próximo punto de muestreo. En ese momento, se enjuagará una vez más el equipo con agua destilada o ultra pura y se guardará esa muestra de agua en un envase, como una muestra más.

Parámetros físico-químicos

Los parámetros físico-químicos son fundamentales en monitoreos de calidad de agua ya que permiten generar información cuyo análisis contribuirá al desarrollo de políticas públicas como, por ejemplo, la conservación de un ecosistema acuático o la implementación de medidas que permitan preservar la calidad de agua para un de-

terminado fin, como el riego de cultivos o el uso en las actividades pecuarias, entre otros usos.

Los indicadores físicos y químicos que se registran comúnmente son: temperatura, turbidez, sólidos disueltos, conductividad, pH, dureza y oxígeno disuelto. Por otro lado, también se pueden complementar estos parámetros con determinaciones de materia orgánica, nutrientes (fósforo y nitrógeno), elementos mayoritarios, metales y compuestos orgánicos como, por ejemplo, plaguicidas. La cantidad de parámetros dependerá de los objetivos del muestreo o del monitoreo.

Algunos de los parámetros físico-químicos, como la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto, deben registrarse *in situ*, en el cuerpo de agua. Para ello, es muy útil el uso de sondas multiparamétricas o electrodos individuales. Para otros tipos de parámetros hay que colectar muestras de agua, preservarlas adecuadamente y transportarlas al laboratorio para ser analizadas, ya que no se pueden determinar *in situ* (Tabla 1).

Parámetros físico-químicos determinados *in situ*

Las sondas multiparamétricas permiten registrar diferentes parámetros en simultáneo y su uso disminuye los tiempos de operación de equipos y de toma de muestras. Para la utilización del equipo, se recomienda tener un balde de plástico de 5 litros solo para este fin, sujeto con una soga en su manija para facilitar la colecta de agua del ambiente acuático en estudio. El balde debe ser enjuagado tres veces con agua del lugar a analizar antes de colectar la muestra correspondiente.

Una vez obtenida la muestra, se sumerge la sonda del equipo que posee los electros de medición de los distintos parámetros a analizar en el agua del balde; dicha sonda deberá estar calibrada previamente. Cuando se estabilizan las lecturas del equipo se procede a ingresar los datos en el soporte digital interno del equipo, o bien registrarlos en una libreta de campo. Finalizada la medición, se retira la sonda de la muestra de agua y se la enjuaga cuidadosamente con agua destilada o ultra pura, de forma de que no queden restos de la muestra en los electrodos y, aquellos que así lo requieran (por ejemplo, pH-metro), deben ser guardados con una solución de almacenamiento para evitar el secado del mismo. Al concluir este paso, se procede a guardar el equipo para poder utilizarlo en la siguiente estación de muestreo.

Los parámetros físico-químicos que se deben registrar *in situ* son:

Temperatura (T)

Es un indicador físico esencial ya que su valor en un cuerpo de agua condiciona la solubilidad de los gases, como por ejemplo el oxígeno disuelto. La temperatura se puede medir usando un termómetro con un rango de 0-50 °C, o un termómetro electrónico. Las sondas multiparamétricas tienen incluida la posibilidad de medir este parámetro *in situ*. Hay que colocar el electrodo de la sonda (o un termómetro, en caso de no contar con una sonda) en el cuerpo de agua aproximadamente a 10 cm de profundidad y agitarlo suavemente, y registrar la medición cuando la lectura del visor de la sonda se haya estabilizado (Método 2550: APHA, 2017).

Turbidez (Tb)

Es un parámetro usado habitualmente en aguas naturales como indicador de la presencia de sólidos,

especialmente coloidales, que incluye partículas de arcilla y limo, materia orgánica e inorgánica finamente particulada y organismos planctónicos. La turbidez es una medida de la claridad de un cuerpo de agua. Es una medición óptica, comúnmente registrada en unidades nefelométricas de turbiedad (UNT), que compara la intensidad de la luz dispersada por una muestra de agua con la intensidad de la luz dispersada por una suspensión estándar de referencia. Esta medición se realiza con una sonda que emite un haz de luz en la muestra de agua y registra la intensidad (Método 2130: APHA, 2017). Si no se cuenta con una sonda de campo, es posible realizar la determinación en el laboratorio con un nefelómetro. En este caso, la determinación se debe realizar lo más pronto posible y refrigerar la muestra a 4 °C para evitar la descomposición microbiana de las partículas orgánicas, sin modificar su pH. Previamente a la determinación en el laboratorio, la muestra debe llevarse a la temperatura de colecta y agitarse vigorosamente para asegurar una medición representativa.

	Determinaciones	Unidades	Método Estandarizado
Indicadores físicos			
Temperatura	<i>In situ</i>	Centígrados	(Método 2550- APHA, 2017)
Turbidez	<i>In situ</i> o en el laboratorio	Unidades Nefelométricas de Turbidez (UNT)	(Método 2130- APHA, 2017)
Sólidos Totales Disueltos	<i>In situ</i> o en el laboratorio	mg/L (ppm)	(Método 2540 C- APHA, 2017)
Sólidos Totales Suspensión	En el laboratorio	mg/L (ppm)	Método 2540 D- APHA, 2017)
Conductividad eléctrica	<i>In situ</i> o en el laboratorio	Microsiemens (µS) miliSiemens/cm	(Método 2510: APHA, 2017)
Indicadores químicos			
pH	<i>In situ</i>		(Método 4500-H+ B: APHA, 2017).
Dureza Total	En el laboratorio	mgCaCO ₃ / L	(Método 2340 C: APHA, 2017)
Oxígeno Disuelto	<i>In situ</i>	mg/L (ppm)	(Método 4500 G -APHA, 2017)
Materia Orgánica Total	En el laboratorio	mg/L (ppm)	(Método 5310 B- APHA, 2017).
Nutrientes (P y N)	En el laboratorio	mg/L (ppm)	(Método 4500-P C; E-APHA, 2017). (Método-N D 4500-APHA, 2017).
Nitratos	En el laboratorio	mg/L (ppm)	(Método 4500 D; E -APHA, 2017).
Iones Mayoritarios: Calcio y Magnesio	En el laboratorio	mg/L (ppm)	(Método 2340 C: APHA, 2017)
Iones Mayoritarios: Sodio y Potasio	En el laboratorio	mg/L (ppm)	(Método 3500 B- APHA, 2017)
Cloruros	En el laboratorio	mg/L (ppm)	(Método 4500 B-APHA, 2017).
Sulfatos	En el laboratorio	mg/L (ppm)	(Método 4500 E -APHA, 2017).
Metales	En el laboratorio	µg/L-mg/L (ppb-ppm)	(Método 3120 B: APHA, 2017).
Compuestos orgánicos de interés	En el laboratorio	µg/L-mg/L (ppb-ppm)	(Método 6020 B; C- APHA, 2017).

Tabla 1: Tipos de parámetros, determinaciones y métodos.

pH

Es la concentración de iones hidrógeno ($\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$), refleja la acidez o alcalinidad de una solución e interviene en los equilibrios de diferentes sustancias químicas que pueden encontrarse en diferentes formas de acuerdo a la acidez, por ejemplo, en la solubilidad de los metales. El pH de las aguas naturales se encuentra en un rango comprendido entre 6 y 9 (Stumm y Morgan, 1995; Conzonno 2009, Tundisi y Tundisi, 2013), aunque puede haber excepciones (Fernández Cirelli y Volpedo, 2020).

Para efectuar su medición *in situ*, se debe utilizar una combinación de electrodos (electrodos de vidrio y referencia) de una sonda. Los electrodos se conservan en una solución de KCl 3 M, pero antes de utilizarse deben dejarse en agua de canilla unos 10 minutos y calibrarse previamente usando dos soluciones buffer comerciales (Método 4500-H⁺B: APHA, 2017).

Oxígeno disuelto (OD)

Es uno de los indicadores más utilizados ya que participa en un gran número de procesos que tienen lugar en el medio acuático. Se define como la cantidad de oxígeno gaseoso (O₂) disuelto en una solución acuosa y puede ser expresado como una concentración (en mg/L), que es un valor absoluto, o como porcentaje de saturación, que es una expresión de la proporción de oxígeno disuelto en el agua en relación con la concentración máxima que puede disolverse a una temperatura, presión y salinidad particular. Esta última, es una medida más recomendable para comparar oxígeno en agua con distintas temperaturas. La determinación analítica se debe realizar *in situ*; para su medición, se pueden usar electrodos individuales o una sonda multiparamétrica. Los electrodos poseen una membrana permeable al oxígeno que se sumerge con leve agitación dentro del cuerpo de agua a analizar y permiten determinar el oxígeno disuelto (Método 4500 O: APHA, 2017). Es conveniente el registro de la hora, del día y de la temperatura cuando se determina este parámetro para facilitar la interpretación de los resultados en un monitoreo. Actualmente, también existen lectores "ópticos" que han demostrado tener mayor rapidez en las mediciones y estabilidad en las determinaciones.

Conductividad eléctrica (CE)

Es la capacidad que presenta el agua para conducir la electricidad y se debe a las sales que lleva disueltas. No es un parámetro específico de una especie química concreta, sino que engloba al conjunto de iones. La conductividad es afectada por las características litológicas del terreno

que atraviesa el agua y por la presencia, o no, de vertidos de aguas residuales, ya que los iones que contienen no son eliminados por los procesos de depuración. Este parámetro sirve para determinar la existencia de algunos vertidos y la posibilidad de reutilización del agua para regar. La conductividad eléctrica se mide aplicando una diferencia de potencial entre dos placas o anillos metálicos (ambos de una superficie conocida y separados por una distancia también conocida) que se colocan en una muestra de agua. Los valores bajos de CE se expresan en micro-Siemens por centímetro (µS/cm), y los valores altos en mili-Siemens por centímetro (mS/cm). Para efectuar una medición, el manejo de la sonda es similar al descrito para el parámetro temperatura y debe hacerse la correspondiente calibración con una solución estándar de cloruro de potasio (Método 2510: APHA, 2017).

Control y calibración de una sonda multiparamétrica

Todos los equipos que se utilicen en un muestreo deben estar previamente revisados y calibrados a fin de garantizar que los registros que se realicen sean fiables. La calibración de cada parámetro debe hacerse previamente al muestreo siguiendo las indicaciones del manual de cada equipo multiparamétrico y utilizando soluciones patrón estandarizadas.

Para la recolección de datos *in situ* (temperatura, oxígeno disuelto, pH, conductividad eléctrica, sólidos totales disueltos, turbidez, etc.) se recomienda utilizar equipos multiparamétricos robustos que soporten ser manipulados intensivamente en campo. Existen varias marcas en el mercado (HANNA, HACH, HORIBA, entre otras). Este tipo de equipos poseen en general una sonda robusta y sus respectivos electrodos para realizar las mediciones. También, un sistema operativo digital que permite registrar el dato de manera segura en cada estación de muestreo y, una vez concluido el muestreo, se puede acceder de manera práctica a los registros guardados en el equipo. Igualmente, siempre se aconseja el apoyo de una libreta de campo, a fin de garantizar tener una copia en papel por cualquier imprevisto.

Recordar que, una vez finalizado el muestreo, se deben limpiar, revisar y controlar todos los equipos y elementos utilizados. Las sondas multiparamétricas deben ser enjuagadas intensamente con agua ultra pura y secadas a temperatura ambiente. Se deben chequear todos los componentes del equipo antes de guardarlo; cada equipo tiene sus recomendaciones en sus manuales de uso, por lo cual se debe seguir las mismas para garantizar el adecuado mantenimiento de la sonda.

Parámetros físico-químicos que se determinan en el laboratorio

Para determinar los parámetros que se miden en el laboratorio (Tabla 1), las muestras de agua deben colectarse sin dejar cámara de aire y preservarse de manera adecuada¹, además deben estandarizarse los procedimientos de rotulado para un correcto envío a los laboratorios de análisis, a fin de garantizar la confiabilidad de los datos obtenidos en terreno.

Colecta preservación y transporte de muestras

Los envases utilizados para las muestras pueden ser botellas de 500 mL de plástico, de polietileno (PE) o politetrafluoroetileno (PTFE, más conocido como teflón). Estas son preferibles a los envases de vidrio ya que tienen la ventaja de que es menos probable que se rompan. Los envases deben utilizarse únicamente para muestras de agua y nunca para el almacenamiento de productos químicos u otros líquidos. Los envases para muestras deben limpiarse escrupulosamente para que no contaminen las muestras colocadas en ellos. Cada envase debe ser enjuagado tres veces con agua de red, una vez con ácido nítrico 1:1 y luego tres enjuagues con agua destilada o ultrapura².

Las muestras de agua deben ser rotuladas previamente a la salida al terreno o en el campo. Tendrán un número exclusivo y único en referencia a un código consensuado que tenga información de la campaña de monitoreo, del lugar de colecta de la muestra, de la fecha, de la hora, del código de numeración de la muestra y de la identificación de la persona que tomó la muestra. En el caso de que el estudio tenga una relevancia socio-ambiental, es común utilizar códigos alfanuméricos para no divulgar información relevante al sitio de muestreo y potenciales resultados.

Las muestras deben ser conservadas a baja temperatura, para lo cual deben ser transportadas en conservadoras térmicas, limpias y descontaminadas. Para garantizar que la temperatura de las muestras se mantenga baja, se puede usar, por ejemplo, hielo en bloque, conservadores térmicos, hielo picado, hielo seco u otra substancia similar. Las muestras que requieren refrigeración son, generalmente, acondicionadas con hielo triturado para facilitar la distribución del frío de manera homogénea. Una combinación entre hielo triturado

y bloques de hielo, usualmente, es lo más conveniente. El hielo seco (en *pellets* o en bloques) se utiliza para muestras que deben ser congeladas inmediatamente de su colecta. Para minimizar inconvenientes con el uso de hielo es recomendable resguardar las botellas dentro de bolsas plásticas (que pueden ser reutilizables) a fin de garantizar que no se borren los rótulos por el efecto del roce con el hielo. Es importante realizar un control visual del estado del hielo para poder realizar recambios acordes a su descongelamiento. En este punto es aconsejable utilizar conservadoras con válvula de drenaje de agua para evitar aperturas innecesarias y tener un mejor manejo del líquido (Schenone *et al.*, 2014).

Las muestras deben ser transportadas directamente al laboratorio de referencia y entregadas al responsable del laboratorio que medirá los parámetros junto con una copia de la planilla que indique el número de rótulo y los datos de la muestra³.

Parámetros físico-químicos de laboratorio

Los parámetros físico-químicos (Tabla 1) que pueden determinarse en las muestras de agua en el laboratorio son:

Sólidos totales en suspensión (STS)

Los STS se definen como la porción de sólidos totales de una muestra de agua que es retenida por un filtro de tamaño de poro de 0,45 µm. Son partículas de tamaño variable que se mantienen en suspensión en el agua. Para su determinación, se filtra un volumen de agua y se pesan los sólidos en suspensión retenidos en el filtro. La muestra se toma en botellas plásticas prelavadas 3 veces con el agua a muestrear antes de la colección final. Debe asegurarse de no incrementar la turbidez del agua muestreada cuando se colecta la muestra al generar disturbios en el fondo del cuerpo de agua. Una vez que el filtro ha sido secado a 103-105 °C y pesado, la cantidad de sólidos totales en suspensión se registra en unidades de mg/L (Método 2540 D: APHA, 2017).

Sólidos totales disueltos (STD)

Constituyen la porción de sólidos en una muestra de agua que pasa a través de un filtro de tamaño de poro de 0,45 µm. Los sólidos totales disueltos son el material residual resultante en un recipiente luego de la evaporación (180 °C) de una

muestra y su subsecuente secamiento en un horno a temperatura definida y constante (Método 2540C: APHA, 2017).

Dureza

Es la suma de todos los cationes multivalentes presentes en el agua. Los cationes más importantes son calcio y magnesio y suele calcularse su valor como la suma de ellos. Químicamente, la dureza, también llamada dureza total, se define como: dureza = [Ca²⁺] + [Mg²⁺]. La dureza se expresa como la masa, en miligramos (por litro) de carbonato de calcio que contiene el mismo número de iones positivos (+2). Según la dureza, las aguas se clasifican como: blandas: 0-60 mg/L CaCO₃, moderadamente blandas: 60-120 mg/L CaCO₃, duras: > 120 mg/L CaCO₃. La dureza total se determina mediante una valoración con EDTA. En el caso de que sea necesario determinar calcio y magnesio individualmente se recomienda realizar las determinaciones por absorción atómica (Método 2340 C: APHA, 2017), aunque también pueden determinarse colorimétricamente.

Materia orgánica

Es un conjunto de compuestos de composición y estructura química bastante diferente, pero que presentan una característica común: su capacidad para reaccionar con el oxígeno en un proceso de oxidación (Fernández Cirelli y Volpedo, 2020).

Las determinaciones de materia orgánica se realizan por:

a) oxidación por parte de microorganismos, que se denomina **demanda bioquímica de oxígeno** (DBO).

b) oxidación por medio de un oxidante químico estandarizado, que puede ser dicromato de potasio: en cuyo caso se denomina **demanda química de oxígeno** (DQO).

c) oxidación total de la materia orgánica: **carbono orgánico total** (COT).

La **demanda bioquímica de oxígeno** (DBO) es el más aproximado a los procesos que tienen lugar en el medio acuático. Se asume que en la muestra hay microorganismos que pueden facilitar la oxidación de la materia orgánica por parte del oxígeno disuelto en el agua. La cantidad de oxígeno consumido, que es lo que se mide (mg de oxígeno/L) depende del tiempo. Por eso, la determinación se realiza a los 5 días (DBO₅) a una temperatura de referencia de 20 °C. Como se mide diferencia de oxígeno, la reacción se lleva a cabo en la oscuridad. El valor de saturación de oxígeno a 20 °C es 9 mg/L. Esto hace necesario que se realicen dilu-

ciones, lo que constituye una fuente de error en la determinación que se debe considerar. Este método presenta una variabilidad intrínseca ya que es una reacción entre compuestos desconocidos de modo que diferentes concentraciones de compuestos puede dar una DBO similar.

Los métodos de **oxidación química** (DQO) incluyen la oxidación con exceso de dicromato de potasio y este exceso se valora con un reductor, el Fe⁺², hasta el punto final. Una alternativa a la titulación es medir la intensidad de color con un espectrofotómetro. El oxidante químico reacciona con sustancias difíciles de biodegradar, por lo que los valores de DQO son en general mayores, y la relación entre DBO y DQO no es lineal. La DQO es de más fácil estandarización y reproducibilidad y se realiza en un tiempo menor (2 h).

El **carbono orgánico total** (COT): se oxida en forma total la muestra y se determina el carbono como dióxido de carbono, se utiliza para la materia orgánica disuelta y suspendida en el agua. La cuantificación del dióxido de carbono generado se puede realizar volumétricamente, por conductividad térmica o una sonda específica. Este método es de más fácil automatización y aunque los equipos disponibles son costosos, se requiere menor tiempo y permite el análisis simultáneo de muchas muestras.

El **carbono orgánico disuelto** (COD) se utiliza para caracterizar el material orgánico que está disuelto. Para aguas superficiales, el COD es de unos 5 ppm en promedio, aunque en humedales con mucha materia orgánica como pantanos y turberas puede alcanzar valores diez veces superiores. Para aguas residuales no tratadas, los valores típicos de COD son de cientos de ppm (Stumm y Morgan, 1995).

Nutrientes

- **Fósforo total:** se encuentra en aguas naturales y residuales casi exclusivamente en forma de fosfatos. Estos se encuentran en formas iónicas o ligados a la materia orgánica. Para su determinación se requiere un volumen de 200 mL de muestra colectada en botella plástica, refrigerada (1 a 4 °C) y mantenida en oscuridad. La determinación analítica incluye una digestión con persulfato (Método 4500-P B 5: APHA, 2017) y una colorimetría basada en una reducción con ácido ascórbico (Método 4500-P F: APHA, 2017).

- **Fósforo soluble:** se determina mediante pruebas colorimétricas sin previa hidrólisis o digestión oxidativa de la muestra. Se requieren

¹ Por ejemplo, en las muestras de agua donde se quieran determinar metales pesados es necesaria la adición de ácido nítrico concentrado.

² Algunos autores también recomiendan, además, hacer un lavado previo con ácido cromático (una mezcla de ácido sulfúrico concentrado H₂SO₄ y dicromato de potasio Na₂Cr₂O₇).

³ Recomendación: no entregue su planilla original en el laboratorio, guárdela para usted.

al menos 125 mL de muestra que puede ser colectada en botella plástica, transportada refrigerada, para luego ser filtrada en el laboratorio por una membrana de 0,45 μm . La determinación analítica se efectúa mediante una reducción con ácido ascórbico y se mide espectrofotométricamente (Método 4500-P F: APHA, 2017).

- **Nitrógeno en forma de amoníaco/amonio:** se determina utilizando la misma metodología analítica. Para su determinación se requiere un volumen de 125 mL de muestra, colectada en botella plástica, refrigerada (1 a 4 °C), que es filtrada por una membrana de 0,45 μm y definida por una colorimetría de fenato (Método 4500-NH3 G: APHA, 2017).
- **Nitrógeno en forma de nitrato/nitrito:** para la determinación se requiere de un volumen de muestra de 125 mL, colectado en botella plástica, refrigerada (1 a 4 °C) y remitido al laboratorio en menos de 24 horas. El nitrato puede determinarse espectrofotométricamente en aguas superficiales y subterráneas. Existen kits comerciales para la determinación de las diferentes especies de nitrógeno. La cromatografía iónica es un método adecuado y preciso para la determinación simultánea de las diferentes formas iónicas. Suele aplicarse el método de la columna reductora para estimar la concentración de nitrógeno en forma de nitratos o nitritos.
- **Nitrógeno Total (NT):** su determinación se puede realizar por el método de Kjeldahl. El volumen de muestra a coleccionar es de 500 o 1000 mL. Las muestras deben ser analizadas inmediatamente, caso contrario pueden preservar acidificando a $\text{pH} < 2,0$ con H_2SO_4 concentrado y almacenándolas a 4 °C. El análisis debe efectuarse dentro de los 28 días siguientes a la colecta de la muestra. El método de Kjeldahl convierte el nitrógeno en amoníaco mediante digestión con ácido sulfúrico durante 2-3 horas en presencia de un catalizador de sulfato de potasio y sulfato de cobre. La determinación final se efectúa mediante una volumetría del amoníaco formado.

Iones mayoritarios

Los iones mayoritarios permiten caracterizar el tipo de agua, los mismos son aniones (bicarbonato HCO_3^- , carbonato CO_3^{2-} , cloruro Cl^- , sulfatos SO_4^{2-}) y los cationes: calcio (Ca^{+2}), magnesio (Mg^{+2}), potasio (K^+) y sodio (Na^+). Existen diferentes métodos

analíticos que pueden emplearse para determinar la presencia de los distintos iones en las muestras de agua (Tabla 2).

Con los valores de las concentraciones de los iones mayoritarios se puede determinar el tipo de agua utilizando el diagrama triangular de Piper Hill Langelier (Fig. 1) que permite conocer el carácter del agua en sus fases químicas y expresa muy bien las relaciones entre los diferentes aniones y cationes presentes en el agua y expresados en miliequivalentes por litro (mEq/L). El diagrama está compuesto por tres partes principales: dos triángulos y un rombo central (Fig. 1). En el triángulo de la derecha se representan los aniones, mientras que en el triángulo de la izquierda se encuentran los cationes. Sobre estos triángulos se grafican los datos del contenido iónico de los análisis y se obtiene un único punto; la proyección de ambos en el diagrama rómbico dará un tercero que indica la composición porcentual relativa en términos de pares de aniones y pares de cationes.

Elementos traza

Las muestras para determinación de elementos traza disueltos en el agua como el cadmio (Cd), el cobre (Cu), el cromo (Cr), el mercurio (Hg), el níquel (Ni), el plomo (Pb), el zinc (Zn) o como el metaloide arsénico (As) se deben coleccionar en recipientes plásticos o de vidrio previamente lavados con agua de red, ácido nítrico diluido y tres enjuagues con agua destilada y ultra pura. El volumen de muestra requerido ronda entre 250 a 500 mL, según la técnica analítica que se use. Las muestras de agua coleccionadas deben ser filtradas utilizando una membrana de 0,45 μm (o diámetro de poro menor en función de los objetivos⁴), acidificadas con ácido nítrico (HNO_3) (concentrado para una proporción final de $\text{pH} < 2$) y preservadas a 4 °C en envases plásticos, de teflón, polipropileno o polietileno.

Para su cuantificación se utilizan métodos de espectrofotometría como Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) o Espectrometría de Emisión Óptica de Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES).

Compuestos orgánicos

Se requiere un volumen de muestra de al menos 1 L en botellas de vidrio opaco o color ámbar con tapa con cubierta de teflón. Las muestras deben ser almacenadas en oscuridad y en recipientes a 4 °C (es posible el congelado en función de los objetivos y compuestos a determinar).

⁴ Si se desea determinar elementos traza totales, no deben filtrarse.

Componente	Métodos de determinación
Carbonatos (CO_3^{2-}) – Bicarbonatos (HCO_3^-)	Titulación ácido-base
Cloruros (Cl^-)	Argentometría Cromatografía de intercambio iónico
Sulfatos (SO_4^{2-})	Turbidimetría Cromatografía de intercambio iónico
Calcio (Ca^{+2})	Complejometría Fotometría de llama Espectrometría de absorción atómica Cromatografía de intercambio iónico Volumétrico EDTA
Magnesio (Mg^{+2})	Complejometría Fotometría de llama Cromatografía de intercambio iónico Espectrometría de absorción atómica Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente
Potasio (K^+)- Sodio (Na^+)	Fotometría de llama Espectrometría de absorción atómica Cromatografía de intercambio iónico

Tabla 2: Métodos de determinación de iones mayoritarios.

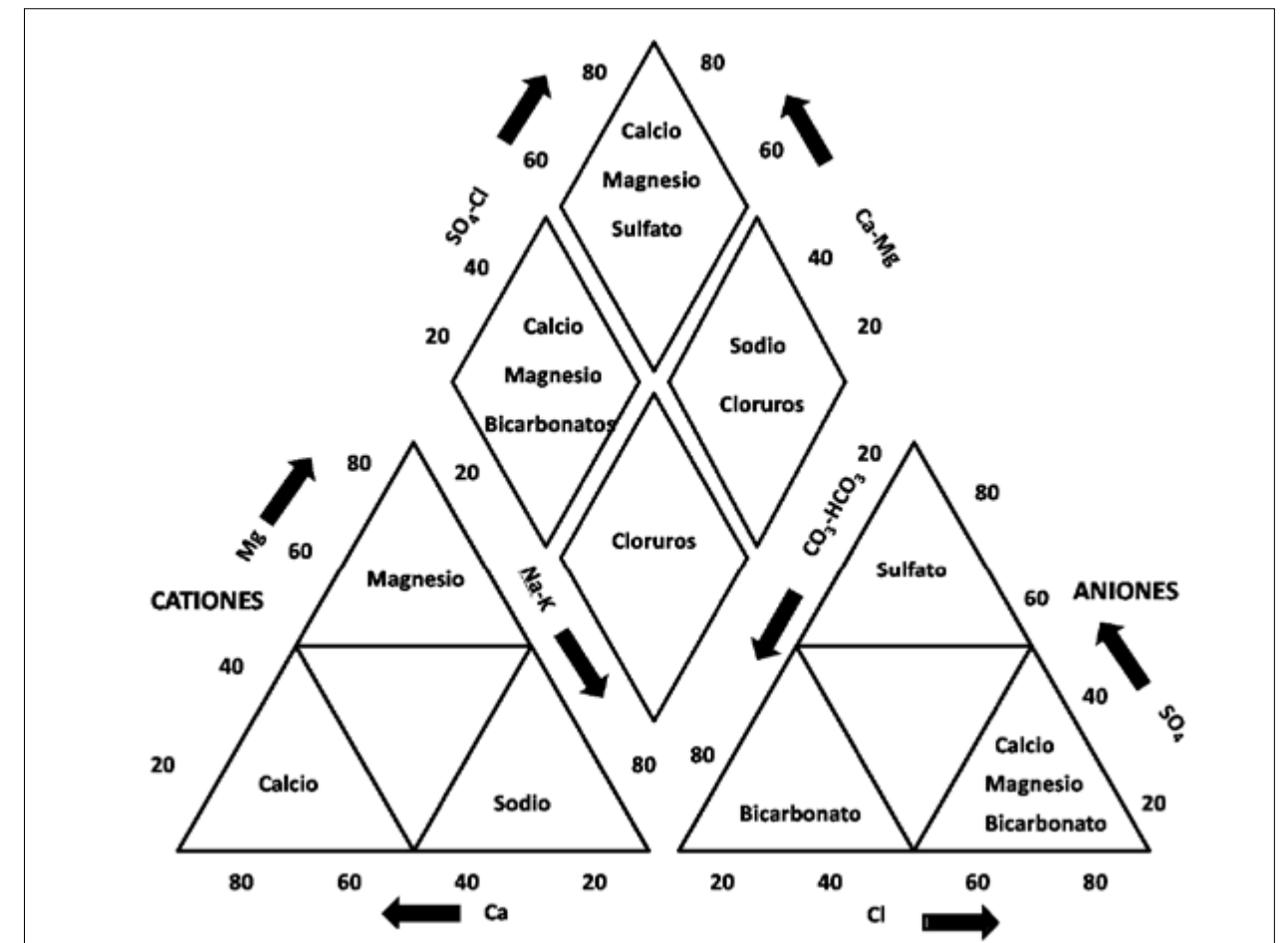


Figura 1: Diagrama de Piper Hill Langelier para calcular la composición porcentual relativa de aniones y de cationes del agua.

La determinación de compuestos orgánicos tiene dos fases principales, la extracción y la cuantificación. Los métodos de extracción son muy variados y generalmente se llevan a cabo mediante el uso de mezclas de solventes orgánicos. La determinación se realiza mediante técnicas de separación como la cromatografía de gases (CG), la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) y la electroforesis capilar (EC) que tienen diferentes variantes y combinaciones con otras metodologías (ejemplo LC-MS/MS). Según el tipo de compuesto, se hace la determinación analítica: organoclorados (Método 6410: APHA, 2017) y organofosforados (Método 8270 C: USEPA, 1996 y método 8141 B: USEPA, 1998).

Consideraciones finales

A modo de resumen se presenta la Tabla 3 que permite tener una visión general de los requerimientos para la colecta, preservación, transporte, conservación y almacenamiento de muestras de agua para la posterior determinación de diferentes parámetros. Estos lineamientos se describen de acuerdo a APHA (2017), USEPA (2007) y la norma ISO 5667-3:2003. Los volúmenes enumerados en la Tabla 3 son para una sola determinación y solo se deben utilizar como guía (valores mínimos). Para determinar concentraciones muy bajas de cualquier componente (analito) pueden ser necesarios volúmenes más grandes. Por otra parte, los volúmenes de muestra van a depender del método analítico que se utilice *a posteriori*, por lo que el laboratorio/institución que realice los análisis debe ser consultado previamente sobre sus requisitos antes del muestreo. A menos que se indique lo contrario, los requisitos enumerados son los de las determinaciones cuantitativas habituales. Estas recomendaciones deben emplearse sólo como una guía. La selección de los volúmenes de muestras, el protocolo de preservación, los procedimientos, tiempos de conservación y condiciones de almacenamiento deben basarse en la naturaleza de la muestra, el uso final previsto de los datos y los objetivos de calidad de los datos. En una muestra dada, el analito que requiera el tratamiento para una mayor preservación, así como el tiempo de conservación más corto, debe dictar el tratamiento de preservación de la muestra general. El procedimiento de preservación se refiere al tratamiento de la muestra después de la recolección, ya sea en tránsito o a su llegada al laboratorio. El tiempo de conservación es el período máximo recomendado desde la recolección de muestras hasta su análisis, en caso de discrepancia entre los distintos lineamientos se ha informado el menor periodo de tiempo.

Se recomienda a los gestores que luego de tener claros los objetivos del monitoreo realicen una lista de los sitios de muestreo seleccionados y en base a ello determinen qué parámetros les son de interés para poder calcular la cantidad de muestras e insumos necesarios para llevar a cabo el monitoreo a fin de tener cubiertos todos los requerimientos. Por otro lado, también deberían organizar la logística del traslado de las muestras e identificar los laboratorios que harán las respectivas mediciones, previo al monitoreo, para garantizar que las muestras sean medidas en tiempo y forma, y preservadas adecuadamente.

Parámetro	Tipo de medición						
	Medición <i>in situ</i> con sonda multiparamétrica o electrodos						
	Medición en el laboratorio						
Parámetro	Envase	Volumen mínimo (ml)	Muestreo y transporte	Preservación	Máximo tiempo de conservación	Almacenamiento	Observaciones
<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura • Turbidez • pH • Oxígeno disuelto • Conductividad eléctrica 							
<ul style="list-style-type: none"> • Sólidos Totales • Disueltos • Suspendedos 	Polietileno (PE), teflón (PTFE) o vidrio	1000	Llenar el envase hasta excluir el aire. Transportar con hielo		2 días.	Refrigerar ($\leq 6^\circ\text{C}$) NO congelar	Sólidos disueltos también es conocidos como "residuos filtrables" o "sólidos disueltos totales" (TDS). Sólidos suspendidos también es conocido como "residuos no filtrables" (NFR).
Dureza	Polietileno (PE), teflón (PTFE) o vidrio	200	Llenar el envase hasta excluir el aire.		2 o 3 días	Refrigerar ($\leq 6^\circ\text{C}$) NO congelar	
<ul style="list-style-type: none"> • Materia orgánica de oxígeno (DBO) • Demanda química de oxígeno (DQO) • Carbón orgánico total (COT) 	Polietileno (PE), teflón (PTFE) o vidrio de color opaco o ámbar con tapa de teflón.	200	Transporte con el hielo y sin luz.	En caso del carbono orgánico: Acidificar (ácido sulfúrico, clorhídrico o fosfórico) a $\text{pH} < 2$	Recomendado DBO 1 día; DQO y COT, 7 días.	Refrigerar ($\leq 6^\circ\text{C}$) en oscuridad. NO congelar	Analizar tan pronto como sea posible. Mantener alejado de la luz.

Parámetro	Tipo de medición						
Nutrientes • Fósforo total (PT): • Fósforo soluble • Nitrogeno en forma de amoniaco/ amonio • Nitrogeno en forma de nitrato/nitrato • Nitrogeno Total (NT)	Polietileno (PE)	200	Llenar el envase hasta excluir el aire. Transportar con hielo y mantener en oscuridad en el caso del Pt.	Acidificar a pH < 2,0 con H ₂ SO ₄	24 hs especialmente para nitratos y nitritos.	Refrigerar (≤ 6° C) NO congelar	Análisis tan pronto como sea posible.
		1000			Dentro de los 28 días siguientes a la colecta de la muestra.	Refrigerar (≤ 4° C) NO congelar	
Aniones • Bicarbonato (HCO ₃ ⁻) • Carbonato (CO ₃ ⁻²) • Cloruro (Cl ⁻) • Sulfato (SO ₄ ⁻²)	Polietileno (PE), teflón (PTFE) o vidrio de borosilicato	200	Llenar el envase hasta excluir el aire. Transportar con hielo		28 días. Para HCO ₃ ⁻ y CO ₃ ⁻² , recomendado 24 hs, es aceptable hasta 14 días	Refrigerar (≤ 6° C) NO congelar	
	Polietileno (PE) o teflón (PTFE)	500	Llenar el envase hasta excluir el aire. Transportar con hielo	Acidificar con ácido nítrico a pH < 2	< 1 mes; 7 días sin acidificar la muestra.	Refrigerar (≤ 6° C) NO congelar	La acidificación permite la determinación de otros componentes (metales) en la muestra.
Elementos traza (As, Ba, Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb, Sr, Zn, entre otros)	Polietileno (PE) teflón (PTFE), polipropileno (PP)	250 a 500 mL	Llenar el envase hasta excluir el aire.	Acidificar con ácido nítrico a pH < 2	1 mes	Refrigerar (≤ 4° C)	Las muestras pueden ser filtradas en función de los objetivos del muestreo, acidificadas con ácido nítrico.
	Vidrio de color opaco o ámbar con tapa de teflón.	1000	Llenar el envase hasta excluir el aire. Transportar en oscuridad y refrigeradas a 4 °C		1 mes	Refrigerar (≤ 4° C)	
Compuestos orgánicos • Organoclorados • Organofosforados • Otros							

Tabla 3: Resumen de los parámetros más relevantes y volúmenes de muestra requeridos, así como preservación y tiempo de almacenamiento de vida útil de las mismas.

Bibliografía

Baird, R. B., A. D. Eaton & E. W. Rice (Eds.). 2017. *Standard methods for the examination of water & wastewater*. 23.ª ed. Washington, DC: American Public Health Association (APHA).

Blesa, M. A., M. Do Santos Alfonso y M. C. Apella. 2012. *Agua y ambiente. Un enfoque desde la química*. Buenos Aires: Eudeba. 353 pp.

Conzonno, V. 2009. *Limnología química*. La Plata: Editorial de la Universidad Nacional de La Plata.

Fernández Cirelli A. y A. Volpedo. 2020. Indicadores físico-químicos: ¿qué, cómo y cuánto reflejan la calidad del agua?. En: Domínguez, A. Giorgi y N. Gómez (Comp.). *La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de la Argentina: bases para el análisis de la integridad ecológica* (1.ª ed.). Buenos Aires: Eudeba, pp. 9-21. ISBN digital 978-950-23-3006-8/ ISBN formato impreso: 978-950-23-3005-1.

ISO 5667-3:2003. *Calidad del agua. Muestreo. Parte 3: Guía para la conservación y manipulación de las muestras de agua*. International Standards Organization.

Schäfer, R. B., A. Paschke, B. Vrana, R. Mueller & M. Liess. 2008. Performance of the Chemcatcher® passive sampler when used to monitor 10 polar and semi-polar pesticides in 16 Central European streams, and comparison with two other sampling methods. *Water Res*, 42(10–11): 2707–2717.

Schenone, N., H. Moscuza, E. Avigliano, J. Ross y E. Mabragna. 2014. *Plan Estandarizado de Muestras de Calidad de Agua Superficial*. Buenos Aires.

Stumm, W., J.J. Morgan. 1995. *Aquatic Chemistry*. 3.ª ed. USA: John Wiley & Sons, Inc. 1022 pp.

USEPA. 2007. Title 40 of the Code of Federal Regulations (CFR), Chapter 1. *Environmental Protection Agency*, Subchapter D. Water Programs, Part 136. *Guidelines establishing test procedures for the analysis of pollutants*, Subpart 136.3. *Identification of test procedures*. United States Environmental Protection Agency on-line, <https://www.ecfr.gov/current/title-40>.

La mayor parte de las técnicas químicas que se describen a continuación están basadas en APHA, 2005. Se trata de una selección y se sugieren algunas recomendaciones emanadas de la práctica analítica. En la actualidad, muchas de estas técnicas pueden reemplazarse por determinaciones a través de sondas o la utilización de kit de reactivos. Las primeras suelen basarse en aumentar la fuerza iónica del ión que se intenta medir; las segundas, en las descripciones que se acompañan a continuación.

Descripciones técnicas físico-químicas

Laura Rigacci y Carolina Rodríguez Castro

Calcio y Magnesio

Las concentraciones de calcio y magnesio se pueden determinar realizando titulaciones con EDTA. Para discriminar entre estos dos iones, en primer lugar, se realiza una determinación de dureza total y luego se determina la concentración de calcio a través de una titulación con EDTA a pH 12-13, utilizando como indicadores Calcón (CAS 2538-85-4) o Murexida (CAS 3051-09-0). Esta titulación consiste en colocar 50,0 mL de muestra en un erlenmeyer, 1 mL de NaOH 1 M (disolver 4 g de hidróxido de sodio en 1 L de agua destilada; guardar en un envase de plástico y cerrar herméticamente) y 0,2 g de Calcón o Murexida en cloruro de sodio (mezclar 200 mg de indicador en 100 g de NaCl pulverizado hasta obtener un color homogéneo). Titular inmediatamente con EDTA 0,01 N (ver técnica de dureza total). Si se utiliza Calcón, el cambio de color es de rosa a azul puro sin rastros de violeta en el punto final; si se utiliza Murexida, el cambio de color es de rosa salmón a púrpura. El color del punto final se debe mantener igual durante al menos 1 minuto. Si eso no ocurre, se deben seguir agregando gotas de titulante hasta lograr estabilidad en color.

Registrar los mL de EDTA utilizado y realizar los cálculos de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

$$\text{meq} \frac{\text{Ca}^{2+}}{\text{L}} = \frac{A \times B \times 1000}{\text{mL de muestra}}$$

$$\text{meq} \frac{\text{Mg}^{2+}}{\text{L}} = \frac{C}{100} - \frac{\text{meqCa}^{+2}}{\text{L}}$$

Donde A es el volumen de EDTA utilizado en la titulación, B es la normalidad real del EDTA, y C es la dureza total de la muestra en ppm de CaCO₃.

Si se desea expresar el resultado en mg/L se deben multiplicar los resultados anteriores por 40,04 para el calcio y por 24,305 para el magnesio.

Recomendaciones a tener en cuenta:

- Si el contenido de calcio es bajo, puede ser necesario aumentar el volumen de muestra a 100 mL y aumentar proporcionalmente la cantidad de hidróxido de sodio y de indicador. Por el contrario, si las muestras tienen mucho calcio, se pueden realizar diluciones.
- Si el color del indicador no se mantiene estable en el punto final durante 1 minuto, es porque la muestra tiene mucho calcio y precipita con el hidróxido de sodio. En ese caso, y ya teniendo un volumen aproximado de EDTA necesario, preparar una nueva muestra, pero, **antes del agregado del hidróxido**, agregar aproximadamente el 90 % del EDTA necesario para alcanzar el punto final. A continuación, agregar el hidróxido de sodio, el indicador y finalizar la titulación.
- Esta técnica es útil para concentraciones de calcio por encima de 0,25 meq/L. Para concentraciones menores, se debe realizar la determinación por espectrometría de absorción atómica.

El sodio y el potasio son iones monovalentes que pueden determinarse tanto por métodos de emisión como de absorción atómica. Los métodos de emisión se basan en que los átomos se excitan al atravesar una llama de gas natural/aire y, al desexcitarse, emiten luz de longitudes de onda características (589 nm para el sodio y 766,5 nm para el potasio). Si las concentraciones son bajas, la cantidad de luz emitida es proporcional a las cantidades de los iones presentes en la muestra. La muestra debe filtrarse (0,45 µm de poro) para no taponar el fotómetro

de llama. Si se tiene mucho material particulado en suspensión, se puede prefiltrar la muestra con otro filtro con un tamaño de poro mayor o reducir la carga de material particulado centrifugando la muestra y luego filtrando el sobrenadante. Una vez filtradas, las muestras se leen directamente en el fotómetro de llama, aunque si la concentración es muy elevada de uno o los dos iones es necesario hacer las diluciones adecuadas para cada ión.

Para cada catión hay que construir un blanco y una curva de calibración. En el caso del sodio, se prepara una solución stock de 1,00 g de sodio/L (2,542 g de NaCl secado a 140 °C en 1000 mL de agua ultrapura). Al realizar una dilución 1/10 de la solución stock se obtiene la solución intermedia de 100 mg de Na/L y, si se hace una nueva dilución 1/10 de esta última, se obtiene la solución estándar de 10 mg de Na/L. En el caso del potasio, preparar una solución stock de 1,00 g de potasio/L (1,907 g de KCl secado a 110 °C en 1000 mL de agua ultrapura). Al realizar una dilución 1/10 de la solución stock se obtiene la solución intermedia de 100 mg de K/L y, si se hace una nueva dilución 1/10 de esta última, se obtiene la solución estándar de 10 mg K/L. Se deben construir al menos 4 patrones de cada uno de los cationes y se debe tener en cuenta la sensibilidad del fotómetro de llama con que se cuenta y la concentración de las muestras.

Para la operación del equipo, corresponde seguir las instrucciones del manual pero, en líneas generales, primero se debe ajustar la llama a un tamaño adecuado y poner el equipo para medir sodio. Mientras se aspira el blanco, se fija la ganancia de la intensidad relativa a 0 (cero), luego se pone a medir el patrón más concentrado y se fija la ganancia en 100. Una vez realizado este ajuste, se vuelve a leer el blanco y luego la curva de calibración y las muestras, con el propósito de que el orden de lectura sea en orden creciente de concentración. A partir de la curva de calibración, se calcula la concentración de las muestras, teniendo en cuenta las diluciones que se hubieran realizado.

Una vez finalizadas las mediciones de sodio, se pasa el equipo a medición de potasio y se sigue el mismo procedimiento que con el sodio.

Las concentraciones que se obtienen están en mg/L. Si se desea expresar los resultados en meq/L se deben dividir los resultados de sodio por 22,99 y los de potasio por 39,098.

Recomendaciones a tener en cuenta:

- El agua ultrapura se contamina fácilmente con sodio. Utilizar siempre agua ultrapura recién obtenida.
- Las soluciones stock, intermedia y estándar se deben almacenar en frascos plásticos y agitar muy bien antes de ser utilizadas.
- Si las muestras tienen concentraciones relativamente elevadas de cloruro, sulfato o bicarbonato, es necesario agregar estroncio o lanfano como supresor de la ionización y agente liberador.
- Una vez finalizadas las determinaciones, y en especial si las muestras eran coloreadas, lavar el equipo con una solución de ácido nítrico 2 N y luego nuevamente lavar con agua ultrapura.

La concentración de cloruros en el agua se determina habitualmente por una titulación con nitrato de plata usando cromato de potasio como indicador (método de Mohr). En esta técnica, a medida que se agrega nitrato de plata a la muestra, se forma una turbidez blanca debido a precipitación de cloruro de plata; una vez precipitado todo el cloruro, comenzará a precipitar cromato de plata de color rojo ladrillo que marcará el final de la titulación. Esta técnica necesita un blanco de titulación que se deberá hacer por duplicado y se realiza como sigue: a 50 mL de agua destilada se le agrega una punta de espátula de carbonato de calcio (para simular la turbidez del cloruro de plata) y 0,5 mL del indicador de cromato de potasio al 5 % (colocar 5 gramos de K₂CrO₄ en un matraz y completar hasta 100 mL con agua destilada). Titular con nitrato de plata 0,0141 N (2,395 g de AgNO₃ en 1000 mL de agua destilada) añadiendo gota a gota hasta percibir el primer tinte rojizo. Registrar el volumen de titulante utilizado como volumen de blanco (**VB**). El procedimiento para las muestras consiste en colocar 50 mL de muestra en un erlenmeyer y añadirle 0,5 mL del indicador. Titular con nitrato de plata hasta la aparición del primer tinte rojizo. (**IMPORTANTE**: la titulación se debe llevar a cabo entre pH 7 y 10; si el pH de la muestra está fuera de ese rango, añadir una punta de espátula de bicarbonato de sodio (NaHCO₃) libre de cloruros).

Debido a que el nitrato de plata no es un patrón primario, se debe valorar la solución para conocer la concentración real. Para ello, se debe preparar una

solución patrón de cloruro de sodio 0.0141 N (pesar 824,0 mg de NaCl previamente secado en estufa a 140 °C durante 2 h y disolverlos en 1000 mL de agua destilada) y luego realizar una titulación con el nitrato de plata colocando 10,0 mL de la solución patrón de cloruro de sodio en un erlenmeyer, 40 mL de agua destilada, 0,5 mL de indicador y una punta de espátula de bicarbonato de sodio. Detener la titulación cuando se perciba el primer tinte rojizo y registrar el volumen de nitrato de plata utilizado como V_{est} . Este procedimiento se debe realizar por duplicado.

La concentración real del nitrato de plata se calcula como:

$$N_{real} = \frac{N_{NaCl} \times 10mL}{V_{est} - VB}$$

La concentración de cloruros en las muestras se calcula según la siguiente fórmula:

$$meq \frac{Cl^-}{L} = \frac{(A - VB) \times N_{real} \times 1000}{mL \text{ de muestra}}$$

Donde A es el volumen de nitrato de plata utilizado para titular la muestra y VB es el volumen de blanco. Si se desea expresar el resultado en mg de Cl/L se debe multiplicar el resultado anterior por 35,453.

Recomendaciones a tener en cuenta:

- El nitrato de plata es fotosensible, por lo tanto, debe almacenarse en botellas de color caramelo y guardarlo en un lugar oscuro. Además, cuando se lo está utilizando, se debe procurar que reciba la menor cantidad de luz posible (por ejemplo, realizar las titulaciones inmediatamente después de llenar la bureta, especialmente si no se cuenta con una bureta color caramelo).
- Se debe ser consistente con la detección del punto final. Finalizar la titulación en distintas intensidades de anaranjado conduce a un mayor error.
- Si las muestras tienen muy baja concentración de cloruros, se puede aumentar el volumen de la muestra hasta 100 mL incrementando proporcionalmente el volumen de indicador utilizado. Por el contrario, muestras con concentraciones de cloruros muy elevadas

(por ejemplo, de la cuenca del Salado en la provincia de Buenos Aires), pueden requerir realizar diluciones o utilizar un titulante de mayor concentración.

- Esta técnica sólo es útil para muestras con concentraciones de cloruros mayores a 0,85 meq/L. Para concentraciones menores, los cloruros se deben determinar por cromatografía iónica.
- Si se tienen dudas de la calidad del agua destilada con que se cuenta, antes de preparar los reactivos, colocar un pequeño cristalito de nitrato de plata en unas gotas del agua destilada. Si aparece una turbidez blanca es indicativo de que el agua destilada tiene cloruros y debe utilizarse agua destilada de mejor calidad.

La determinación de los carbonatos y bicarbonatos se realiza típicamente a través de una titulación con ácido sulfúrico 0,02 N utilizando como indicador fenolftaleína y un indicador mixto. Los resultados se expresan en miliequivalentes por litro (meq/L). Para preparar la solución de ácido sulfúrico, primero se debe realizar una solución de H_2SO_4 0,1 N (2,7 mL de H_2SO_4 concentrado en 1 L de agua destilada) y luego realizar una dilución colocando 200 mL de H_2SO_4 0,1 N en un matraz de 1 L y llevar a volumen con agua destilada. Para estandarizar el ácido, se debe preparar una solución estándar de carbonato de sodio 0,05 N (pesar 2,502 g de Na_2CO_3 en 1000 mL de agua destilada libre de CO_2) y valorar 5,0 mL de esta solución con el ácido sulfúrico 0,02 N utilizando 2 gotas de indicador mixto hasta viraje del indicador de celeste a rosado. La titulación de las muestras se realiza colocando 50,0 mL de muestra en un erlenmeyer y añadiendo 4 gotas de fenolftaleína (50 mg de fenolftaleína en 100 mL de alcohol 96 %); si la solución se torna rosada o fucsia, se debe titular con el H_2SO_4 0,02 N hasta que desaparezca el color rosado de la solución. Este volumen de ácido utilizado se suele llamar "volumen a a la fenolftaleína" o simplemente "VF". En caso de que al agregar la fenolftaleína no se perciba la aparición de un color rosado en la muestra, significa que no hay carbonatos, y $VF = 0$. Una vez anotado el volumen de ácido gastado, se debe continuar la titulación sobre la misma muestra y sin enrasar la bureta, pero agregando 4 gotas del indicador mixto (100 mg de verde de bromocresol y 20 mg de rojo de metilo disueltos en 100 mL de alcohol 96 %). En este caso, la solución se tornará color celeste, y la titulación se detendrá cuando vire a rosado. Se registrará el volumen total de ácido gastado como "VT". La composición de la muestra dependerá de la relación entre los volúmenes gastados.

Las concentraciones de cada especie se calculan según las siguientes ecuaciones:

$$eq \frac{CO_3^{2-}}{L} = \frac{VF \times N \times 2000}{mL \text{ de muestra}}$$

$$meq \frac{HCO_3^-}{L} = \frac{(VT - 2 \times VF) \times N \times 1000}{mL \text{ de muestra}}$$

Donde VF es el volumen de ácido gastado para que vire la fenolftaleína, VT es el volumen total de ácido gastado luego del viraje del indicador mixto y N es la normalidad estandarizada del ácido.

La normalidad estandarizada del ácido se calcula como:

$$N = \frac{A \times B}{53 \times C}$$

Donde A es la masa (en gramos) de carbonato de sodio que se pesó, B son los mL de la solución de carbonato de sodio utilizados para la titulación y C son los mL de ácido sulfúrico 0,02 N que se gastaron.

Recomendaciones a tener en cuenta:

- Para obtener agua destilada libre de CO_2 se la debe llevar a ebullición en un erlenmeyer durante algunos minutos y dejar enfriar tapada con un vidrio de reloj. Si no se la va a utilizar inmediatamente, se puede guardar en una botella con cierre hermético con la precaución de llenar la botella lo máximo posible para reducir la cantidad de aire en su interior.
- Se debe reducir al mínimo posible la exposición de la muestra al aire para evitar la disolución de CO_2 del ambiente.
- No se debe filtrar, diluir ni concentrar la muestra.
- Si la muestra tiene muy bajo contenido de carbonatos y/o bicarbonatos, para disminuir el error de titulación, se puede aumentar el volumen de muestra (hasta 200 mL) modificando proporcionalmente la cantidad de indicador utilizado.

$$eq \frac{CO_3^{2-}}{L} = \frac{VF \times N \times 2000}{mL \text{ de muestra}}$$

La determinación de sulfatos se lleva a cabo por turbidimetría. El principio de esta técnica se basa en que, si al sulfato se le añade bario con ácido acético, se producen cristales de sulfato de bario de tamaño uniforme que producen una turbidez proporcional a la cantidad de sulfato en la muestra. La técnica consiste en colocar 100 mL de muestra filtrada en un erlenmeyer y añadirle 20 mL de solución buffer mientras se mezcla con un agitador magnético. Para muestras con concentraciones de sulfato por encima de 10 mg/L se utiliza el buffer A (disolver 30 g de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 5 g de acetato de sodio trihidratado, 1 g de KNO_3 , 20 mL de ácido acético (99%) y aforar a 1000 mL); si las muestras tienen menos de 10 mg/L de sulfato, utilizar el buffer B (es similar al buffer A pero además hay que añadirle 0,111 g de sulfato de sodio). Una vez añadido el buffer, agregar una punta de espátula de cloruro de bario sólido y agitar por exactamente 60 segundos. Medir la turbidez a los 5 minutos utilizando un nefelómetro o un espectrofotómetro a 420 nm. Si las muestras son coloreadas o presentan turbidez, realizar blancos de muestras a las que se le agregó el buffer (sin añadir cloruro de bario). Realizar un blanco y una curva de calibración con al menos 4 patrones en el rango de 0 a 40 mg SO_4^{2-}/L a partir de una solución estándar de sulfato de sodio de 100 mg SO_4^{2-}/L (0,1479 g de Na_2SO_4 anhidro en 1000 mL de agua destilada). Seguir el mismo procedimiento con el blanco y los patrones que con las muestras.

Para el cálculo de la concentración de sulfato hay dos casos posibles. Si se utilizó el buffer A, calcular la concentración directamente a partir de la curva de calibración utilizando la absorbancia de la muestra a la que se le restó el valor de la absorbancia del blanco de muestra. Si se utilizó el buffer B, proceder de igual manera que en el caso anterior, pero al **resultado final** se le debe sustraer 15 mg/L de sulfato (los cuales se adicionaron junto con el buffer). Para expresar el resultado obtenido en meq/L se debe dividir el resultado obtenido en mg/L por 48,03.

Recomendaciones a tener en cuenta:

- Es importante mantener la velocidad de agitación constante. La agitación debe ser vigorosa, pero sin que se produzcan salpicaduras.
- La técnica se puede hacer en vasos de precipitado.
- Si no se dispone de un volumen tan alto de muestra, se pueden reducir los volúmenes a la mitad.

- Si la concentración de sulfatos en una muestra es mayor a 40 mg/L, se deben realizar diluciones antes del agregado de los reactivos utilizando agua destilada.

La dureza total se determina mediante una valoración con EDTA a pH 10 utilizando Negro de Eriocromo T (NET) (CAS 1787-61-7) como indicador. En esta titulación, el NET cambia del color inicial rojo vino a un color azul puro sin rastros de púrpura en el punto final. El procedimiento consiste en colocar 25,0 mL de muestra en un erlenmeyer, añadir 1 mL de una solución reguladora de amonio/amoniaco (disolver 16,9 g de cloruro de amonio en 143 mL de hidróxido de amonio concentrado y llevar a 250 mL con agua destilada) y agregar una punta de espátula de NET diluido (moler 0,2 g de NET con 80 g de NaCl pulverizado). Titular inmediatamente con EDTA 0,01 M (disolver 3,72 g de EDTA disódico dihidratado y 0,1 g de cloruro de magnesio hexahidratado en 1 L de agua destilada; guardar en recipiente plástico). El color del punto final se debe mantener igual durante al menos 1 minuto. Si eso no ocurre, se deben seguir agregando gotas de titulante hasta lograr estabilidad en el color. Valorar el EDTA titulado 20,0 mL de una solución estándar de 1000 ppm de CaCO₃ (pesar 1,000 g de CaCO₃ anhidro, añadir cuidadosamente y gota a gota, ácido clorhídrico 1 + 1 hasta su disolución y luego diluir en 1 L con agua destilada) procediendo de la misma manera que con las muestras. La normalidad real del EDTA y la dureza total se calculan según las siguientes fórmulas:

$$N_{\text{realEDTA}} = \frac{A \times 0,01}{B}$$

$$\text{Dureza total} \left(\text{mg} \frac{\text{CaCO}_3}{\text{L}} \right) = \frac{C \times N_{\text{realEDTA}} \times 100000}{\text{mL muestra}}$$

Donde,

A = mL de solución estándar de CaCO₃ titulados
B = mL de EDTA gastados en la titulación de la solución estándar

C = mL de EDTA gastados en la titulación de la muestra

Recomendaciones a tener en cuenta:

- Es conveniente agregar inicialmente una pequeña cantidad de indicador y luego añadir más en caso de ser necesario, ya que si la solución queda muy oscura es muy difícil de percibir el punto final.
- Si la muestra es de agua blanda o moderadamente blanda, para disminuir el error de

titulación, se puede aumentar el volumen de muestra a 50 ó 100 mL, aumentando proporcionalmente la cantidad de solución reguladora y de indicador. Por otra parte, si la dureza total es muy elevada, se pueden realizar diluciones de la muestra.

- La presencia de algunos metales como Cu²⁺, Fe³⁺ y Al³⁺, entre otros (los cuales pueden estar presentes en aguas con contaminación industrial severa), pueden interferir con el indicador evitando que cambie de color en el punto final. Si eso sucede, antes de agregar el indicador, se debe añadir a la muestra un cuarto de punta de espátula de Na₂S.

La determinación de nitratos habitualmente se realiza a través de la pre-reducción de nitratos a nitritos con una columna de cadmio-cobre y la posterior determinación de nitritos por el método colorimétrico. La fabricación de la columna es trabajosa, pero su correcta construcción es fundamental para el éxito de las determinaciones. En primer lugar, hay que realizar un acondicionamiento de las limaduras de cadmio (de 0,3 a 1,5 mm de diámetro). Para ello, poner en un vaso de precipitado limaduras de Cd nuevas o usadas en cantidad suficiente como para llenar una columna de 18,5 cm (aproximadamente 50 g de Cd), lavar con HCl 6 N (diluir 500 mL de ácido clorhídrico concentrado y llevar a 1 L con agua destilada) y enjuagar con agua. Añadir 100 mL de sulfato de cobre al 2 % (20 g de CuSO₄·5H₂O en 1 L de agua) y remover bien durante 5 minutos o hasta que desaparezca parcialmente la coloración azul de la solución. Decantar con cuidado de modo que junto al líquido sobrenadante se eliminen las partículas más pequeñas de cadmio (que pueden taponar los poros e impedir el flujo en la columna). Repetir todas las veces que sea necesario hasta que el líquido sobrenadante caiga limpio y comience a formarse un precipitado coloidal marrón. Enjuagar muy bien con agua (pero con suavidad) hasta retirar todo el Cu precipitado.

El armado de la columna se realiza utilizando una bureta de 25 mL. Se coloca un pequeño tapón de fibra de vidrio o amianto en la base de la columna y se la llena con agua. Se agregan de a poco las limaduras de cadmio acondicionadas hasta formar una columna de 18,5 cm de largo y se mantiene el nivel del agua por encima de las limaduras para evitar la formación de burbujas de aire. Se cierra la columna con otro tapón de amianto y se le coloca encima una ampolla de decantación de 125 mL con el robinete abierto y se lo sella con papel parafilm, de manera que la ampolla sirva como un reservorio de líquido. Una vez finalizada la cons-

trucción se la lava con 200 mL de solución de NH₄Cl-EDTA diluida (300 mL de solución de NH₄Cl-EDTA con 200 mL de agua ultrapura) en flujo continuo. El flujo debe regularse para que fluyan entre 7 y 10 mL por minuto. También debe lavarse la columna al terminar las determinaciones. La columna debe mantenerse llena con esta solución mientras no se utiliza. Como recomendación: la columna debe reciclarse cuando su eficiencia reductora sea menor al 75% al comparar dos patrones de NO₂⁻ y NO₃⁻ de igual concentración o cuando se produjera el vaciado de la columna, es decir que el Cd entre en contacto con aire. El reciclado de la columna implica el reacondicionamiento de los gránulos de Cd.

Para pasar las muestras por la columna, es necesario prepararlas mezclando 25 mL de muestra con 75 mL de una solución de NH₄Cl-EDTA (13 g de NH₄Cl y 1,7 g de EDTA disódico en 900 mL de agua ultrapura, ajustar el pH a 8,5 con hidróxido de amonio y completar hasta 1 L). Junto con las muestras, preparar un blanco y al menos 4 patrones entre 0,05 y 1 mg/L de nitrógeno como nitrato (N-NO₃⁻) siguiendo el mismo procedimiento de preparación de las muestras.

Antes de utilizar la columna es necesario activarla pasando 100 mL de un patrón de 1 mg de N-NO₃⁻/L preparado (25 mL de patrón + 75 mL de solución de NH₄Cl-EDTA) y luego lavarla con 100 mL de solución de NH₄Cl-EDTA diluido. **NOTA:** Una vez regulado el flujo de la columna, no se lo debe modificar, especialmente mientras se están midiendo las muestras.

Las muestras deben pasar por la columna de a una por vez y en orden creciente de nitratos, comenzando por el blanco e intercalando los patrones con las muestras (si no se tienen datos previos de nitratos se pueden ordenar de acuerdo a los contenidos de nitratos esperados). Se recogen los primeros 40 mL de muestra en una probeta, se utilizan para enjuagarla y se descartan. Se colectan los siguientes 25 mL de muestra en la probeta y se los coloca en un erlenmeyer (puede ser el mismo donde estaba la muestra preparada para pasar por la columna) y, antes de los 15 minutos, se le debe añadir el reactivo de sulfanilamida (ver técnica de nitritos). Realizar la lectura en espectrofotómetro a 543 nm pasados los 10 minutos de la adición del reactivo (pero antes de las 2 h).

Dado que esta técnica determina la suma de los nitratos y los nitritos de la muestra, la concentración de nitratos se calcula realizando una curva de calibración y restándole la concentración de nitritos determinada separadamente.

Recomendaciones a tener en cuenta:

- Para muestras con concentraciones muy bajas de nitratos se pueden hacer patrones de menor concentración (entre 0,01 y 1 mg N-NO₃⁻/L) y realizar las lecturas con cubetas de 5 ó 10 cm de paso óptico.
- Si la muestra tiene una concentración de nitratos por encima de 1 mg de N-NO₃⁻/L se deben realizar diluciones con agua ultrapura antes de prepararla con la solución de NH₄Cl-EDTA.
- En aguas donde la cantidad de sólidos en suspensión es demasiado elevada (ej.: cursos de agua de la provincia de Buenos Aires, río Paraná, entre otros) el filtrado de las muestras se puede realizar utilizando filtros de 0,7 µm de tamaño de poro.
- Si no se cuenta con un equipo para obtener agua ultrapura se puede conseguir comercialmente agua bidestilada de buena calidad. La calidad del agua se evalúa a través del blanco de reactivos.

El método para la determinación de nitritos más extendido es colorimétrico. Los nitritos, en presencia de sulfanilamida y N-(1-naftil) etilendiamina a un pH entre 2 y 2,5, forman un azocompuesto de color rosa intenso que puede ser medido espectrofotométricamente. El procedimiento consiste en colocar 25,0 mL de muestra filtrada (tamaño de poro: 0,45 µm) en un erlenmeyer limpio y seco y añadirle 1 mL del reactivo color (colocar 70 mL de agua ultrapura en un matraz, añadir 10 mL de H₃PO₄ 85 %, disolver completamente 1 g de sulfanilamida, luego disolver 0,1 g de diclorhidrato de N-(1-naftil) etilendiamina y, finalmente, aforar a 100 mL). Simultáneamente con las muestras, preparar un blanco de agua ultrapura y, al menos, 3 patrones utilizando una solución estándar de trabajo de nitritos para realizar una curva de calibración. Para los patrones, preparar una solución stock de nitritos (1,232 g de NaNO₂ en 1000 mL de agua ultrapura; preservar con 1 mL de cloroformo y guardar en la heladera). A partir de la solución stock, preparar una solución intermedia de nitritos realizando una dilución 1/5. Para obtener la solución estándar de trabajo de nitritos, realizar una dilución 1/10 de la solución intermedia siempre utilizando agua ultrapura (1,00 mL = 0,500 µg N). Las soluciones intermedia y estándar de trabajo deben prepararse en el día. Para el blanco y los patrones, proceder de igual manera que con las muestras. Agitar inmediatamente luego de la adición de los reactivos. Medir la absorbancia en un espectrofotómetro a 543 nm pasados los 10 minutos de la adición del

reactivo, pero antes de las 2 h. La concentración de N-NO_2^- (nitrógeno como nitrito) de las muestras se calcula según la curva de calibración realizada con los patrones de nitritos.

Recomendaciones a tener en cuenta:

- Para muestras con concentraciones muy bajas de nitritos, las lecturas se pueden realizar con cubetas de 5 ó 10 cm de paso óptico.
- En aguas donde la cantidad de sólidos en suspensión es demasiado elevada el filtrado de las muestras se puede realizar utilizando filtros de 0,7 μm de tamaño de poro.
- Si las muestras son coloreadas antes de la adición del reactivo color, realizar blancos de las muestras y descontarlo de la absorbancia antes de calcular la concentración de N.
- Si no se cuenta con un equipo para obtener agua ultrapura, se puede conseguir comercialmente agua bidestilada de buena calidad. La calidad del agua se evalúa a través del blanco de reactivos.

Para determinar el nitrógeno del **amonio**, el método más utilizado es el del fenol (APHA, 1992). En este método la reacción del amonio con el hipoclorito y el fenol, catalizada por una sal manganesa, forma un compuesto azulado (indofenol). Alternativamente se puede utilizar el kit comercial de Wiener para la determinación de uremia (sin ureasa) siguiendo el procedimiento adaptado por Claudia Feijó.

Este método requiere una destilación preliminar si la alcalinidad excede los 500 mg CaCO_3/L , si hay color o turbidez o si la muestra ha sido guardada con ácido o tiene una acidez mayor de 100 mg CaCO_3/L . Si existen interferencias, es imperativa la destilación con ácido sulfúrico.

El método es válido para concentraciones entre 0 y 500 $\mu\text{g NH}_3\text{-N/L}$. Durante el procedimiento es importante evitar la contaminación de las muestras con tabaco o transpiración y es conveniente filtrar las muestras. Para realizar la determinación se miden 50 mL de cada muestra y se colocan en erlenmeyers. Se añaden 3 mL de una solución A de 35 g de fenol puro y 0,4 g de nitroprusiato de sodio deshidratado disueltos en agua destilada hasta alcanzar 1 L de solución. Luego de agitar y esperar 1 minuto se añaden 3 mL de la solución B. La solución B se prepara disolviendo 280 g de citrato sódico y 15 g de NaOH en 800 mL de agua desionizada y luego añadiendo 35 mL de hipoclorito de sodio

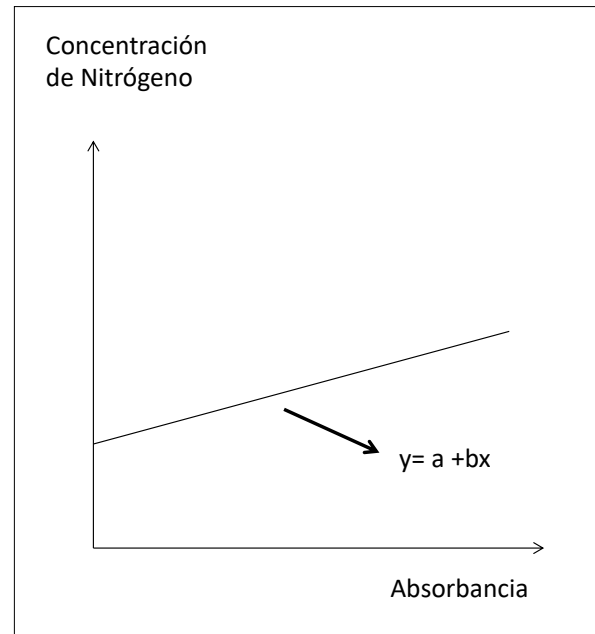


Figura 1: Representación de la variación de concentración de nitrógeno del amonio y la absorbancia.

concentrado (puede utilizarse lavandina comercial concentrada [80 mg/dm³]) llevándola a un volumen final de 1 L. Realizar un blanco y al menos un patrón de cloruro de amonio de la misma manera. El color azul celeste aparece luego de 30 minutos y se lee la absorbancia a 630 nm en un espectrofotómetro comparando contra el blanco. La concentración de N ($\mu\text{g NH}_3\text{-N/L}$) se calcula comparando la absorbancia con una curva realizada colocando en abscisas la absorbancia de los patrones de N y en ordenadas su concentración ajustando a una función lineal.

En el caso de utilizar el kit de Wiener, colocar 50 mL de muestra en un erlenmeyer e, inmediatamente, agregarle 1 mL de reactivo 1 y 1 mL de reactivo 2 (preparados siguiendo las instrucciones del kit). Realizar un blanco y, al menos, un patrón de la misma manera. Colocar en estufa o baño termostático a 37 °C durante 2 horas. El color es estable por 24 horas. Se lee la absorbancia a 635 nm en un espectrofotómetro comparando contra el blanco.

Para determinar el fósforo del **fosfato** el método más utilizado es el del ácido ascórbico. En este método colorimétrico, el molibdato de amonio y el tartrato de potasio y antimonio reaccionan con el ortofosfato en medio ácido para formar un compuesto que es reducido a azul de molibdeno por el ácido ascórbico. Se colocan en un erlenmeyer 50 mL de muestra. Se le agrega a cada muestra 1 gota (0,05 mL) de fenofaleína 0,5%. Si se forma un color rojo, se agrega H_2SO_4 (5N) gota a gota hasta que desaparezca el color. Por otro lado, se prepara un

blanco colocando 50 mL de agua bidestilada en un erlenmeyer. Se prepara también al menos un patrón con Fosfato diácido de potasio anhidro (KH_2PO_4) y se procede con ellos de la misma forma que con las muestras. A cada Erlenmeyer se le agregan 8 mL de un reactivo mixto que debe prepararse en el día de la determinación y consiste en 15 mL de una solución de molibdato amónico al 4% ($\text{Mo}_7\text{O}_{24}(\text{NH}_4)_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$), 50 mL de ácido sulfúrico 5N, 30 mL de ácido ascórbico (1,76 g de ácido ascórbico en un matraz y llevar a 100 mL con agua bidestilada) y 5 mL de tartrato de Sb y K (0,274 g y llevar a 100 mL con agua bidestilada). Es importante agitar luego de la adición de cada reactivo. Luego de la adición del reactivo mixto, el desarrollo del color se lleva a cabo durante 15 minutos a temperatura ambiente y no debe leerse pasadas las 2 horas. Luego se lee la absorbancia a 875 nm en un espectrofotómetro. La concentración de P se calcula según la curva realizada a partir de patrones de P.

Cabe resaltar que este método puede sobreestimar la concentración de ortofosfato en presencia de pequeñas cantidades de arsénico en forma de arseniato. En tal caso, se recomienda agregar un paso de reducción del As(V) con L-Cisteína 5% en una solución de HCl 0,6M. La reacción ocurre durante 5 minutos en baño o estufa a 80 °C en erlenmeyers bien cerrados. Luego se deja enfriar hasta temperatura ambiente. Finalmente se agregan 2,5 mL de una solución de ácido ascórbico 5%, 5 mL de acetona y 10 mL de un reactivo mixto diferente que consiste en 50 mL de ácido sulfúrico 20%, 5 mL de tartrato de Sb y K (0,274 g en

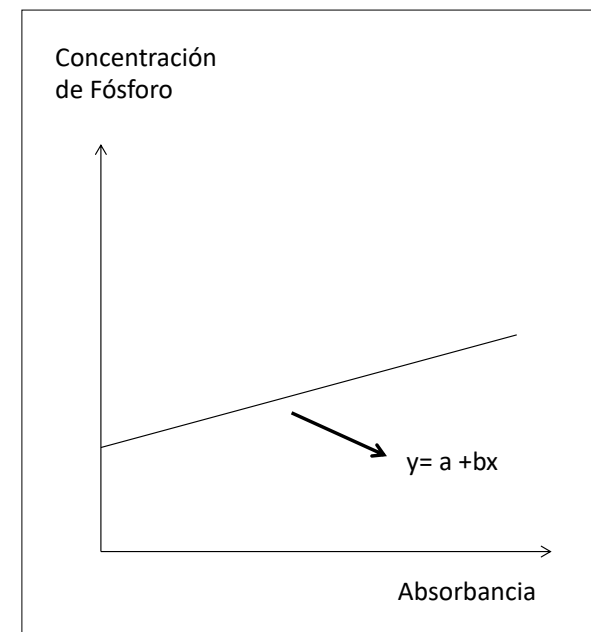


Figura 2: Representación de la variación de concentración de fósforo de los fosfatos y la absorbancia.

100 mL de agua destilada), 15 mL de una solución de molibdato amónico al 4% ($\text{Mo}_7\text{O}_{24}(\text{NH}_4)_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) y llevar a un volumen de 100 mL con agua destilada. En este caso la lectura se hace a 875 nm (Carvalho et al. 1998).

Para determinar fósforo total en agua, el método de digestión con HNO_3 y H_2SO_4 propuesto por APHA (2005) con modificaciones de Feijó es recomendado para la mayoría de las muestras. En él, las muestras son digeridas previamente y luego tratadas con el método del fósforo reactivo soluble (PRS) que se detalla en este capítulo. La digestión oxida la materia orgánica liberando al fósforo como ortofosfatos. Para comenzar, se colocan 20 mL de muestra en un erlenmeyer y se adiciona 1 mL de H_2SO_4 concentrado y 1 mL de HNO_3 concentrado. Luego, se coloca sobre una plancha calefactora y se digiere (bajo campana de gases) hasta alcanzar un volumen de 1 mL. Continuar hasta que la solución se vuelva incolora para remover el HNO_3 . Enfriar y agregar aproximadamente 20 mL de agua y 1 gota (0,05 mL) de fenofaleína 0,5%. Incorporar NaOH 1N con una bureta hasta que de transparente vire a rosa claro. Filtrar la muestra, si presenta turbidez o material particulado, y colocar en un matraz y llevar a 100 mL. Realizar la estimación de PRS y referirlo al volumen inicial de muestra.

Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)

Es la cantidad de oxígeno necesaria para descomponer la materia orgánica presente por la acción bioquímica aeróbica. Permite determinar la materia orgánica biodegradable.

Esta transformación biológica precisa un tiempo superior a los 20 días, por lo que se ha aceptado como norma, realizar una incubación durante 5 días, a 20 °C, en la oscuridad y fuera del contacto del aire a un pH de 7,0-7,5 y en presencia de nutrientes y oligoelementos que permitan el crecimiento de los microorganismos.

Las muestras muy poluidas precisan más oxígeno en los 5 días que el que contiene la muestra, por lo que se usa el método de dilución. Se añade oxígeno disuelto a la muestra, se inocula, si es preciso, con microorganismos apropiados y se incuba durante 5 días determinándose la diferencia entre el oxígeno inicialmente presente y el que resta a los 5 días.

El método consiste en poner una muestra de agua durante un tiempo determinado en condiciones estandarizadas. Depende del tipo de muestra (aguas naturales, residuales, etc.), el agua puede

incubarse con o sin dilución. En general, conviene hacer varias diluciones para evitar que se consuma totalmente el oxígeno de la muestra. También es conveniente realizar réplicas y agregar unas botellas que contengan solo agua de dilución.

Se mide el oxígeno disuelto (OD) mediante oxímetro o utilizando la técnica de Winkler, al inicio y al final del período de incubación. Si se realiza el método de Winkler se utilizará una botella para cada medición.

En el agua destilada que se usa para hacer la dilución hay que agregar un mL de cada una de las siguientes soluciones: buffer de fosfato y sulfato de magnesio, cloruro de calcio y cloruro férrico por cada litro de agua. Si el agua de dilución debe ser almacenada, agregar el buffer de fosfato únicamente antes de utilizar. Los reactivos que se utilizan son los siguientes:

1) Solución buffer de fosfato
Disolver 2,125 g de KH_2PO_4 ; 5,4375 g de K_2HPO_4 ; 8,35 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,425 g de CLNH_4 en 125 mL y llevarlo a 250 mL de agua destilada.

2) Disolver 5,625 g de $\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 250 mL de agua destilada.

3) Disolver 6,875 Ca Cl_2 en 250 mL de agua destilada.

4) 9,9525 $\text{Cl}_3 \text{Fe}$ en 250 mL de agua destilada.
Si las muestras son muy ácidas o muy básicas, se deben llevar a pH 6,5 con solución NaOH o H_2SO_4 según corresponda. El agregado no debe ser mayor que el 0,5% del volumen de la muestra. Para diluir las muestras se debe calcular que el volumen total de las botellas de DBO es de 300 mL y que se realizarán dos botellas si se utiliza Winkler para la determinación de OD (inicial y final). Para comenzar, se debe fijar el OD en la botella de DBO inicial [A] y medir OD por Winkler. Los frascos [B] se cerrarán inmediatamente sin dejar burbujas de aire y se mantendrán durante 5 días a 20 °C en incubadora a oscuridad. Al finalizar los 5 días de incubación se determinará el oxígeno.

A partir de las determinaciones se debe calcular el consumo de oxígeno para cada dilución según: $\text{DBO}_5 = (A - B) / \text{dilución}$
A= mg de O_2 /L (frasco A)
B= mg de O_2 /L (valor frasco B)

Oxígeno disuelto (Método de Winkler)

Es el método de titulación más preciso para el análisis de oxígeno disuelto (OD) y es muy útil para determinar en las muestras de DBO. Se basa en la adición de una solución de manganeso y de un al-

cali fuerte a la muestra. El oxígeno rápidamente oxida una cantidad equivalente de hidróxido de manganeso divalente que precipita como hidróxidos de mayor valencia. En presencia de iones yoduro en medio ácido, el manganeso liberado vuelve al estado divalente con la liberación de una cantidad de iodo equivalente al contenido original de OD. El iodo es titulado con una solución estándar de tiosulfato. El punto final de la titulación puede detectarse visualmente usando almidón como indicador.

Existen diferentes modificaciones para minimizar el efecto de las interferencias. La **modificación de la azida** elimina la interferencia causada por el nitrito, que es la más común en efluentes tratados biológicamente y en muestras incubadas de DBO. Se utiliza en aguas servidas, efluentes y arroyos, especialmente si las muestras contienen más de 50 $\mu\text{g NO}_2^-/\text{L}$ y menos de 1 mg de hierro ferroso/L.

Para la determinación se toman las muestras en botellas de DBO de 300ml, que se llenan rebalsando 2 o 3 veces su volumen. Si no hay burbujas, colocar la tapa. Es importante evitar que la muestra tome contacto con el aire o sea agitada. Hacer la determinación inmediatamente en aquellas muestras que tengan una apreciable demanda de oxígeno o iodo. Si esto no ocurre, las muestras pueden guardarse durante unas pocas horas luego de la adición del sulfato de manganeso, la solución yodada y el ácido. Proteger las muestras de luz solar fuerte y titular tan pronto como sea posible.

Los reactivos necesarios para realizar esta determinación son:

1) **Solución de MnSO_4** : Disolver 480 g de $\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (o 400 g de $\text{MnSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, o 364 g de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) en agua destilada, filtrar y diluir a 1 l. Esta solución no debería dar color con el almidón cuando es adicionada a una solución acidificada de IK.

2) **Solución yodada**: Para muestras saturadas o no saturadas, disolver 500 g de OHNa (o 700 g de OHK) y 135 g de INa (o 150 g de IK) en agua destilada y diluir a 1 l. Adicionar 10 g de N_3Na disueltos en 40 mL de agua destilada. Este reactivo no debe dar color con el almidón cuando es diluida o acidificada.

3) **H_2SO_4 (concentrado)**: 1 mL equivale a 3 mL de la solución yodada.

4) **Almidón**: Para preparar una solución acuosa, disolver 2 g de almidón y 0.2 g de ácido salicílico (preservante) en 100 mL de agua destilada caliente.

5) **Tiosulfato de Na 0.025 N**: Disolver 6.205 g de tiosulfato en agua destilada. Adicionar 1.5 mL de NaOH 6N (o 0.4 g de NaOH sólido) y diluir a 1000 mL. Estandarizar con la solución yodada.

6) **Estandarización del tiosulfato: Secar $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a 103 °C durante 2 h**. Preparar una solución de dicromato 0.025 N (= 1.226 g de dicromato/L). Disolver aproximadamente 2 g de KI en un erlenmeyer con 100-150 mL de agua destilada. Adicionar 10 mL de H_2SO_4 al 10 % y, luego, 20 mL de la solución de dicromato con pipeta de doble aforo. Poner en oscuridad durante 5 minutos, diluir aproximadamente a 400 mL y titular el iodo liberado con tiosulfato 0.025 N adicionando almidón hacia el final de la titulación, cuando toma un color amarillo claro. Calcular el factor f ($f = V \text{ dicromato (20ml)} / V \text{ tiosulfato}$).

Para comenzar la determinación, se agrega a la muestra 1 mL de solución de MnSO_4 y, luego, 1 mL de solución yodada sumergiendo las pipetas en el agua (lavar las pipetas entre muestra y muestra). Luego se tapa cuidadosamente (evitando la introducción de burbujas) y se mezcla invirtiendo la botella unas pocas veces. Cuando se forma un precipitado que ocupa aproximadamente la mitad inferior de la botella, se agrega 1 mL de H_2SO_4 (concentrado) por las paredes del cuello. Tapar y mezclar invirtiendo la botella varias veces hasta que desaparezca el precipitado. De esta forma, el oxígeno se encuentra fijado en la muestra y se puede proseguir en el laboratorio. Una vez allí, se titula un volumen de muestra correspondiente a 200 mL tomados en campo (como se agregó 1 mL de sulfato y 1 mL de solución yodada a 300 mL de muestra, el cálculo es $200 \times 300 / (300 - 2) = 201$ mL totales). Medir los 201 mL con probeta y pipeta y pasarlos a un erlenmeyer. Titular con el tiosulfato hasta que tome un color amarillo claro. Agregar unas gotas (5-6) de almidón y continuar la titulación hasta que desaparezca el color azul. Si se sobrepasa el punto de titulación, agregar un volumen medido de la muestra tratada. Corregir para la cantidad de muestra adicionada. Para realizar el cálculo de la concentración de OD, para la titulación de 200 mL de muestra, cada 1 mL $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.025 M se cuenta = 1 mg OD/L.

Distribución regional de los protocolos-ecorregiones

Adonis Giorgi y Eduardo Domínguez

Las variables físico-químicas pueden y deben ser registradas en todos los ambientes fluviales. En caso de que no puedan realizarse todas, deberá ponerse énfasis en las que permitan caracterizar los cambios en la calidad del agua de modo más adecuado de acuerdo a las peculiaridades de cada región.

Para la organización de los tipos de muestreos, bioindicadores e indicadores de hábitat y de ribera, se presenta la información de la siguiente manera: de acuerdo a **regiones** o áreas de trabajo en las que se realizará el monitoreo, a la **ecorregión** donde pretendemos realizarlo, a el **tamaño de los ríos** a muestrear, a la **hidrología** y al tipo de **sustratos** presentes en esos ríos. En base a esas características se seleccionarán los índices que resulten más adecuados para cada caso.

Debe tenerse en cuenta que los ríos de una cuenca pueden extenderse por más de una provincia y/o una ecorregión. En general, los encargados de hacer los monitoreos tienen en cuenta la organización política del país, por lo que deberán controlar los ríos de una provincia, aunque provengan de otras provincias. Por otro lado, los organismos utilizados como bioindicadores estarán influenciados fuertemente por las condiciones ecológicas de las ecorregiones. Por esta razón, por ejemplo, las comunidades de macroinvertebrados que se encuentran en ríos de montañas de diferentes cuencas, pero aproximadamente, a la misma altura, serán más semejantes entre sí que las comunidades que se suceden en una de esas cuencas pero en la alta montaña, en el pedemonte y en la llanura. Así, en diferentes ríos de las yungas desde el norte de Catamarca hasta Jujuy, se puede usar el mismo índice, pero a medida que se pasa de la alta montaña por las yungas hasta la llanura chaqueña, por ejemplo, se necesitarán otros índices. De esa manera, también pueden utilizarse

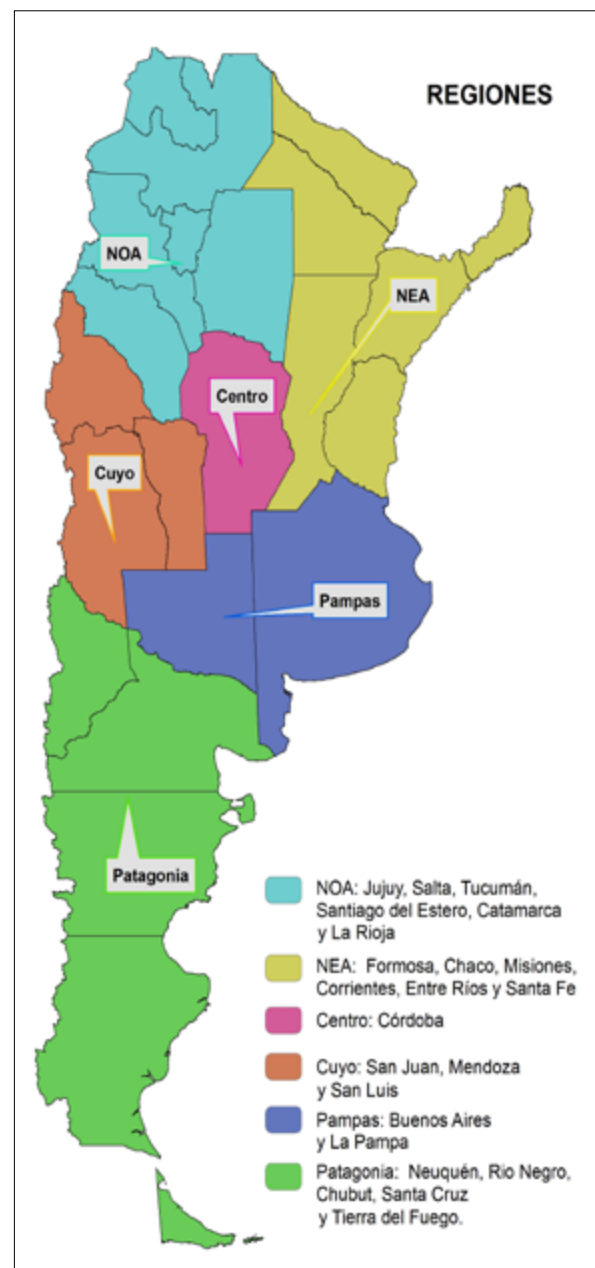


Figura 1: Mapa de las regiones en las que se dividió el país, para organizar las áreas de trabajo

metodologías e índices que puedan ser comunes a distintas regiones.

Es importante tener en cuenta que el muestreo, y tipo de índice a aplicar, resultará de la consideración de la ecorregión, del tamaño del río, del tipo de sustrato y del tipo de vegetación ribereña. Es posible determinar un mismo tipo de muestreo en ríos de diferentes regiones con características similares. Mientras que el tipo de índice biótico a aplicar puede ser diferente, aun en ríos semejantes de distintas regiones, por presentar comunidades distintas.

Para ubicarnos en qué **ecorregión** se llevará adelante el muestreo seguiremos la propuesta de Morello *et al.*, 2012.

Podemos definir a las ecorregiones como unidades geográficas discretas, caracterizadas por ensamblajes únicos de especies. Siguiendo a Morello *et al.*, 2012, reconocemos 15 ecorregiones relacionadas con los ambientes acuáticos continentales. Ellas son: (Fig. 2):

1. Ecorregión de los Altos Andes
2. Ecorregión Puna
3. Ecorregión de las Selvas de Yungas
4. Ecorregión Chaco Seco
5. Ecorregión Chaco Húmedo
6. Ecorregión Selva Paranaense
7. Ecorregión Campos y Malezales
8. Ecorregión Monte de Sierras y Bolsones
9. Ecorregión Esteros del Iberá
10. Ecorregión Monte de Llanuras y Mesetas
11. Ecorregión Espinal
12. Ecorregión Pampa
13. Ecorregión Delta e Islas de los ríos Paraná y Uruguay
14. Ecorregión Bosques Patagónicos
15. Ecorregión Estepa Patagónica



Figura 2: Mapa de ecorregiones de la Argentina.

Al comparar las regiones con el mapa de ecorregiones, se observa que en cada área de trabajo puede haber más de una ecorregión, o que una ecorregión puede trascender un área de trabajo. Es necesario tener esto en cuenta para la selección del índice. Por otro lado, no todas las ecorregiones tienen índices biológicos específicos, pero cuando este sea el caso, pueden servir para orientar cuál índice de las ecorregiones cercanas podría ser aplicable. Sin embargo, es importante validar los índices cuando se aplican en otras ecorregiones, ya que pueden requerir ajustes. No siempre serán las mismas las familias o especies dominantes.

Tipos de ríos: estimaciones de caudal y morfometría

Adonis Giorgi y Eduardo Domínguez

Lo que tendremos en cuenta para esta clasificación es considerar a los ríos de acuerdo al tamaño y morfología de su cauce, dado que puede ser necesario considerar distintos ambientes y estrategias de muestreo en cada uno de ellos.

Orden del río

El orden del río se define por el número de afluentes que conforman un segmento determinado del cauce. Cuando se unen dos afluentes de primer orden, constituyen un río de segundo orden que conservará ese orden, aunque reciba nuevos afluentes de primer orden, pero lo cambiará al recibir uno de segundo orden. En general, aquellos de orden mayor son mas anchos y profundos y transportan mayores caudales (Fig.1). Para estas determinaciones, es muy útil usar las herramientas de Sistemas de Información Geográfica que permitirán además preseleccionar los lugares de muestreo en base a las características de la región, la distancia entre lugares de muestreo y la accesibilidad.

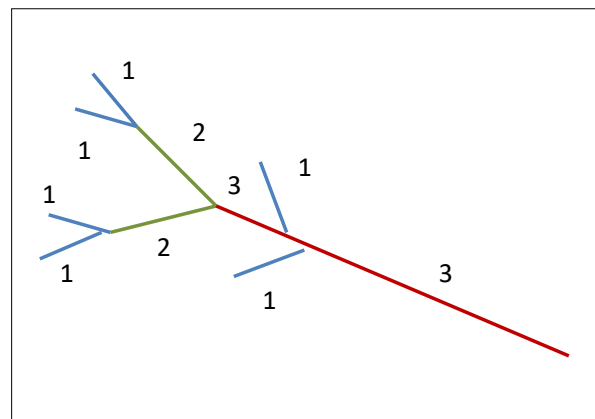


Figura 1: Representación de una cuenca donde se marcan el número de orden al que pertenecen los distintos ríos y arroyos.



Figura 2: Posicionamiento de las transectas en un tramo del río para determinar su ancho.

Ancho del río

El ancho del río (Fig. 2) es el ancho del cauce desde una orilla a otra y, en general, se refiere al ancho mojado, que es aquel cubierto por agua. Si bien ese ancho puede ser variable, se considera un ancho promedio del segmento o tramo. El ancho puede ser medido en forma efectiva en un arroyo o río pequeño o estimado desde un puente para ríos medianos o calculado en base a imágenes satelitales o relaciones trigonométricas en ríos aún mayores.

Caudal del río

El caudal de un río se puede estimar de distintos modos, pero se define como el volumen de agua que transporta el río en una unidad de tiempo (Fig. 3). En general los arroyos tienen caudales muy pequeños y los ríos caudales mayores porque pertenecen a órdenes mayores, es decir, reciben varios afluentes de las distintas áreas que drenan. La clasificación de ríos de acuerdo con el



Figura 3: Esquema de la sección de un río establecida a partir del ancho y la profundidad, que multiplicada por la velocidad del agua indica el caudal.

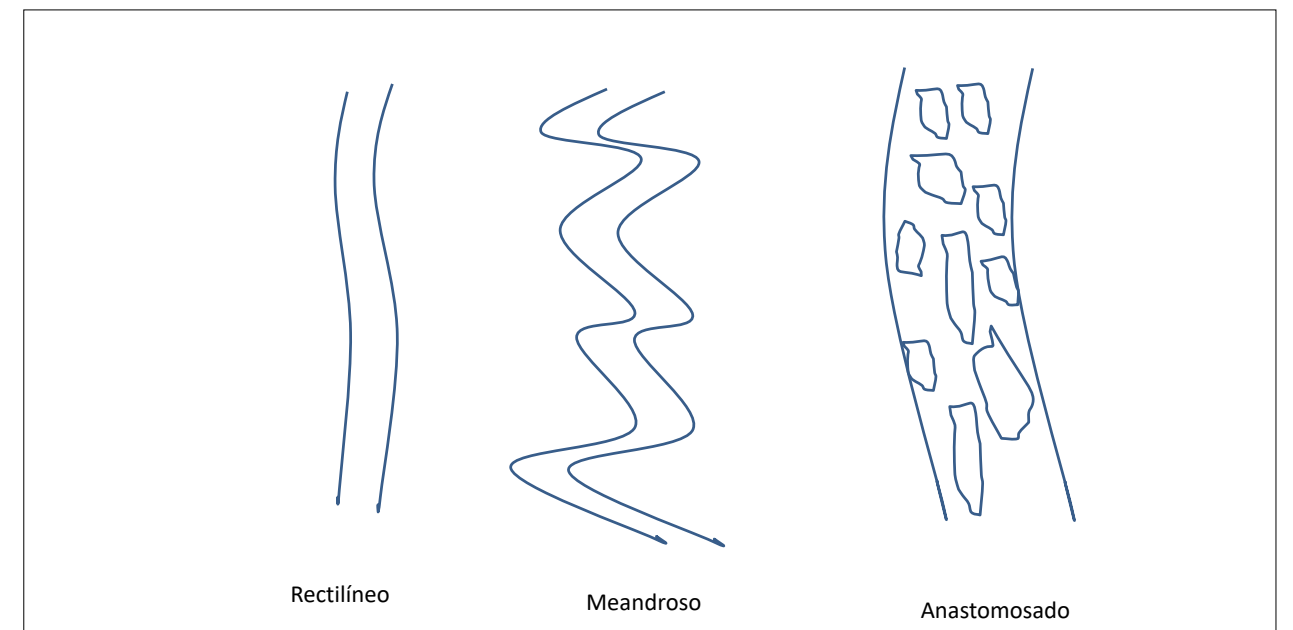


Figura 4: Distintos tipos de cauces que pueden tener los ríos. De izquierda a derecha: rectos, meandrosos o anastomosados.

caudal suele hacerse en condiciones de caudal basal porque, en condiciones de inundaciones, el caudal puede aumentar varias veces y tampoco sería representativo el muestreo a realizarse.

Morfología del cauce

La morfología del cauce no siempre es similar; en general, se presentan tres tipos morfológicos

básicos de cauces: (Fig. 4) rectos, con meandros, trenzados o anastomosados. Hay que tener en cuenta, como se indica en la figura, que cada uno de ellos puede tener una sección diferente, de modo que, aunque el caudal sea el mismo, los hábitats disponibles para los organismos serán diferentes. Esto deberá contemplarse durante la toma de muestras tratando de abarcar la mayor cantidad de hábitats y, por lo tanto, de biodiversidad de organismos.

Tipos de ríos	Caudal	Orden	Ancho	
Ríos Grandes	Más de 10 m ³ /s	6-12	50 o más Metros	Incluye Ríos interprovinciales
Ríos Medianos	1-10 m ³ /s	3-6	13-50	Ríos
Ríos Pequeños	0-1m ³ /s	1-3	1-12 m	Arroyos

Tabla 1: Tipos de ríos de acuerdo a sus características hidrológicas.

Los ríos se pueden dividir en tres grandes tipos cuyas características resumimos en la Tabla 1.

Estimaciones de caudal y morfometría

Antes de comenzar con las medidas in situ, es necesario realizar un relevamiento general del terreno que nos permitirá planificar varias de las actividades. Para esto, las herramientas que nos proveen los Sistemas de Información Geográfica (SIG) son fundamentales. Un reconocimiento de la zona, ubicación de los lugares accesibles con vehículos, localización de las probables estaciones de muestreos, localización de posibles fuentes de contaminación y sus vías de ingreso, tamaño de los ríos, etc., nos facilitará determinar qué elementos llevar en la campaña (por ejemplo: botas, waders o lancha). Esto puede hacerse con diferentes niveles de complejidad: desde una navegación con Google Earth®, hasta mapas con diferentes capas de información dedicadas a ríos, vegetación, industrias, cultivos, frigoríficos, etc. Todo esto, además de ahorrarnos tiempo y dinero en campañas de reconocimiento, nos puede dar pautas no observables en el terreno que podrían tener relevancia para nuestros análisis (por ejemplo: deforestaciones, cultivos, canalizaciones, etc., que podrían pasar desapercibidas a escala local). Además, también nos provee de la posibilidad de ubicar exactamente en un mapa nuestras estaciones de muestreo para su repetición en el tiempo. La revisión de algunos aspectos hidrológicos puede tener más detalles que este manual, por lo que sería importante también revisar estos apartados (e idealmente contactar a los especialistas) antes de iniciar las campañas. Por otro lado, en las distintas regiones, se incluyó la bibliografía relevante.

En cada muestreo se debe señalar claramente la localización del sitio de estudio, tomando las coordenadas con un GPS, e indicando su posición en la cartografía de trabajo, además de dibujar o bosquejar en las planillas de campo el tramo a muestrear señalando la ubicación de los ambientes observados.

Se deben evitar las alteraciones como puentes, vados, cruces de caminos, depósitos de residuos, extracción de áridos, etc. que no reflejen la variabilidad natural del tramo. Es importante, y siempre en caso de ser posible, muestrear en los diferentes sustratos comprendidos en el tramo.

Es de fundamental importancia tener una estimación, al menos aproximada, del caudal del río que se está muestreando y al que se hace referencia para que pueda compararse con otros similares tanto en las características físico-químicas como en los organismos presentes.

El caudal es el resultado del producto entre la sección o la media de varias secciones del río (expresado en m² o cm²) y la velocidad media del agua (que se expresa en m/s o cm/s). Las unidades de caudal más utilizadas son los litros por segundo (l/s) o metros cúbicos por segundo (m³/s) (1m³=1000 litros).

El caudal se calculará en las localidades donde sea posible, en general en ríos de hasta 20 m de ancho, vadeables, donde el río sea más estrecho. No es recomendable medir este parámetro en los tramos más profundos de los ríos, puesto que una mayor profundidad del cauce dificulta la toma de datos. En estos casos, se pueden tomar como caudales de referencia los que provienen de estaciones de aforo cercanas o a partir de la medición de niveles hidrométricos.

Para calcular la sección de un río, cuando este es pequeño, se coloca una cinta métrica de uno a otro lado del río. Mediante esta cinta métrica podrá estimarse el ancho del río en ese lugar. Luego, mediante un metro o vara graduada, se puede estimar la profundidad en distintos puntos de esa línea conformada por la cinta métrica que corta el río. Si el río es muy pequeño (arroyo) se recomienda tomar profundidades cada 10 o 20 cm de una a otra orilla. Si el río tiene mayor tamaño, la profundidad podrá tomarse cada medio metro o, aun, 1 metro. De ese modo, podremos estimar la superficie de cada uno de los segmentos imaginarios. Su sumatoria sería la sección total.

En ríos mayores se puede realizar esta estimación desde un puente usando una plomada o un flotador con sonar que permita medir la profundidad (H) en segmentos de 1 a 2 metros para reconstruir la sección del río (Fig. 5).

Cálculo de la sección del río

Para estimar este parámetro, primero se colocará una cinta métrica ocupando todo el ancho del cauce procurando que esté tensada. A continuación, se tomarán las medidas de profundidad, a intervalos regulares, mediante una vara graduada. La longitud de los intervalos será proporcional al ancho del tramo.

La sección del río la obtendremos calculando las subáreas y sumándolas todas, o calculando la profundidad media y multiplicándola por el ancho total.

Cálculo de la velocidad del agua en el río

Si se cuenta con un velocímetro es conveniente realizar la medición de la velocidad de la corriente en cada uno de los sitios donde se midió la profundidad. En caso de que la profundidad sea mayor a 20 cm, es conveniente tener una medida de la velocidad del agua cerca de la superficie y otra a mayor profundidad. Hay que tener en cuenta que la velocidad de la corriente de agua será mayor en superficie y disminuye a medida que aumenta la profundidad. Por ello, mientras más medidas de velocidad se obtengan en cada sitio, la estimación de la velocidad media de la masa de agua será más adecuada.

Algunos criterios para la estimación de los caudales en ríos con distinta profundidad media son: a) si el río tiene una profundidad menor a =0,5 m, tomar las velocidades en una única profundidad. b) si el río tiene mayor profundidad, es recomen-

dable tomar la velocidad en dos o tres profundidades diferentes. Por otro lado, si se toma una única medida de velocidad, porque la profundidad es baja o se está haciendo una evaluación rápida, no conviene realizarla en la superficie sino a profundidad media.

El caudal que se expresa en litros o metros cúbicos por segundo se obtiene a partir de multiplicar la velocidad media del agua (el promedio de todas las mediciones en la columna de agua) por la sección. De ese modo, el caudal en una sección determinada estará dado por la siguiente fórmula: $Q = A * V$ donde: $Q =$ Caudal (m³ / s) $A =$ Área del canal (m²) $V =$ Velocidad (m/s).

La velocidad del agua también puede ser estimada mediante flotadores (pueden ser esferas llenas de arena o naranjas) a las que se les permite recorrer un tramo recto de aproximadamente 20 metros. Si se toma el tiempo que tardan varias esferas en recorrer 20 metros se podrá obtener un valor de velocidad media. Debe considerarse que, así como la velocidad baja hacia el fondo, también se reduce en las orillas. También existen equipos de molinetes que pueden permitir la medición de la velocidad desde arriba de un puente u otros donde la velocidad se calcula a partir de la aplicación del efecto doppler.

En cauces pequeños, también pueden utilizarse otros métodos como el de dilución que emplea sales para realizar la estimación del caudal. Pero el método de velocidad-área es el que puede emplearse en un rango mayor de tamaños de ríos y, en el caso de que el río sea de gran tamaño, pueden asociarse las variaciones de caudal a las de nivel hidrométrico. En caso de que existan estaciones de aforo o estimaciones de caudal prolongadas en el tiempo, realizadas a través de variaciones en el nivel hidrométrico del agua, sería conveniente hacer referencia o calibrar las nuevas estimaciones con los valores de las mismas en los sitios muestreados.

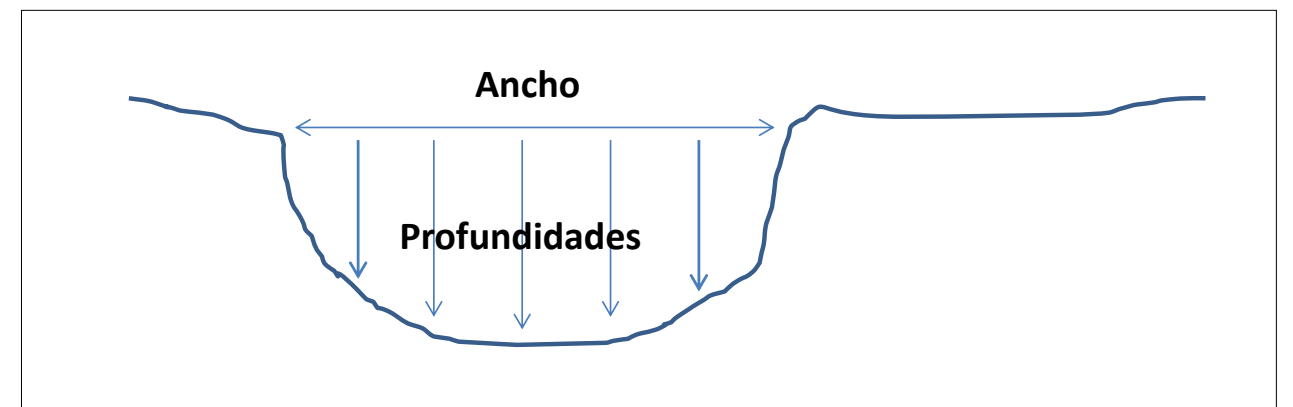


Figura 5: Sección de un río estimada mediante la medida de la profundidad del agua a intervalos regulares.

Tipos de sustratos

Eduardo Domínguez y Adonis Giorgi

Los ríos pueden tener diferentes tipos de sustratos. Estos, junto con las características hidrológicas, determinarán el tipo de muestreo. Ya que muchos organismos viven en microhábitats, debemos tratar de incluir a la mayoría de ellos para tener una muestra representativa. Cuanto más heterogéneo sea un río, más variedad de microhábitats tendrá. Un muestreo no exhaustivo resultará en un submuestreo que puede subestimar la riqueza de taxones y, por lo tanto, en un índice con un valor menor al correcto. Por lo tanto, lo ideal es hacer un muestreo "multihábitat", o sea, que incluya a todos o a la mayoría de hábitats disponibles.

Los sustratos pueden ser:

A. Orgánicos: plantas acuáticas sumergidas, emergentes, flotantes; algas, raíces y troncos depositados en el cauce; materia orgánica gruesa (paquetes de hojas), etc.

B. Inorgánicos: superficies uniformes como lajas o arcillas compactadas; bloques (rocas de diámetro mayor a 250 mm); cascajo y piedras (diámetro entre 250 y 25 mm); gravas (diámetro 25 a 2 mm); arenas y limos (diámetro de 2 a 0,1 mm).

También puede haber sedimentos finos constituidos por limos y arcillas (con o sin materia orgánica y diámetro menor a 0,1 mm).

Los hábitats con porcentajes de un tipo de sustrato mayor al 5% en un tramo, se considerarán dominantes; y los que cuentan con una representación del 5%, o menos, serán marginales. Es importante inspeccionar el río para elegir un tramo representativo que incluya la máxima variedad de sustratos.

Para estimar el porcentaje de sustrato presente en el lugar de muestreo, es conveniente elegir un tramo de 50 a 100 metros y establecer mediante

cuadrados o transectas el porcentaje de área (o longitud) ocupada por los distintos tipos de sustrato (roca, arena, limo, vegetación). Luego de tomar entre 10 o 20 muestras donde se estime este porcentaje, el promedio de las mismas indicará la proporción aproximada en que está representado cada uno de ellos. La representación de sustratos, o su heterogeneidad, puede servir para decidir cuántas muestras extraer de las comunidades de invertebrados o algas a muestrear y qué método es el más adecuado para ser utilizado. En general, en un sustrato más heterogéneo (rocoso o con vegetación) será necesario tomar más réplicas que en un sustrato homogéneo (arena o limno).

Recomendaciones de seguridad para el campo y laboratorio

Adonis Giorgi

Recomendaciones básicas de seguridad en campo

Tener preparado un botiquín para desinfectar y vendar heridas. Elementos básicos para un botiquín:

- Guantes descartables de látex para no contaminar heridas y para seguridad de la persona que asiste al herido.
- Gasas y vendas limpias (de 7 y 10 cm de ancho) para limpiar heridas y detener hemorragias.
- Apósitos estériles para limpiar y cubrir heridas abiertas.
- Cinta adhesiva para fijar gasas o vendajes.
- Tijera para cortar gasas y vendas o la ropa del accidentado.
- Antisépticos como yodo, agua oxigenada (de 10 volúmenes) o alcohol para prevenir infecciones.
- Jabón neutro (blanco) para higienizar heridas.
- Alcohol en gel y líquido para higienizar las manos.
- Suero antiofídico (según la región).

En general, es conveniente usar ropa que cubra todo el cuerpo y botas de goma; también, tener guantes y alcohol disponible.

La comida, bebida y tabaco, etc. se transportarán en recipientes herméticos, en lo posible refrigerados. No comer, fumar o beber con las manos

sucias, ni durante la toma de muestras. Lavarse las manos con agua y jabón abundante o usar alcohol en gel o alcohol diluido 70%.

Al finalizar la jornada, limpiar los equipos de trabajo para no transportar organismos entre ambientes. Si muestrea varios ambientes fluviales o estaciones en forma continuada en un mismo día, deberá procurar limpiar todos los materiales que se utilicen en más de una de ellas.

Los residuos deben ser transportados de regreso al lugar de trabajo, nunca ser arrojados a ríos, arroyos o charcas.

En caso de ensuciarse la ropa y el cuerpo, ducharse al regresar y cambiarse de ropa.

Cuando se sale de campaña, tener una cartilla con las direcciones y números telefónicos de hospitales, salas de atención primaria, bomberos o defensa civil, en caso de que haya que reportar incendios o accidentes.

Medidas preventivas

No manipular equipos eléctricos con las manos húmedas.

Reparar o sustituir cualquier cable o enchufe que presente deficiencias (pelados, rotos, deteriorados, etc.).

Si se observa calentamiento, chispazos, sensación de hormigueo, etc. en cualquier equipo o instalación eléctrica, desconectarlo inmediatamente.

Evitar la exposición al frío que puede provocar desde resfríos y gripe a bronquitis crónica, hipotermia y congelamiento de extremidades. Utilizar ropa de trabajo adecuada, camperas, extremos de mangas y pantalones ajustados.

Evitar excesiva exposición al calor ya que puede producir deshidratación, calambres, déficit salino, golpe de calor o insolación. Cubrir la cabeza con algún protector, tomar agua (no bebidas alcohólicas) y usar ropa liviana de color claro. Los síntomas de insolación son, entre otros: dolor de cabeza, náuseas y vómitos, respiración agitada, visión borrosa. Como primera medida, en caso de estos síntomas, conviene situarse a la sombra con las piernas levantadas.

Evitar salir a campo con tormentas. De hacerlo, evitar situarse en las proximidades o bajo tendidos eléctricos, o colocarse en lugares elevados o expuestos. En la medida de lo posible, permanecer en el vehículo.

En caso de picaduras y mordeduras, lavar la herida con agua y jabón, cubrir con un apósito y vendarla para acudir al médico, hospital o sala de auxilio. En caso de hacer torniquetes, deben situarse más arriba de donde se encuentra la herida o mordedura.

Recomendaciones básicas de seguridad en el laboratorio

Mantener un botiquín. Tiene que estar en una caja o una valija a la vista y bien señalizado (símbolo universal de la cruz roja que indica "primeros auxilios"). Debe contener:

- Jabón neutro (blanco) para limpiar heridas.
- Alcohol en gel para desinfectar rápidamente las manos de quien realiza la asistencia.
- Termómetro digital para medir la temperatura corporal.

- Guantes descartables de látex para no contaminar heridas y para seguridad de la persona que asiste a la víctima.
- Gasas estériles para limpiar heridas.
- Vendas para detener hemorragias.
- Antisépticos como yodo y agua oxigenada para higienizar heridas. Pueden ser paños de limpieza
- Tijera limpia y desinfectada para cortar gasas y vendas o la ropa de la víctima.
- 2 pañuelos triangulares
- Pinzas
- Cinta adhesiva sanitaria para fijar gasas o vendajes.
- Tiritas adhesivas para heridas menores.
- Solución salina normal (fisiológica) para la higiene de grandes heridas y para lavar y limpiar lesiones oculares.
- Alcohol al 70% para limpiar el instrumental de primeros auxilios.
- Medicamentos de venta libre: analgésicos antifebriles

Medidas preventivas

Presencia de matafuegos

Ubicados a la salida del laboratorio y de zona de riesgo de ignición con indicación de sus características y modalidad de uso.

Clase de Matafuego	A Agua	ABC Polvo Químico Seco	BC Co2	ABC Halotron	D Polvo Químico D	K Potasio
A Sólidos	✓	✓	✗	✓	✗	✗
B Líquidos	✗	✓	✓	✓	✗	✗
C Eléctricos	✗	✓	✓	✓	✗	✗
D Metales	✗	✗	✗	✗	✓	✗
K Gases	✗	✗	✗	✗	✗	✓

Vías de evacuación

De forma general, hay que familiarizarse con los elementos de seguridad disponibles (debe conocerse la localización de extintores, mangueras, duchas de seguridad y lavaojos) y estar al tanto de las salidas principales de emergencia, las cuales deben respetarse y evitar que sean invadidas por objetos innecesarios.

Sistemas individuales de protección

Deberán usarse gafas de seguridad, en caso de que sea necesario. Es obligatorio el uso de guardapolvo en forma cerrada; al salir, se lo debe dejar en el lugar designado. Se recomienda llevar zapatos cerrados (y no sandalias) y no utilizar lentillas en el laboratorio. Cuando sea necesario, utilizar guantes para protección de las manos y barbijos para protección de vías respiratorias. No es conveniente tener el pelo largo no recogido porque es una fuente de contaminación y de accidentes.

Normas higiénicas

No comer ni beber en el laboratorio. Hay que lavarse siempre las manos antes de abandonar el laboratorio.

Manipulación de productos, cultivos y materiales

No se deben utilizar productos o cultivos no etiquetados, ni sustituir un producto o cultivo por otro. El mayor peligro es el fuego. Es necesario evitar la presencia de llamas abiertas en el laboratorio, siempre que sea posible.

No utilizar material de vidrio en mal estado ya que aumenta el riesgo de accidentes.

Condiciones del área de trabajo

Debe mantenerse limpia y ordenada, sin efectos personales (libros, abrigos, bolsas, etc.) o equipos innecesarios.

Debe comunicarse inmediatamente cualquier tipo de derrame. Los productos químicos, cultivos, etc. derramados tienen que ser recogidos y eliminados inmediatamente siguiendo los protocolos establecidos.

Utilización de equipos y aparatos

Cada equipo debe tener una cartilla explicativa y el personal debe estar entrenado. En caso de duda, preguntar al responsable del laboratorio.

Eliminación de residuos

Seguir las indicaciones estándares respecto a la eliminación de residuos. Tener en cuenta que puede haber residuos inocuos que pueden eliminarse con la basura cotidiana y otros que deberán clasificarse como residuos especiales o peligrosos y disponerse adecuadamente en recipientes, y bolsas separadas.

Personas especialmente sensibles

Si tiene algún problema de salud, o se encuentra en estado de gestación o lactancia, contáctese con el Área Sanitaria más cercana para no correr riesgos innecesarios.

**Técnicas
de campo y laboratorio
para el estudio de
macroinvertebrados**

Materiales de colecta y equipo de muestreo

Pablo Macchi

Antes de comenzar, hay que familiarizarse con el índice que se aplicará y el tipo de río que se estudiará, para poder contar así con todos los elementos necesarios para organizar adecuadamente los muestreos y saber exactamente qué tipo de observaciones se deben realizar. Esto ahorrará tiempo y esfuerzo, ya que se contará con todos los elementos necesarios para lograr los objetivos.



Los muestreos se realizarán en los ríos o arroyos cuyo estado se desea estudiar y serán determinados por los tipos de ríos que estén involucrados. Estos estudios pueden ser para establecer sitios de referencia o para saber cuan contaminados o alterados están. También para establecer un sistema de control permanente sobre el impacto de la contaminación que el río o arroyo sufre a lo largo del año o de su recorrido. Según los objetivos, y los protocolos preestablecidos, los muestreos pueden ser **cuantitativos, semicuantitativos y cualitativos**.

Los muestreos cuantitativos se realizan de manera estandarizada para que sean comparables y se













puedan aplicar estadísticas. Por ejemplo, se toma un número determinado de muestras en diferentes lugares con superficies preestablecidas y en condiciones semejantes. Los muestreos cualitativos ponen el énfasis en muestrear la diversidad, pero no están diseñados para aplicarles análisis estadísticos. Por ejemplo, se puede muestrear en un lugar separando los organismos hasta que ya no aparezcan más taxones diferentes. Los semicuantitativos son una combinación de los otros dos, donde las comparaciones cuantitativas se realizan por rangos, utilizando escalas de abundancia-dominancia (ej.; raro, escaso, frecuente, abundante, muy abundante), o por porcentajes que puedan establecerse visualmente (menor a 25%, entre 25 y 50 %, entre >50 y 80 %, y >80%).

Previo a la salida de campo, se debe verificar que se cuenta con todos los materiales y equipos necesarios en condiciones para realizar el muestreo. Para eso, deberá completar los formularios de chequeo de materiales y equipo, diseño de monitoreo, y ficha de campo con los datos mínimos requeridos para cada sitio.

Materiales para el muestreo



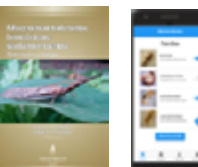
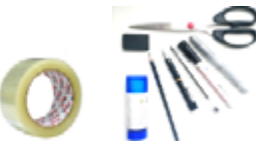





Formularios: Diseño de monitoreo Ficha de campo		Formularios requeridos para completar antes y durante el monitoreo.
Coladores o tamices de 1000 µm y 500 µm.		Para limpieza previa de la muestra.

► **Materiales para el muestreo**




Bateas plásticas blancas, medidas sugeridas 40x30x9.		Para el vertido de muestras y separación visual de organismos.
Bandejas de telgopor blancas, diferentes medidas		Para fraccionar la muestra y separación visual de organismos.
Frascos plásticos con tapa de 250 o 500 cm ³ u otra medida conveniente.		Para depositar los organismos separados en el campo o para fijación y traslado de muestras al laboratorio.
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.
Pipetas Pasteur de plástico		Para atrapar organismos pequeños que pueden ser succionados.
Piseta de 500 mL		Para el lavado de coladores o tamices.
Baldes		Para coleccionar agua
Lupas de mano con diferentes aumentos		Para una mejor observación e identificación de los organismos.
Tubos Eppendorf de 1,5 mL		Para guardar organismos de la misma familia o morfotipos similares.
Conservadoras		Para la conservación y traslado de muestras al laboratorio.
Equipo portátil de desinfección. Aspersor manual con una solución de hipoclorito de sodio al 5%.		Para desinfección de todo el equipo de muestreo utilizado antes de dirigirse a un nuevo sitio, para evitar la contaminación cruzada.



► **Materiales para 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.
Claves de identificación		Para la identificación de los organismos en el campo es necesario tener claves pictóricas y/o libros con claves dicotómicas.
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.
Cinta y estacas		Para demarcación de tramos de muestreo.
Equipo personal de muestreo: waders y/o botas		Para un mejor desplazamiento, evitando mojarse durante el muestreo.
Indumentaria de muestreo		Se recomienda ropa cómoda y de material de fácil secado. Camisa de manga larga, pantalones desmontables, gorra y botas.
Equipo básico de higiene y protección		Para proteger las manos. Pueden utilizarse guantes largos tipo veterinario en el caso de sospecha de ambiente contaminado. El equipo incluye barbijos, toallas descartables y alcohol al 70%.
Botiquín de primeros auxilios		Para cualquier imprevisto de accidente.

Equipos 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 µm.
Surber		Para el muestreo cuantitativo de macroinvertebrados en ríos y arroyos poco profundos. Apertura de malla de 500 µm.
Pantalla o pateo		Para el muestreo cualitativo macroinvertebrados, en ríos y arroyos con sustrato rocoso, con una apertura de malla de 500 µm. Puede adosarse un marco metálico de superficie conocida sobre el sustrato para tener un muestreo cuantitativo.
Draga Ekman		Para muestreo de fondo ríos y arroyos con baja velocidad de la corriente; para lagunas y humedales, con sedimentos finos (principalmente fangosos, con mayor contenido de limo y arcilla).
Draga Tamura		Para muestreo de fondo en ríos profundos y lagos con alta velocidad de la corriente con sedimentos finos (90% de arena).
Draga Ponar		Para muestreo de fondo en ambientes con baja velocidad de la corriente y sedimentos finos (arena-limo).
Cilindro Hess		Para muestreo cuantitativo de macroinvertebrados en arroyos y ríos poco profundos de sustrato rocoso.




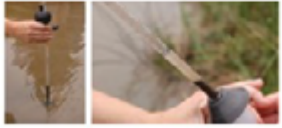




Equipos de muestreo

Descoranozadores o Corer		Para muestreo cuantitativo de macroinvertebrados, en ríos o arroyos poco profundos con sedimentos finos limosos arcillosos.
Sustrato artificial		Para la colonización de macroinvertebrados y su seguimiento temporal.
Aspirador de sedimentos finos		Para fitobentos en sustratos blandos, con predominio de limo y arcillas (episamon). Se utiliza una pipeta de 10 mL, seccionando la parte inferior, donde se insertará un adaptador de plástico para que sirva de apoyo en los sedimentos.
Corer de metacrilato (o jeringa sin su extremo)		Para fitobentos de sustratos blandos, con predominio de arena. Permite la extracción de los primeros milímetros.
Equipo medidor portátil y sondas multiparámetro		Para la caracterización fisicoquímica del agua en el sitio de muestreo. Los equipos deben ser calibrados y probados antes del muestreo. El equipo básico incluye sensores de pH, conductividad eléctrica, temperatura del agua y del ambiente y oxígeno disuelto. A esto se puede sumar sensor ORP y turbidímetro.
Cámara fotográfica		Para el registro fotográfico del ambiente y todo detalle que resulte de interés.
GPS (geoposicionamiento global)		Para guardar rutas y puntos.



►
Equipos de muestreo

Regla o mira		Para medir profundidad y otras mediciones longitudinales necesarias.
Descoranzadores o Corer		Para muestreo de fondo cuantitativo de algas, en ríos o arroyos poco profundos con sustrato duro (tosca, arcillas).
Red de plancton		Para el muestreo de fitoplancton se recomienda utilizar una red de 20 - 30 μm de apertura de poro.
Aspirador de sedimentos finos		Para fitobentos en sustratos blandos con predominio de limo y arcillas (episamon). Se utiliza una pipeta de 10 mL y se secciona la parte inferior, donde se insertará un adaptador de plástico que servirá de apoyo en los sedimentos.
Corer de metacrilato (o jeringa sin su extremo)		Para fitobentos de sustratos blandos con predominio de arena. Permite la extracción de los primeros milímetros.
Equipo medidor portátil y sondas multiparámetro		Para la caracterización fisicoquímica del agua en el sitio de muestreo. Los equipos deben ser calibrados y probados antes del muestreo.
Recipientes		Para la recolección de muestras y almacenamiento.

Procedimientos de muestreo

Mercedes Rosa Marchese y Florencia Lucila Zilli

Selección de sitios

La selección de sitios de muestreo y tramo del río a estudiar depende de los objetivos del monitoreo. Puede ser único o a largo plazo, y para detectar contaminaciones puntuales o difusas. En el caso de contaminaciones puntuales, es recomendable establecer al menos un sitio aguas arriba del efluente o situación problemática que se requiere evaluar en el área afectada y tener diferentes sitios aguas abajo para poder analizar si el río se recupera. Lo ideal es poder hacer un muestreo multihábitat para asegurarse de obtener una muestra representativa. En el caso de monitoreo de una región, es conveniente elegir segmentos representativos de esa región y en ellos uno o más tramos que se identifiquen geográficamente y a los que pueda retornarse periódicamente.

La determinación de la longitud del tramo a estudiar dependerá del tamaño del río, como se verá más adelante, pero puede ser desde decenas de metros hasta kilómetros. Según el ancho del río, puede ser necesario establecer sitios de muestreo en ambos márgenes y en el centro del cauce para determinar si las descargas se mezclan completamente al ingresar al río, o no. También es importante analizar si el tramo del río afectado es meandriforme, recto o anastomosado. Por ejemplo, si las descargas son en un tramo meandriforme, puede ser suficiente con un sitio de muestreo en la margen o en la contramargen aguas abajo de donde está la descarga y otro en el centro del cauce. Pero, si es un tramo recto, puede ser necesario establecer una transecta en cada sitio de muestreo y extraer una muestra en cada ribera y en el centro porque puede estar impactado todo el cauce.

Por otro lado, en ríos de mayor caudal ($>1000-1500 \text{ m}^3/\text{s}^1$), el centro del cauce es el área más representativa y se podrían establecer los sitios de

muestreo sólo en la faja central. Además, existen grandes diferencias en relación a las características físicas y químicas de las riberas y el centro, por lo tanto, la evaluación o diagnóstico puede llevar a errores de interpretación porque las diferencias pueden deberse a condiciones propias del hábitat, y no a los efectos que se quieren medir.

En ríos de mayor caudal y más profundos se debe utilizar embarcaciones para la extracción de las muestras, mientras que en los menos profundos y vadeables puede realizarse directamente introduciéndose el operador en el sitio.

a. Arroyos y ríos vadeables

- Se recomienda seleccionar un tramo de 50/100 metros en el área que se desee estudiar.
- Identificar los diferentes microambientes dentro del lecho por el tipo de sustrato (predominancia de arena, predominancia de grava, cascajo o rocas), el tipo de flujo (rápido, remanso, etc.) y la presencia de macrófitas.
- **En arroyos serranos:** para coleccionar invertebrados, emplear la red de pateo (o pantalla) o red con marco D y realizar un recorrido en zigzag dentro del lecho, siempre desde aguas abajo hacia aguas arriba removiendo el sustrato con los pies y recolectando el material que se desprende del fondo con la red. En el recorrido, asegurarse de atravesar los distintos microambientes identificados en el punto anterior. Realizar ese recorrido durante un tiempo estandarizado (en general se considera 5 minutos). Para el caso de la red de pateo, los mangos deben ser sostenidos con ambas manos para mantener la red extendida y se remueve con los pies la zona frente a esta, siempre ubicándose aguas arriba de la red

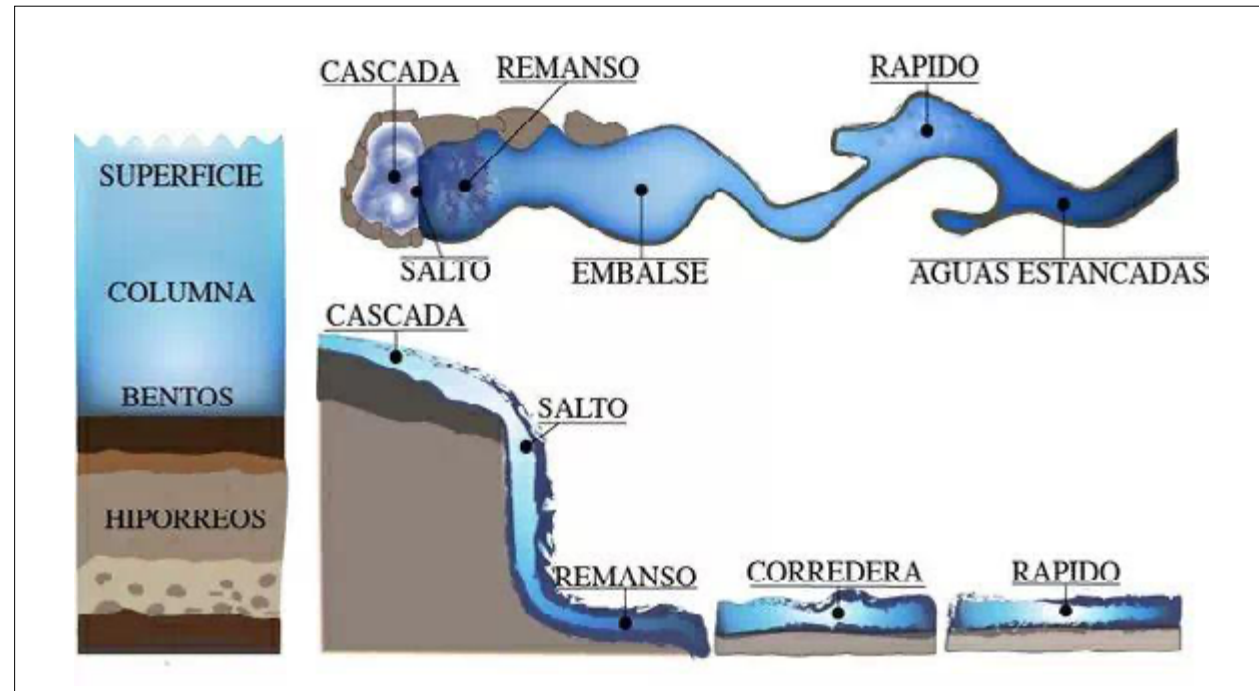


Figura 1: Representación de los hábitats típicos que se forman en un tramo de un río de bajo orden.

para que los organismos sean arrastrados y retenidos por esta. Luego de un tiempo adecuado de remoción, levantar la red contra la corriente para que los organismos no se suelten y depositar el contenido en una bandeja blanca, o retirar los organismos directamente con pinzas y poner en los frascos. Este tipo de red, en general retiene menos sedimentos que las redes D, por lo que la separación es más fácil. Si se aplica esfuerzo de búsqueda (igual tiempo, e igual área de remoción en cada muestra), estas muestras también son aptas para análisis estadísticos (Wantzen y Rueda Delgado, 2009).

- **En ríos de llanura:** en el caso de invertebrados también se utiliza la red de pateo (o pantalla) o red con marco D y se realiza una transecta dentro del lecho a lo largo de la orilla desde aguas abajo hacia aguas arriba, removiendo el sustrato con los pies y recolectando el material que se desprende del fondo con la red. En el recorrido hay que asegurarse de atravesar los distintos microambientes identificados en la orilla y realizar ese recorrido durante 5 minutos. En los ríos de llanura, en general, la transecta se realiza sobre la orilla ya que estos ríos presentan más de 70 m de ancho y muchas veces no son vadeables. Además, los microambientes de la orilla son los que presentan la mayor diversidad de invertebrados (Gualdoni et al. 2009).

- En el caso de usar una red surber, que es un muestreador más cuantitativo y que delimita un área de 0,09 m², el operador debe ubicarse a un lado o atrás de la red para no remover el sustrato delante de la misma y lograr que lo que quede atrapado corresponda exclusivamente al 0,09 m² de superficie demarcada por el surber. Deberá desplazarse siempre aguas arriba, es decir, en contra de la corriente para no alterar las zonas a muestrear; de este modo, la alteración quedará en la zona previamente muestreada. En este caso, es necesario remover las rocas y "limpiarlas" con las manos o un cepillo, siempre en frente de la boca de la red, para que los organismos que se vayan soltando sean arrastrados dentro del copo de la red. Con este tipo de red se toman muestras en las diferentes orillas y en el centro (siempre que la profundidad sea menor a la altura de la boca la red) y se pueden hacer tres réplicas en cada lugar, para poder hacer análisis estadísticos.

- [Ver Limpieza y almacenamiento de las muestras.](#)

b. Ríos no vadeables

Ríos profundos con sedimentos arenosos o limo-arcillosos: Para la recolección de macroinvertebrados bentónicos en este tipo de ríos, se requiere el uso de algún tipo de draga. Por ejem-

plo, para sedimentos finos, la draga Ekman es la más utilizada y es muy eficiente; pero en lugares como la faja central del cauce principal del río Paraná y otros cauces similares, con mayor velocidad de la corriente y sedimentos arenosos o más gruesos, este tipo de draga no funciona y se requiere alguna más robusta (por ejemplo, Tamura, Pomar).

Ríos y arroyos menos profundos: En estos cuerpos de agua, además, se puede utilizar muestreadores tubulares (descorazonadores o "core"). Existen diferentes modelos en el mercado, pero también se pueden construir fácilmente y a bajo costo.

Para muestreos cuantitativos con draga se recomienda extraer 3 muestras en cada sitio de muestreo establecido y, con un core, un mínimo de 5 muestras para disminuir el error porque, en general, los organismos no se distribuyen al azar en el hábitat donde viven, sino que se agrupan.

Macrófitas: Para la recolección de invertebrados asociados a macrófitas se utiliza un copo o red con mango (RED D) (puede ser de 35 cm de diámetro). En cada fecha y sitio de muestreo se toman 3 o 4 réplicas, según la extensión de la carpeta vegetal. La densidad de los invertebrados se puede expresar como número de individuos por m² cubierto por la vegetación (ind/m²) y como número de individuos por 100 g de materia vegetal seca (ind/100g). Luego se lavan cuidadosamente las partes sumergidas de las plantas para que los invertebrados se desprendan.

Para todos estos muestreos, generalmente, se emplean redes y tamices de 200-300 µm de abertura de malla, aunque para biomonitoreos se recomienda de 500 µm.

En algunos estudios, las muestras tomadas en un determinado tramo se combinan y se prosigue en laboratorio para analizar la muestra completa de ese segmento, aunque, generalmente, se submuestra. Se emplea esta técnica cuando el objetivo es comparar sitios en términos de riqueza o abundancia en promedio y no importa la variabilidad entre muestras. Generalmente, se recolectan muchas muestras (>10) que luego se integran (Anderson et al. 2013). Es más recomendable que cada muestra se procese de forma independiente para obtener un valor promedio y su desvío estándar. De esta forma no se pierde referencia de la variabilidad dada por la distribución agregada de los organismos. La ex-

presión de los datos de densidad es en número de ind/m²y, si se obtiene biomasa, en g o mg/m² teniendo en cuenta la superficie de extracción del equipo utilizado.

Uso de sustrato artificial: Los sustratos artificiales imitan las características de un sustrato de interés para la colonización. Se utilizan tanto para macroinvertebrados, como para algas y otros microorganismos. En el caso de macroinvertebrados, se usan, por ejemplo, paquetes de detritos vegetales *-leaf packs-*, de rocas o de materiales sintéticos. El peso seco o el área de colonización de los sustratos pueden ser medidos antes de colocar en el sitio de estudio, si se desea obtener la densidad de invertebrados. El periodo de tiempo para la colonización es importante (se recomienda como mínimo un mes) y, además, se debe tener en cuenta que los sustratos deben ser colocados en la columna de agua o dentro de los sedimentos a una profundidad que permita recolectar todos los organismos. Deben ser anclados para evitar pérdidas y se debe tener en cuenta las fluctuaciones hidrológicas del cuerpo de agua. Para retirarlos, se pueden emplear copos de una abertura de malla adecuada para impedir la pérdida de macroinvertebrados. Son muy útiles en ríos profundos con sustrato de arena, grava o rocas y arroyos con alta velocidad de la corriente, y facilitan el estudio en ambientes altamente contaminados (Anderson et al., 2013).

Los muestreos pueden ser cuantitativos: donde se debe poner énfasis en el número y forma de tomar las muestras, para poder aplicar análisis estadísticos. También pueden ser realizados de manera cualitativa: son más simples y sirven para comparar sitios en relación a presencia o ausencia de organismos y obtener la riqueza taxonómica (número de taxa) del área de estudio sin tener en cuenta la densidad de cada grupo. No se tiene en cuenta la unidad de superficie. El número de taxa registrado en el lugar depende del esfuerzo de muestreo, variable según el tiempo empleado o el área que se muestree. Una limitación que generalmente se señala de los muestreos cualitativos es que dependen de la experiencia del operador, y por tanto los resultados obtenidos por uno u otro operador pueden variar (Klemm et al. 1990).

MUY IMPORTANTE: después de cada muestreo realizado en una estación, los equipos y materiales sean lavados y desinfectados con una solución de hipoclorito de sodio al 5 % para evitar la contaminación cruzada.

Limpieza, almacenamiento de muestras y protocolo de trabajo de laboratorio, aplicación de índices

- Una vez terminado el recorrido, trasladar el contenido de la red en un balde o bandeja blanca. Asegurarse de que todo el contenido de la red pase al balde. Para ello, revisar la red y constatar que ningún invertebrado haya quedado adherido a la malla de la red. Si no hay mucho sedimento, pasar al punto f).
- Si hay mucho sedimento, llenar 1-2 baldes con agua del río o arroyo para poder diluir más la muestra si fuera necesario.
- Añadir agua al balde con la muestra y remover el contenido con vara de metal o madera. En este procedimiento el material inorgánico (guijarro, arena, etc.) que haya ingresado a la red se ubicará en el fondo del balde y el material orgánico quedará en suspensión.
- Verter solamente el sobrenadante dentro de una red más pequeña para filtrar los organismos.
- Volver a añadir agua al balde con material inorgánico, remover y verter el sobrenadante dentro de la red que contiene la muestra. De esta forma, nos aseguramos de extraer completamente los invertebrados del material inorgánico e introducirlos en la muestra. Repetir este procedimiento al menos unas 3 veces. Pueden requerirse más repeticiones si la muestra es muy grande. Siempre hacerlo con la mayor suavidad, para evitar el daño del material biológico.
- Buscar un frasco rotulado con fibra indeleble indicando sitio, fecha y operador e introducir en el frasco la totalidad de la muestra retenida en la red entomológica.
- Con papel vegetal y lápiz indeleble confeccionar la misma etiqueta que figura en el exterior del frasco e introducirla dentro del frasco con la muestra. Esto es para asegurar la identificación de la muestra en caso de derrames que borren la etiqueta externa del frasco.
- Si las muestras van a ser procesadas en el laboratorio dentro de los 7 días de recolectadas, se puede utilizar alcohol 80% o 96% como líquido conservante. Si la muestra contiene muchas algas o materia vegetal, o si va a pasar

más tiempo sin procesar, añadir al frasco formal 4% (son 10 mL de formaldehído para 100 mL de muestra).

- Una vez concluida la recolección de la muestra, se debe recolectar también una muestra de agua para la determinación de nutrientes y registrar con lápiz en la libreta de campo o planilla adjunta los siguientes datos:
 - Lugar de muestreo, fecha y hora.
 - Características generales del ambiente (datos referidos al tiempo, vegetación ribereña, precipitaciones, presencia de nubes, viento etc.)
 - Datos de variables físico-químicas (velocidad de corriente, profundidad, ancho del canal, temperatura del aire y del agua, pH del agua, conductividad, luz incidente, recolectar muestra de agua para determinación de nutrientes).
 - Esquema del río y lugares donde se tomó la muestra para poder repetir en un próximo muestreo, en caso de necesidad.
- En ríos que presentan fondos inestables (arenosos o limosos), también se pueden utilizar sustratos artificiales. Estos son útiles porque a veces es muy difícil encontrar las áreas (generalmente en parches) en las que se encuentran los organismos. Es importante anclarlos al sustrato, y que estén separados de éste, para que no queden enterrados en el sedimento durante las crecientes. De esta manera, se pueden poner varios y se los va recuperando a lo largo del tiempo.
- Recordar no dejar en el sitio basura, ni olvidar ningún material utilizado en el muestreo.
- Si se realizan en el mismo día muestreos en distintos sitios, se recomienda colocar los frascos con las muestras en una caja plástica o de cartón bien sujetos para evitar derrames.

FICHA DE CAMPO									
Nombre cuerpo de Agua					Estación				
Cuenca		Tipo de sistema		Inicio		Latitud		Longitud	
Provincia				Fin					
Fecha		Hora		Pendiente					
				Operador					
Condiciones Climatológicas									
Localización de Sitio		ESQUEMA							
Característica del Cuerpo de Agua					Particularidades del segmento				
Tipo de sustrato		%		Tamaño medio del sustrato (cm)		Presencia de Plantas		%	
Roca						Flotantes			
Arena						Sumergidas Libres			
Limo						Sumergidas Arraigadas			
Guijarros						Emergentes			
Plantas						Otros			
Otro									
Vegetación Ribereña (%)		Altura promedio (m)							
Ninguna									
Árboles									
Arbustos									
Gramíneas									
Otro									
Usos del Suelo		%		Tramo		Morfología del cauce			
Urbano				Ancho (m)				Recto	
Agrícola				Profundidad (m)				Sinuoso	
Ganadero				Longitud (m)				Anostomozado	
Natural				Caudal (m ³ /s)				Meandriforme	

Determinación de los índices: separación de muestras, determinación del material biológico en laboratorio y registro en planillas para cálculo de índices de macroinvertebrados

Antes de iniciar el procesamiento de las muestras de macroinvertebrados, para la posterior identificación de los ejemplares colectados en las mismas, hay que considerar el tiempo medio que tiene que emplear cada operador para realizar las distintas tareas. El procesamiento de las muestras no es algo sencillo, sobre todo para los principiantes, y se aconseja que se realice de forma continua para evitar errores comunes que se dan a lo largo de este procedimiento. Por ello, se recomienda que inicialmente se deje un margen amplio de tiempo y se respeten los mínimos establecidos (unas 4.30 h) para llevar a cabo esta tarea. Asimismo, es aconsejable solicitar y contar con personal experimentado, aunque sea al inicio de los muestreos.

Es necesario previamente familiarizarse con el índice a calcular para confeccionar planillas de identificación y conteo de ejemplares correspondientes (Fig. 2).

Ordenamiento del material a trabajar

Una vez que las muestras llegan al laboratorio se recomienda:

- Verificar la rotulación del material. Que todos los frascos de muestras tengan etiquetas que incluyan el sitio de muestreo, la fecha y el nombre del que realizó la colecta.
- Verificar que el frasco que contenga la muestra tenga suficiente líquido conservante, para evitar la desecación si no es analizado en el momento.
- Separar los frascos por sitio de muestreo, ordenarlos y dejarlos en cajas o bandejas rotuladas.
- Dejar el frasco de la primera muestra a analizar en una bandeja próxima al elemento óptico y junto a los materiales necesarios: pinza, pissetas con alcohol 70%, tubos con tapa para separar grupos taxonómicos (ej. tubos de Khan), planilla y lápiz.



Figura 2: Protocolo de procesamiento de las muestras de macroinvertebrados en campo y laboratorio.

Transferencia del material

Para transferir el material recogido del campo a las cápsulas de Petri y luego realizar las identificaciones correspondientes, se recomienda seguir los siguientes pasos:

- Llevar el frasco que contiene la muestra y los elementos necesarios para el lavado a una pileta. Usar guantes y barbijo para prevenir contacto con el conservante.
- Ubicar una red entomológica o tamiz de 30 cm de diámetro aproximado y 200 - 300 μm de abertura de malla sobre la pileta de lavado.
- Dentro de la pileta, abrir el frasco y verter la muestra dentro de la red con mucho cuidado para no dañar los organismos. El uso del formol debe ser realizado con mucho cuidado utilizando guantes y una máscara por sus efectos tóxicos y cancerígenos.
- Abrir el grifo y lavar la muestra con abundante agua teniendo cuidado de que el agua no caiga directamente sobre la muestra para no dañar los organismos. El agua debe deslizarse sobre las paredes de la red hacia la muestra. La muestra debe lavarse para eliminar el líquido conservante antes de su procesamiento bajo el microscopio estereoscópico.
- Mientras se realiza el lavado ir separando el material orgánico grueso (hojas, ramas) del resto de la muestra con una pinza. Lavar este material orgánico antes de desecharlo teniendo cuidado de colocarlo por encima de la red. Así, si posee invertebrados adheridos, éstos caerán dentro de la red.
- Una vez concluido el lavado, verter el contenido de la red en un vaso de precipitado con ayuda de pinzas entomológicas y pissetas con agua. El tamaño del vaso dependerá del tamaño de la muestra.
- Las muestras pueden ser coloreadas con Eritrosina o Rosa de Bengala para una mejor visualización de los organismos en el momento de su extracción del sedimento, o bien, utilizar la técnica de flotación donde se agrega una solución concentrada de azúcar o sal para cambiar la densidad y así recolectar los organismos que flotan.
- Colocar el vaso de precipitado con el material biológico en una mesada, próximo al instrumental óptico que se utilizará para realizar las identificaciones.

Lista de elementos necesarios para el trabajo

- Equipos de protección personal (guardapolvo, guantes, barbijo)
- Lavatorio
- Redes entomológicas o tamiz de 30 cm de diámetro y 200 - 300 μm de abertura de malla
- Placas de Petri
- Porta y cubreobjetos
- Pinzas entomológicas
- Agujas histológicas y hojas de bisturí
- Cuchara
- Vasos de precipitado
- Tubos ensayo o Khan de plástico con tapón o tapa.
- Pissetas con alcohol y con agua
- Bandejas blancas de plástico
- Material óptico
- Lápiz o rotulador resistente al agua
- Tijera
- Papel vegetal
- Cajas o bandejas de almacenamiento
- Formularios previamente preparados para anotar la identificación y recuentos. Pueden contener una lista de taxa con espacios en los que se indica su presencia en la muestra y anotar el recuento; también puede usarse un programa de ordenador preparado para la entrada directa de datos.
- Claves de identificación: Lopretto y Tell (1995), Domínguez & Fernández (2009) o guías pictóricas provistas para algunas de las regiones en este manual.

Fascos adecuados para almacenamiento prolongado

- Almacenar las muestras hasta su posterior análisis y conservarlas en el mismo frasco en el cual se colocaron cuando fueron recolecta-

das en el campo. Si se dejaron almacenadas mucho tiempo hasta su procesamiento, asegurarse de que el contenido del preservante sea suficiente y cubra todo el material recolectado. Asegurarse también de que la tapa se cierra correctamente. De esta forma se evitan desecaciones del material biológico. Los frascos deben almacenarse en lugares frescos y oscuros para que la luz o las altas temperaturas no deterioren los materiales colectados.

- Conservar los individuos ya identificados y cuantificados de una misma muestra en alcohol etílico al 70% en frascos plásticos (los mismos que se utilizan en el campo) y/o tubos Khan, o de vidrio con buen cierre, con los datos de referencia que se utilizaron en la etiqueta durante el muestreo. La cantidad utilizada del preservante debe ser la suficiente para que cubra todo el material biológico.
- Cuando ya se han procesado varias muestras, los tubos deben ser colocados todos juntos en un frasco plástico con la capacidad suficiente para alojar los tubos que se deseen almacenar (frasco madre). Cada frasco madre puede contener sitios de una misma cuenca, de sierras o llanura, de una misma ecorregión, etc. Poner esa información en una etiqueta en el frasco madre.
- Para evitar desecación del material, asegurarse de que la tapa del frasco cierra correctamente y colocar alcohol 70% al frasco madre luego de colocar los tubos. Es conveniente revisar una vez al año el frasco madre para verificar la evaporación del alcohol y rellenar.

Forma de ordenar los frascos durante el trabajo

Organizar los frascos una vez llegados del campo como se menciona en el punto 1 (Ordenamiento del material a trabajar).

Al revisar todas las muestras, organizar los individuos ya identificados y contabilizados en frascos plásticos y/o tubos, proceder como se explica en el punto 6.

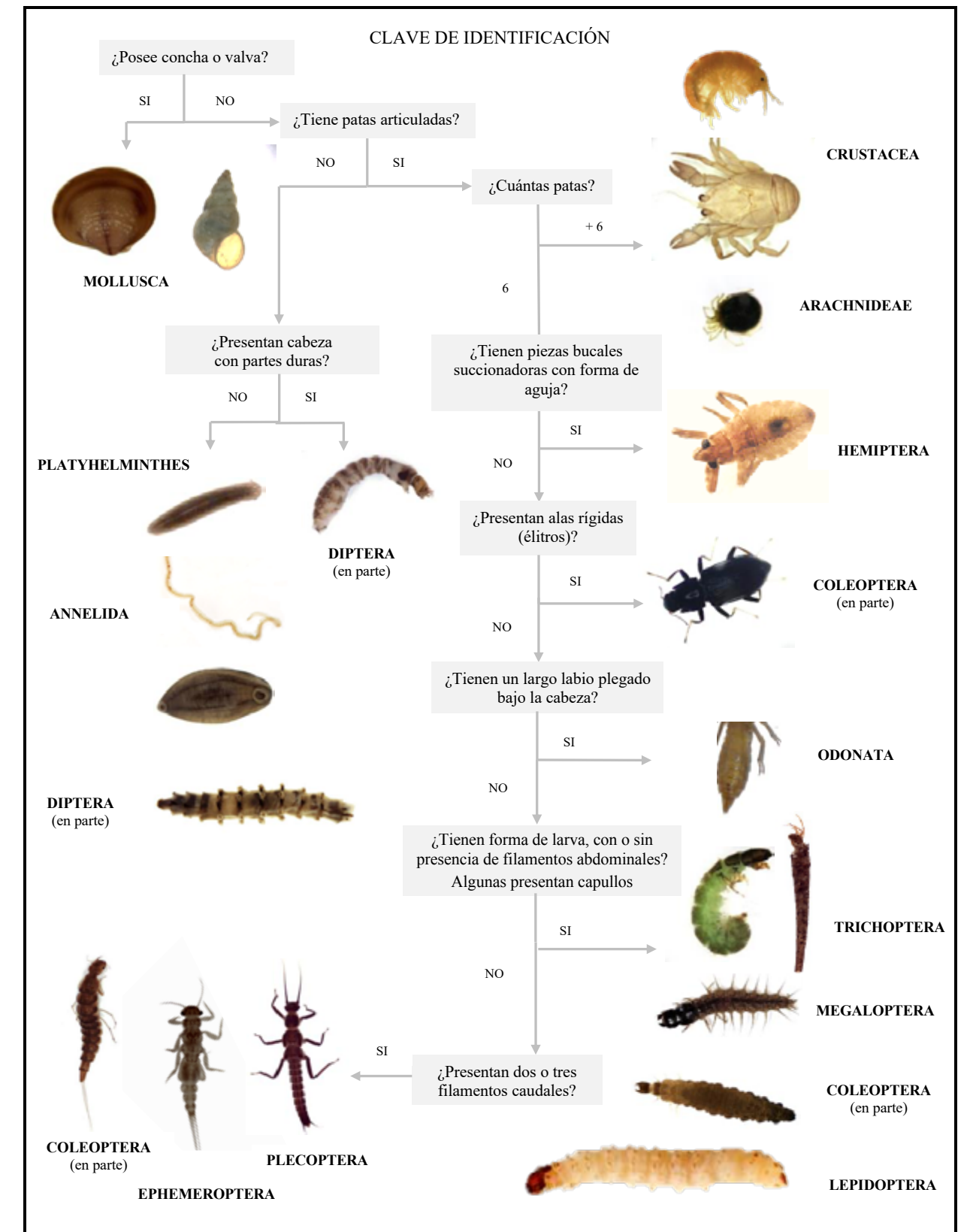
Instrucciones para observar e identificar el material y completar las planillas

- Para iniciar la identificación, volcar una pequeña porción de la muestra lavada en una placa de Petri con ayuda de una cuchara y colocar la placa bajo el microscopio estereoscópico.
- Realizar la identificación de los invertebrados

mediante la observación de características morfológicas bajo lupa con ayuda de pinzas entomológicas y agujas histológicas. Utilizar la clave pictórica incluida a continuación (punto 7) y las claves especializadas disponibles en Lopretto & Tell, 1995, Domínguez y Fernández 2009. Esta bibliografía citada contiene claves especializadas que permiten identificar el material biológico desde el mayor al menor nivel taxonómico de acuerdo a sus características morfológicas.

- Los datos se registran en un cuaderno, separando primero por órdenes en diferentes cápsulas y, luego, cada orden en familia (o nivel que sea). Al finalizar la observación devolver la muestra al frasco original.
- Es aconsejable almacenar las muestras para formar una colección de referencia del material para consultas posteriores y posibles comparaciones para determinar el cambio de calidad de un año a otro, por ejemplo, o de una estación a otra, o inclusive la evaluación de un cambio como puede ser la instalación de una fábrica, la salida de una cloaca, el aumento de la urbanización, etc.

Clave pictórica para la determinación de principales grupos de macroinvertebrados



Claves para órdenes:

(Diseño: Pablo Macchi basado en Lopretto & Tell, 1995, Domínguez y Fernández, 2009)

Índices regionales con macroinvertebrados

NOA, NEA, CUYO, CENTRO, PAMPA Y PATAGONIA

Región del NOA

Hugo Rafael Fernández, y Celina Reynaga

El NOA está compuesto por las provincias de Jujuy, Salta, Tucumán, Santiago del Estero, Catamarca y La Rioja con una extensión de 563.126 km² de terreno muy diverso. Por encima de los 2.500 metros de altitud, la masa continental se clasifica como zona montañosa, cualquiera sea su pendiente; por debajo de los 2.500 metros y por encima de los 300 metros, el territorio designado tierras altas o colinas también se considera zona montañosa si tiene cierto grado de pendiente y una morfología variable. Entonces, el 56,3 % del NOA corresponde a zonas montañosas con solo un 7,1 % de áreas protegidas, entre las que se destaca solamente la ecorregión de las yungas como prioritaria para la conservación, según González (2005).

En esta extensa área montañosa de la región se incluyen 4 ecorregiones, según Morello *et al.* (2012): altos andes, puna, yunga y monte de sierras y bolsones. En esta área geográfica se generan numerosas cuencas y subcuencas que forman los grandes ríos que cruzan la Argentina de oeste

a este (ver detalle en Domínguez *et al.*, 2020). La diversidad paisajística y los cambios observables en pocos kilómetros hacen que los métodos de muestreo para estudios o trabajos de vigilancia y biomonitorio en agua o ribera merezcan una especial atención. Los ríos o arroyos pequeños (caudal: 0-1m³/s) de orden 1 a 3 y no más de 12 m de ancho son muy comunes en esta zona (figs.



Fig. 2: Arroyo Noques (Tucuman)



Fig. 3: Río Itiyuro (Salta)

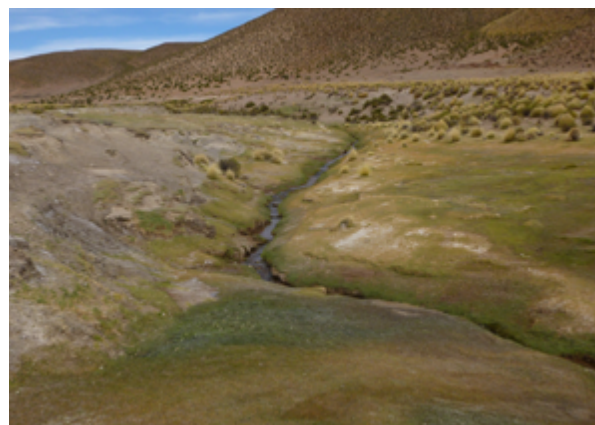


Fig. 1: Arroyo al pie del volcan Tuzgle (Jujuy)

1- 5) y en muchos casos caracterizados por ser esporádicos o no permanentes en la época seca en la región (mayo a octubre). En general, los ríos descritos aquí son vadeables en el período de caudal de base, y por tanto definitorio a la hora de programar un monitoreo al considerar el período lluvioso. Más raros son los ríos medianos (cau-

dal: 1-10 m³/s) que llegan al orden 6 y hasta 50 m de ancho que pueden observarse en valles intermontanos, muy caudalosos durante las crecientes (figs. 6- 10). En estos tipos de ríos, el método de muestreo y aproximación al sistema será más cercano al de un río de llanura (ver sección correspondiente) que al propuesto a continuación.



Fig. 4: Arroyo en Chaquivil (Tucuman)



Fig. 6: Río Santa María crecido



Fig. 8: Río en la puna (Jujuy)



Fig. 5: Arroyo de la Quebrada humeda (La Rioja)



Fig. 7: Río Morado (Jujuy)



Fig. 9: Río Quebrada de las Conchas (Salta)

a. Altos Andes y Puna

Los ecosistemas acuáticos de las ecorregiones de Altos Andes y Puna incluyen una amplia variedad de ambientes, desde pequeños a grandes lagos de distintos orígenes, nacientes de ríos que en muchos casos se asocian a grandes humedales o vegas. Los ecosistemas acuáticos se combinan entre lóticos (aguas corrientes) y lénticos (aguas quietas) hallándose una fauna particular en donde conviven organismos comúnmente presentes en los ríos y aquellos más dominantes en lagos o lagunas. Los métodos para coleccionar macroinvertebrados dependen de la estructura del cauce, como del tipo de muestreo que se necesite realizar; en el caso particular de la Puna, los cauces hídricos son generalmente angostos y poco profundos y, en algunos casos, se encuentran encajonados dentro del paisaje. Para estos casos lo más recomendable es el uso de red D con malla de abertura de 300 µm y con mangos largos para acceder a los distintos hábitats. También puede utilizarse cola-

dores que permiten el acceso a sitios estrechos y poco profundos.

Dadas las características ecológicas y la tolerancia a la contaminación en las zonas andinas por encima de 2000 msnm, el índice biótico recomendado es el ABI (Andean Biotic Index, Ríos-Touma *et al.* 2014).

ABI: utiliza la presencia-ausencia de familias de macroinvertebrados, donde a cada familia se le asigna una puntuación del 1 al 10 de acuerdo al nivel de sensibilidad a la contaminación. Cabe recalcar que si se trabaja sobre los 2000 m s.n.m., se debe utilizar las puntuaciones de las familias de acuerdo al ABI, método desarrollado y adaptado para estas zonas altitudinales. Una vez establecidas las puntuaciones de cada uno de los grupos encontrados, se realiza la sumatoria de los valores de las familias presentes por cada sitio de muestreo (Tablas 1 y 2).

Taxones	Puntaje
Gripopterygidae, Leptophlebiidae, Odontoceridae, Perlidae	10
Hydrobiosidae	8
Glossosomatidae, Limnephilidae, Scirtidae	7
Aeshnidae, Coenagrionidae, Hyalellidae, Hydroptilidae	6
Corixidae, Elmidae, Simuliidae, Tipulidae, Turbellaria	5
Baetidae, Ceratopogonidae, Dolichopodidae, Hydracarina, Stratiomyidae, Tabanidae	4
Glossiphonidae, Hydroptilidae, Ostracoda, Planorbidae, Staphilinidae	3
Chironomidae, Collembola, Culicidae, Muscidae	2
Oligochaeta, Syrphidae	1

Valor (ABI)	Calidad del agua
>96	Muy buena
59-95	Buena
35-58	Regular
14-34	Mala
<14	Muy Mala

Tablas 1 y 2: Categorías de calidad del agua de acuerdo a los valores del índice ABI, obtenidos por el valor de presencia de familias de macroinvertebrados.

b. Yungas

Los ríos y arroyos que discurren por las selvas de montaña de la ecorregión de Las Yungas se caracterizan por albergar una diversidad asombrosa de macroinvertebrados bentónicos. Para esta región, se aconseja el uso de red D para coleccionar aquellos organismos que se encuentran en las raíces, vegetación, sustrato rocoso y sedimento, y realizar un barrido en un tramo de 20 m durante 30 minutos.

Entre los índices bióticos que pueden ser utilizados en esta región, se destacan a continuación aquellos que combinan una baja resolución taxonómica con una alta capacidad indicadora:

IBY- 4 o Índice Biótico de las Yungas basado en 4 taxones (Dos Santos *et al.* 2011): en términos prácticos, la baja resolución taxonómica implica facilidad en la identificación. La conjunción de los siguientes taxones resueltos hasta el nivel de familia (Elmidae) y de orden (Trichoptera, Megaloptera y Plecoptera) facilita acceder a una diagnosis bastante precisa del estado del río estudiado para diagnosticar perturbación en ríos y arroyos de la región mencionada. El índice puede adoptar 5 valores discretos, i.e. {0, 1, 2, 3, 4} en función del número de los taxones claves detectados (Tabla 3). La presencia de cada uno de los insectos sumará un punto, pudiendo alcanzar un máximo de 4 (todos los grupos están en el río) y un mínimo de 0 (ninguno está presente en el río). Por ejemplo, si en un tramo se registrara la siguiente lista de taxones: {Ephemeroptera, Chironomidae, Trichoptera, Plecoptera} entonces sería IBY-4 = 2, porque están presentes sólo 2 de los 4 taxones con potencia diagnóstica.



Elmidae: pequeños escarabajos de los ríos (menos de 1 cm), oscuros, caminan muy lentamente (no nadan). Sus larvas son alargadas, cilíndricas o aplanadas. Para el índice se considera la presencia de la larva o el adulto.



Trichoptera: larvas de 1 a 3 cm de largo. Algunas especies construyen estuches con arena u hojas, otras fabrican redes de seda con las que atrapan partículas arrastradas por el agua y que le sirven de alimento.



Plecoptera: poseen un largo de cuerpo que ronda los 2 a 3 cm, sin incluir sus dos antenas y sus dos filamentos posteriores. Tórax formado por tres placas.



Megaloptera: muy activos y grandes (hasta 7 cm), con fuertes mandíbulas. Se destacan los 8 filamentos respiratorios en el abdomen.

0	muy contaminado
1	contaminado
2	contaminación media
3	en buen estado
4	en excelente estado

Tabla 3: Categorías para expresar los resultados de calidad del agua basado en la presencia de 4 taxa (IBY-4).

BMWP' (Biological Monitoring Working Party): Índice modificado por Domínguez & Fernández (1998) para la región. Este índice se calcula sumando las puntuaciones asignadas a los distintos taxones o familias de macroinvertebrados encontradas en las muestras. Las familias que se han podido identificar se registran y se les asigna el puntaje que reciben según el índice BMWP', en función del grado de sensibilidad a la contaminación (ver Tabla 4). Al final se suman todos los puntajes (una única vez por familia, independientemente de la cantidad de individuos o diferentes especies o géneros encontrados) y, según el resultado, se compara con la tabla de valores (Tabla 5) para obtener la calidad del agua del río donde se realizó el muestreo.

c. Montes de sierras y bolsones

Esta área del NOA es una franja relativamente angosta, pero muy extendida en sentido latitudinal. Se caracteriza porque las zonas áridas o semiáridas forman una gran extensión territorial, donde los cauces suelen tener escorrentías intermitentes. Los lechos suelen ser gravosos o arenosos. El método de colecta de macroinvertebrados aconsejado es empleando red Surber o red D y los índices más utilizados fueron el BMWP', ASPT' e IBF.

TAXON	PUNTAJE
Leptophlebiidae	10
Perlidae, Gripopterygidae	
Corydalidae	
Libellulidae	
Leptoceridae	
Psephenidae	9
Crambidae	
Leptohyphidae, Glossosomatidae, Odontoceridae Philopotamidae	8
Chironomidae (Podonominae y Orthocladinae)	
Odonata (varias fam.)	
Rhyacophilidae, Limnephilidae	7
Hydroptilidae	6
Unionidae, Lymnaeidae,	
Oligoneuriidae, Caenidae	
Elmidae, Staphylinidae	5
Hydropsychidae	
Tipulidae, Simuliidae	
Mycetopodidae	
Baetidae,	
Halilidae	4
Tabanidae, Dixidae, Stratiomyidae, Empididae, Dolichopodidae, Ceratopogonidae, Psychodidae	
Palaemonidae, Aeglidae	
Hydracarina	
Dytiscidae, Hydrophilidae	3
Physidae, Planorbidae, Ancyliinae	
Trichodactylidae, Ostracoda, Copepoda	
Hemiptera (varias fam.)	
Hirudinea	
Culicidae, Ephydriidae	2
Ampullariidae	
Oligochaeta	1
Chironomidae (Chironominae, rojos)	

Tabla 4: Puntuaciones asignadas a los diferentes taxones de macroinvertebrados para la obtención del índice BMWP' (modificado de Alba-Tercedor y Sánchez-Ortega, 1988; Domínguez y Fernández, 1998). Actualizados con datos 2019.

Clase	Valor (BMWP')	Significado
I	>66	Aguas muy limpias
	40-66	Aguas no contaminadas
II	30-40	Con algún grado de contaminación
III	20-30	Aguas contaminadas
IV	10-20	Aguas muy contaminadas
V	<10	Aguas fuertemente contaminadas

Tabla 5: Clases para calificar la calidad de agua de los sitios de acuerdo al valor BMWP'

Región del NEA

Mercedes Rosa Marchese y Florencia Lucila Zilli

Aquí se presenta información general, así como la vinculada a metodologías con probada eficacia para el diagnóstico y monitoreo de ríos y arroyos de la región. Cabe destacar que, en la actualidad, se están ajustando y testeando diversos índices, así como la asignación de valores de sensibilidad/tolerancia de las taxa más representativas para ser aplicados en ríos de la región, los que serán oportunamente incorporados a este manual.

La región nordeste está enmarcada por grandes ríos como el Paraná, Paraguay y Uruguay y, por tanto, presenta una red hidrográfica con gran desarrollo de humedales regulados por pulsos recurrentes de inundación y sequía. Los ríos y arroyos de la región tienen escasa pendiente y corresponden a la región de Humedales del Chaco, Misioneros, del Corredor Fluvial Chaco-Mesopotámico, del Corredor Fluvial Paraguay-Paraná y de la Pampa (Benzaquen *et al.*, 2013; Kandus *et al.*, 2017). Los ríos de la región son, en general, ríos grandes ($>10\text{m}^3/\text{s}$), de profundidad variable y con predominancia de sedimentos finos (arenas, limos y arcillas), escaso gradiente topográfico, en permanente actividad y modificación como consecuencia del comportamiento cíclico de las inundaciones. No obstante, en Entre Ríos, algunos arroyos son pequeños con un caudal $<1\text{m}^3/\text{s}$ y de muy poca longitud y en muchos casos presentan sustratos duros con gravas y cantos rodados.

Por otro lado, el sector correspondiente al Alto Paraná (desde la boca del río Iguazú hasta su confluencia con el río Paraguay), tiene un régimen hidrológico irregular y complejo debido a la presencia de represas en la cuenca superior y Yacyretá (en territorio argentino). El Alto Paraná es un río de meseta encajonado, con cauce angosto en el orden de los

250 m, de lecho rocoso y sinuoso. Los tributarios de bajo orden son extensos, muy sinuosos, con márgenes de pendientes elevadas y presentan lechos rocosos con placas de basaltos y discontinuidades que forman saltos, pozones y correderas (Peso *et al.*, 2013). En general, en los ríos de mayor caudal y velocidad de la corriente sólo se registran parches ribereños de macrófitas flotantes y arraigadas, pero en los más pequeños pueden llegar a colmatarse e impedir el flujo de agua debido a la vegetación acuática. Por tanto, en estos ambientes es importante no sólo analizar los macroinvertebrados bentónicos sino también los asociados a la vegetación. En algunos arroyos, sobre todo de la ecorregión pampeana del NEA, existe buen desarrollo de helófitas. La vegetación de ribera en las zonas más conservadas está caracterizada por selva en galería o monte con variaciones de acuerdo a la ecorregión. Las grandes modificaciones se dan por las actividades agropecuarias y de la industria forestal.

Los macroinvertebrados registrados con mayor frecuencia en ríos de mayor caudal ($>50\text{m}^3\cdot\text{s}^{-1}$) con flujo permanente, que viven en sedimentos de fondo o asociados a otros sustratos, tales como raíces de plantas acuáticas, restos de hojas en descomposición, troncos sumergidos, etc., tienen un amplio rango de tamaños desde menos de 1 milímetro a varios centímetros. Sumado a esto, la alta turbidez del agua en muchos de los ríos del sistema del Paraná dificulta en gran medida realizar la observación directa y análisis en campo de los grupos taxonómicos encontrados y, por ende, no son aplicables las metodologías encontradas en los protocolos clásicos de bioindicadores y biomonitores, sino que requieren ajustes para poder ser empleados. Los grupos más representativos son insectos, anélidos, turbelarios, nematodos, moluscos y crustáceos (Fig. 1). En la Figura 2 se observa la diversidad de ambientes fluviales de la región del NEA.

Ejemplos de diferentes ambientes fluviales de la región NEA.



Arroyo Ramón (Misiones)
(<https://commons.wikimedia.org/wiki/>)



Río Iguazú (Misiones) (Foto: F. Zilli)



Río Bermejo (Formosa) <http://www.chacodiapordia.com>



Río Negro -(Chaco) <http://www.diarionorte.com>



Río Paraná y su llanura aluvial. Colección INALI (CONICET-UNL)



Río Colastiné (Santa Fe). Colección INALI (CONICET-UNL)



Arroyos- Cuenca Carrizales (Santa Fe) (Foto F. Zilli)



Arroyos- Cuenca Carrizales (Santa Fe) (Foto F. Zilli)



Cauce principal Río Paraná (Santa Fe-Entre Ríos)
(Foto: M. Marchese)



a. Identificación, recuentos y asignación funcional

Para el análisis cualitativo y cuantitativo de las muestras, es necesario colocar a los organismos que son de mayor tamaño en cajas de Petri y pueden contarse e identificarse directamente en lupa (microscopio estereoscópico). Mientras que los más pequeños se deben ir colocando en portaobjetos, siempre teniendo en cuenta que no se sequen, para lo que se coloca unas gotas de agua y por encima un cubreobjetos y así se cuentan e identifican en microscopio óptico. Para manipular los organismos se debe utilizar pinzas de punta fina y pipetas Pasteur. Para algunos grupos, por ejemplo, oligoquetos, quironómidos, etc. es necesario aclararlos para poder identificarlos o realizar preparados permanentes. Para aclarar a los quironómidos se puede utilizar una solución de KOH al 10% o medio de Hoyer (Trivinho-Strixino 2011). Para los oligoquetos, se puede utilizar Lactophenol (Brinkhurst y Marchese 1992).

Para la identificación taxonómica morfológica se pueden utilizar las claves pictóricas incluidas en este manual, o guías o claves disponibles para la región Neotropical (Brinkhurst y Marchese 1992; Lopretto y Tell, 1995; Dominguez y Fernandez 2009, Trivinho-Strixino 2011, Marchese et al., 2020, entre otras). Los grupos de invertebrados más comunes se encuentran en la Figura 1.4. De acuerdo al índice o métricas aplicados puede ser necesario realizar asignaciones funcionales de los macroinvertebrados y, en ese caso, se pueden emplear guías o información publicada (por ej. Merrit et al. 2002, Cummins et al. 2005, Tomanova 2007, Ramírez y Gutiérrez-Fonseca, 2014) y

para ajustes regionales se pueden consultar las publicaciones y los autores de las mismas que trabajan en la región NEA.

a. Índices

Al presente, aún no se han desarrollado índices bióticos específicos para la evaluación de ríos de la región del noreste, sino que se han aplicado diferentes índices originados en otras regiones del país o del exterior. Al respecto, los índices bióticos aplicados en ríos del sistema del río Paraná se basan en la relación de una especie de oligoqueto, *Limnodrilus hoffmeisteri* con la densidad total ($L. hoffmeisteri / \text{densidad total}$). Esta relación aumenta en ambientes con contaminación orgánica. Por otro lado, la relación quironómidos / oligoquetos disminuye en los ambientes de alta conductividad. (Marchese y Ezcurra de Drago 1999; Pavé y Marchese 2005).

No obstante, solo la presencia de *L. hoffmeisteri* no es indicadora de contaminación orgánica sino su densidad o dominancia. Por otro lado, en cauces secundarios y tributarios de menor caudal, índices tales como IMRP (Rodrigues Capítulo 1999), IBPamp (Rodrigues Capítulo et al. 2001), BMWP (Armitage et al. 1983; Alba Tercedor y Sánchez Ortega 1988) (para sus cálculos ver protocolos, IBF (Hilsenhoff 1988), SIGNAL 2 (Chessman 2003) Protocolo Signal2) han sido aplicados (Damborsky et al. 2012; Damborsky y Poi 2015; Crettaz Minaglia et al. 2014, 2015; Juárez et al. 2016, 2018; Capeletti et al. 2017, 2019). Juárez et al. (2018) realizaron en arroyos de Entre Ríos evaluación de riberas con la aplicación del índice de Calidad de Riberas (Troitiño et al. 2010) y, más recientemente,

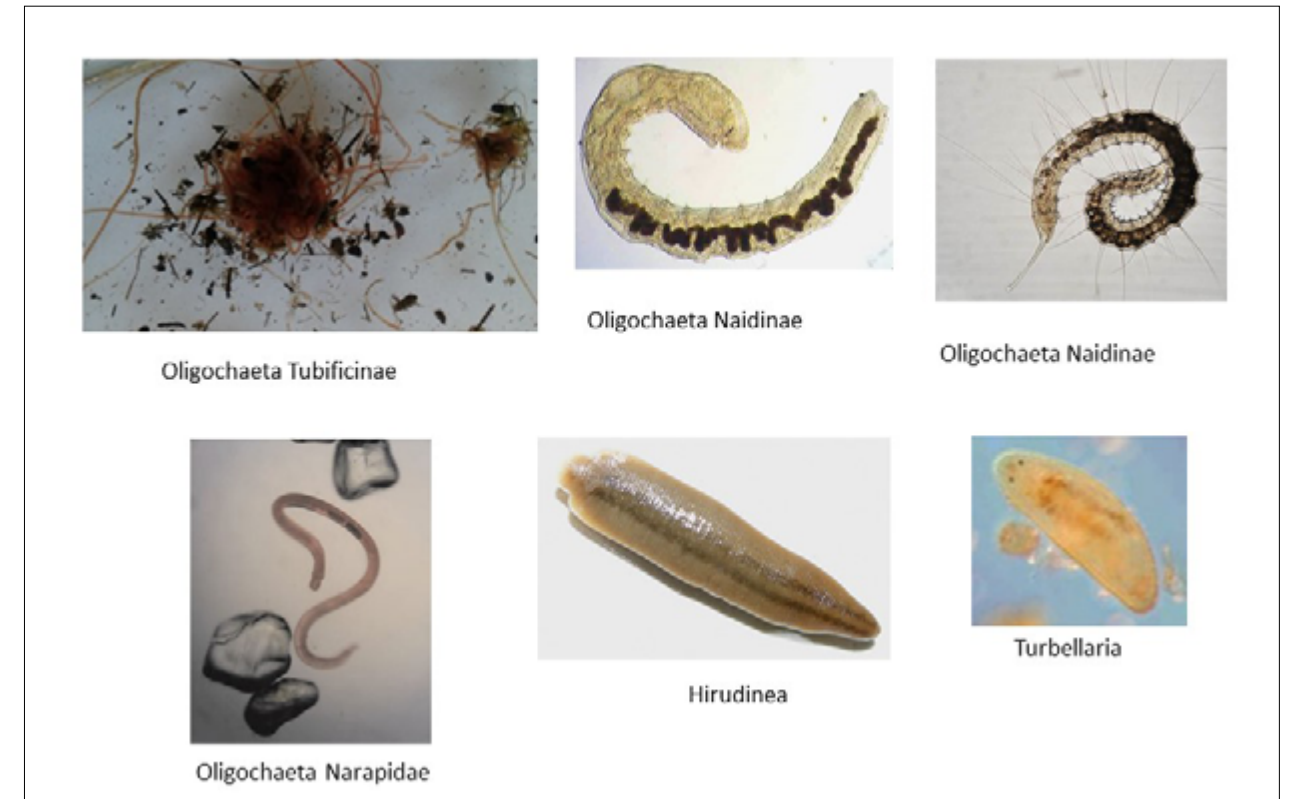


Figura 1: Grupos de órdenes y familias más comunes (oligoquetos, hirudíneos y turbelarios). (Fotos del laboratorio de Bentos-INALI)

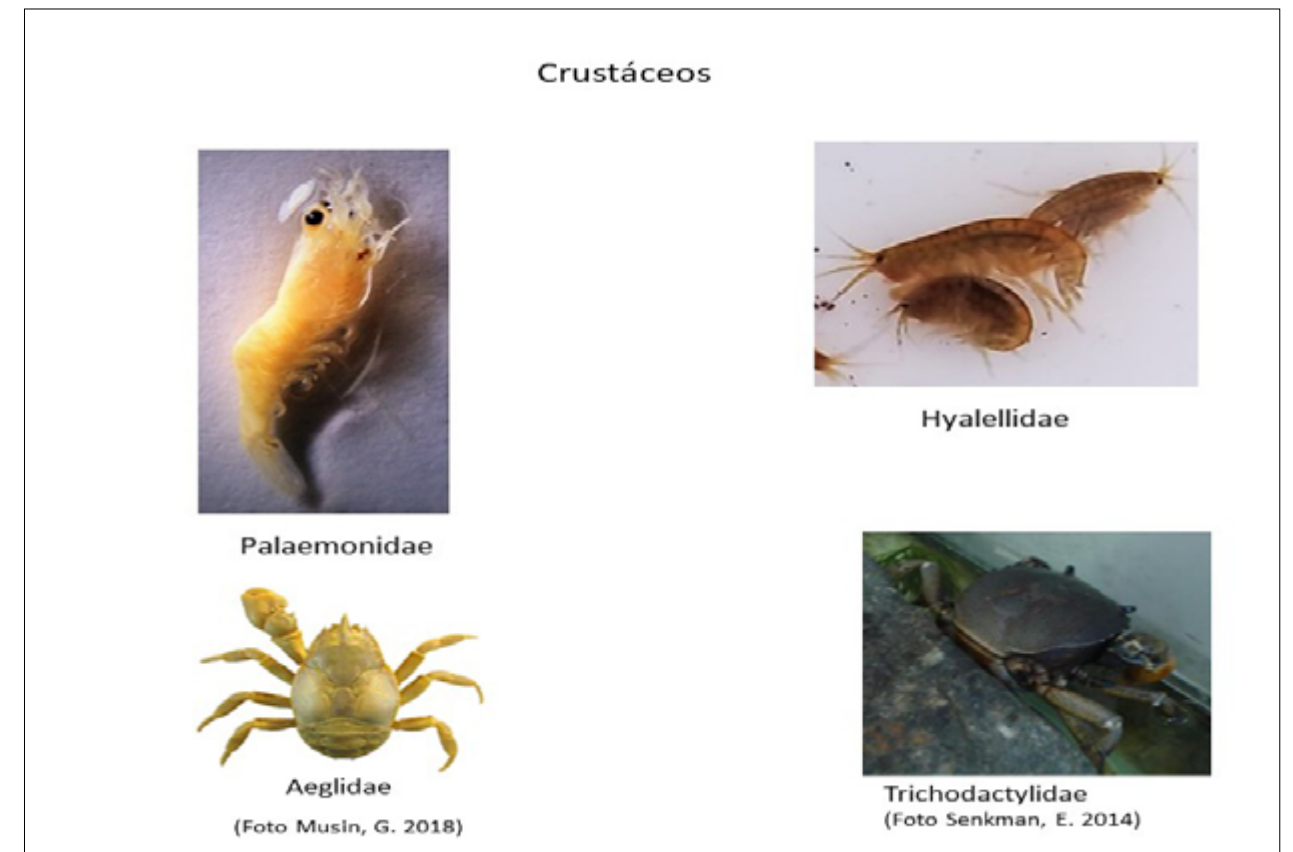


Figura 2: Grupos de órdenes y familias más comunes (crustáceos).

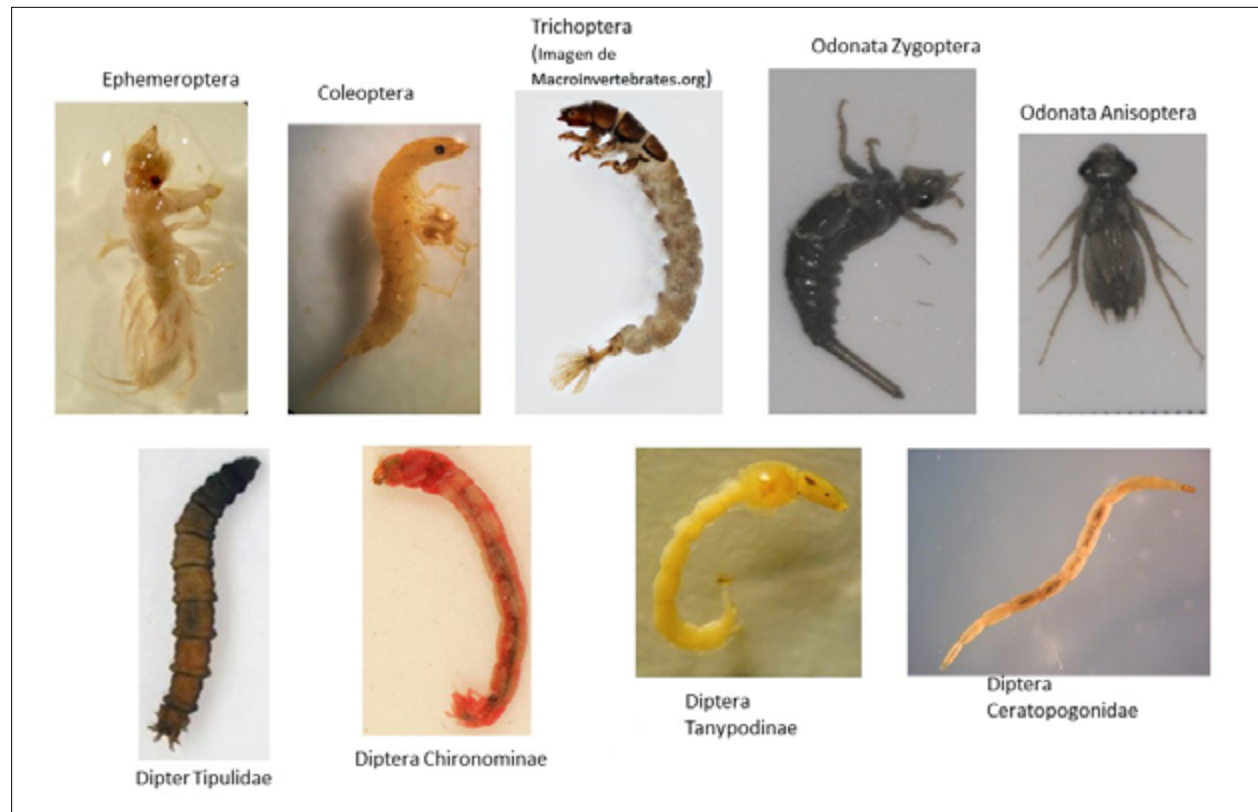


Figura 3: Grupos de órdenes y familias más comunes (larvas de insectos). (Fotos del laboratorio de Bentos - INALI)

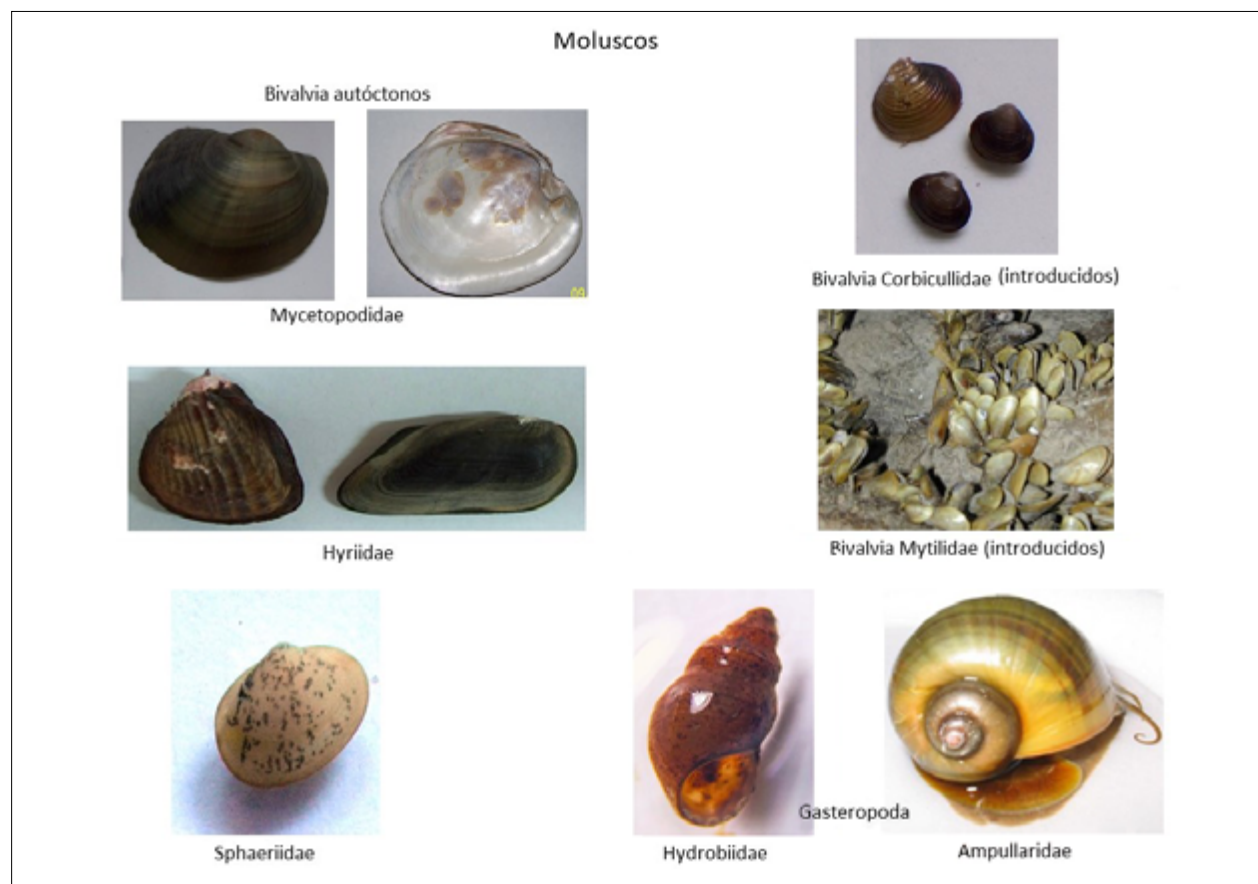


Figura 4: Grupos de órdenes y familias más comunes (moluscos).

se han realizado análisis de calidad de ribera aplicando el índice QBR (Munné *et al.* 1998) en arroyos pampeanos de Santa Fe (Capeletti *et al.* inédito). Al respecto, es importante realizar un análisis de la calidad de riberas de los ríos a los efectos de tener una evaluación integrada del sistema (Índices de Calidad de Ribera, Anexo Pampa y Anexo Centro) donde se explican los distintos índices de evaluación de calidad de riberas y hábitats).

IBF (Índice Biótico de Familia)

Se utiliza para evaluar la contaminación orgánica (Tabla 1). Se calcula por el promedio de los valores de tolerancia de todas las familias de artrópodos en una muestra (Tabla 2).

Diseño de muestreo: Cualitativo. Se recolectan las muestras en mesohábitats con corriente considerando la presencia de microhábitats que podrían habitar los artrópodos. En caso de haber poca corriente se recomienda recolectar en dónde hubiera necromasa o troncos.

Recolección de muestras: (versión original) Con red D. Los artrópodos recolectados se colocan en bandejas blancas con poca agua. Se recolectan hasta 100 artrópodos que puedan ser identificados a simple vista. Se preparan cerca de 8 recipientes (placas) con etanol 70% para colocar los artrópodos de cada uno de los órdenes o familias comunes.

Los artrópodos se identifican con lupa de mano y cuentan en campo.

Nivel de identificación: Familia.

Cálculo: Se multiplica la abundancia de cada familia por los valores de tolerancia de la Familia (Tabla 2). Se suman los productos y se dividen por 100 (total de artrópodos en la muestra).

Fórmula: $FBI = \frac{\sum (Abundancia\ Familia * tolerancia\ Familia)}{100}$

Ejemplo:

	Abundancia	Valor de tolerancia	Abundancia *tolerancia	
Chloroperlidae	50	1	50	
Baetiscidae	20	3	60	
Ephemeridae	30	4	120	
Total	100	Σ	230	
		FBI	2.3	Excelente

Índice Biótico de Familia	Calidad del agua
0.00 - 3.75	Excelente
3.76 - 4.25	Muy buena
4.26 - 5.00	Buena
5.01 - 5.75	Regular
5.76 - 6.50	Muy regular
6.51 - 7.25	Mala
7.26 - 10.00	Muy mala

Tabla 1: Evaluación de calidad de agua usando el IBF (Índice Biótico de la Familia) para contaminación orgánica

PLECOPTERA	Familia	Valor
	Capniidae	1
	Nemouridae	2
	Pteronarcyidae	0
	Chloroperlidae	1

PLECOPTERA	Familia	Valor
	Perlidae	1
	Taeniopterygidae	2
	Leuctridae	0
	Perlodidae	2

EPHEMEROPTERA	Baetidae	4
	Ephemerelellidae	1
	Leptophlebiidae	2
	Oligoneuriidae	2
	Siphonuridae	7
	Baetiscidae	3
	Ephemeridae	4
	Metreopodidae	2
	Polymitarcyidae	2
	Tricorythidae	4
	Caenidae	7
	Heptageniidae	4
	Potomanthidae	4
	ODONATA	Aeshnidae
Cordulegastridae		3
Gomphidae		1
Calopterygidae		5
Corduliidae		5
Lestidae		9
Coenagrionidae		9
Libellulidae		9
Macromiidae		3
TRICHOPTERA		Brachycentridae
	Helicopsychidae	3
	Lepidostomatidae	1
	Limnephilidae	4
	Philopotamidae	3
	Psychomyiidae	2
	Glossosomatidae	0
	Hydropsychidae	4
	Leptoceridae	4
	Molannidae	6
	Phryganeidae	4
	Rhyacophilidae	0
	Hydroptilidae	4
	Odontoceridae	0
Polycentropodidae	6	
Sericostomatidae	3	

MEGALOPTERA	Corydalidae	0
	Sialidae	4
LEPIDOPTERA	Pyralidae	5
COLEOPTERA	Dryopidae	5
	Elmidae	4
	Psephenidae	4
DIPTERA	Athericidae	2
	Chironomidae (Chironomini) rojos	8
	Dolochopodidae	4
	Simuliidae	6
	Tabanidae	6
	Blephariceridae	0
	Otros (incluyendo Chironomidae rosados)	6
	Empididae	6
	Muscidae	6
	Tipulidae	3
	Ceratopogonidae	6
	Ephydriidae	6
	Syrphidae	10
	Psychodidae	10
AMPHIPODA	Gammaridae	4
	Talitridae	8
ISOPODA	Asellidae	8

Tabla 2: Valores de tolerancia de las Familias de artrópodos en los arroyos de la zona de los Grandes Lagos orientales (EEUU)

Hilsenhoff, W. 1988 Rapid Field Assessment of Organic Pollution with a Family Level Biotic Index. Journal of the North American Benthological Society 7: 65-68.

Signal 2

Fue diseñado para responder a las variaciones más comunes de la calidad de agua como enriquecimiento de nutrientes, salinización. Sitios con contaminación de tipo inusual (como derivadas de la minería) pueden continuar teniendo scores altos.

Diseño de muestreo: Se toman muestras en diferentes sitios de estudio para comparar los efectos en condiciones de diferentes usos de suelo. Semi-cuantitativo.

Recolección de muestras: Se muestrean todos los meso y microhábitats presentes.

- En cada área se colecta una muestra con red D, por lo menos 3 minutos por 10 m.
- Las muestras se colectan en bandejas grandes.
- Se colectan por lo menos 100 macroinvertebrados por área como mínimo (preferentemente entre 150-200) tratando de encontrar todos los tipos posibles. Se guardan los invertebrados de cada sitio por separado.

Nivel de Identificación

1. Familia
2. Orden-Clase-Phylum

Se debería calcular respetando siempre uno u otro nivel.

Cálculo

Nivel de tolerancia/sensibilidad de los taxones: 1 (más tolerante) - 10 (más sensible) (Tabla 1).

Se puede usar o no la abundancia para ponderar los taxones. Existen diferentes tipos de ponderación. En el original se usa y presenta la de New South Wales Streamwatch 'Water Bug Survey' (Tabla 2).

Se calcula para cada sitio a comparar separadamente.

Ejemplo de cálculo con ponderación utilizando Orden-Clase-Phyla

Tabla de Ponderación	
Número de especímenes	Factor de peso
1 a 2	1
3 a 5	2
6 a 10	3
11 a 20	4
>20	5

Tabla de cálculos				
Orden, Clase y Phyla de Invertebrados colectados en cada sitio	Grado de sensibilidad	Número de especímenes	Factor de peso	Grado x factor de peso
Acarina	6	10	3	18
Coleoptera	5	5	2	10
Decapoda	4	1	1	4
Diptera	3	35	5	15
Ephemeroptera	9	8	3	27

- Cálculo sin ponderación
 3. Se obtiene la lista de macroinvertebrados a uno de los dos niveles de identificación.
 4. Se asigna el grado para cada taxón. Si se encuentra algún taxón para el que no existe asignado el grado, se debe eliminar de la lista.
 5. Se calcula el valor de SIGNAL 2 promediando los niveles.
- Cálculo con ponderación
 1. Se obtiene la lista de macroinvertebrados a uno de los dos niveles de identificación.
 2. Se asigna el nivel para cada taxón. Si se encuentra algún taxón para el que no existe asignado el grado, se debe eliminar de la lista.
 3. En caso de emplear la abundancia de los taxones (ponderación de los taxones), se asigna la ponderación a cada uno de ellos.
 4. Se multiplica el nivel de tolerancia o sensibilidad por el peso
 5. Se suman los pesos de todos los taxones.
 6. Se suman los productos obtenidos en el paso 4.
 7. El valor obtenido en el paso 6 es dividido por el obtenido en el 5. Se obtiene el valor de SIGNAL2 ponderado.

Tabla de cálculos				
Orden, Clase y Phyla de Invertebrados colectados en cada sitio	Grado de sensibilidad	Número de especímenes	Factor de peso	Grado x factor de peso
Hemiptera	2	17	4	8
Nemertea	3	2	1	3
Odonata	3	3	2	6
Oligochaeta	2	8	3	6
Plecoptera	10	12	4	40
Trichoptera	8	22	5	40
Turbellaria	2	4	2	4
Total			35	181

Puntaje Signal = Total de grado x Factor de peso/ Total de factor de peso = 181/35=5.2

Ejemplo de cálculo de puntaje con Signal 2 utilizando Orden-Clase-Phyla

Tabla de Ponderación	
Número de especímenes	Factor de peso
1 a 2	1
3 a 5	2
6 a 10	3
11 a 20	4
>20	5

Tabla de cálculos				
Orden, Clase y Phyla de Invertebrados colectados en cada sitio	Grado de sensibilidad	Número de especímenes	Factor de peso	Grado x factor de peso
Acarina	6	10	3	18
Coleoptera	5	5	2	10
Decapoda	4	1	1	4
Diptera	3	35	5	15
Ephemeroptera	9	8	3	27
Hemiptera	2	17	4	8
Nemertea	3	2	1	3
Odonata	3	3	2	6
Oligochaeta	2	8	3	6
Plecoptera	10	12	4	40
Trichoptera	8	22	5	40
Turbellaria	2	4	2	4
Total			35	181

Puntaje Signal = Total de grado x Factor de peso/ Total de factor de peso = 181/35=5.2

Interpretación de gráficos

1-Para interpretarlos, se grafican los valores SIGNAL2 obtenidos (eje de las y) en relación al número de taxones (eje de las x) para cada sitio. Puntaje Signal = Total de grado x Factor de peso/ Total de factor de peso = 177/48=3.7

2- En el biplot se determinan 4 cuadrantes. Los bordes de cada cuadrante varían en función de la eco-región, el método de muestreo y el tipo de hábitat.

3-Los bordes se ubican encerrando los puntos correspondientes a los sitios en el área de referencia o menor impacto (ver ejemplo). Esto define los cuadrantes.

Cuadrante 1: Altos valores de SIGNAL 2 y número de taxones. La alta riqueza de taxones sugiere que hay diversidad de hábitats, que los factores estresantes como tóxicos o factores estresantes físicos no están presentes. Los altos valores de SIGNAL 2 sugieren que la turbidez, salinidad y concentración de nutrientes son bajas.

Cuadrante 2: Bajos valores del SIGNAL 2 y alta riqueza de taxones. Posiblemente mayores valores de turbidez, salinidad o nutrientes que los del cuadrante 1. Puede que sea por condiciones naturales, por la geología local y tipos de suelo, o como resultado de actividades antrópicas. La alta riqueza sugiere que las condiciones del hábitat físico se mantienen y que los tóxicos no están presentes en grandes cantidades.

Cuadrante 3: Altos valores de SIGNAL 2, pero bajos de riqueza de macroinvertebrados. Puede indicar contaminación por tóxicos, disminuciones de pH o la presencia de sustratos homogéneos como es el caso de ambientes con condiciones físicas extremas o cuando el ambiente fue simplificado antrópicamente. Puede, incluso, deberse a submuestreo de meso y microhábitats.

Cuadrante 4: Bajos valores de SIGNAL 2 y baja riqueza. Estos sitios presentan los efectos de al menos 1 tipo de impacto antrópico.

Límites entre cuadrantes varían con áreas geográficas, métodos de muestreo y tipo de hábitats



Número de familias de macroinvertebrados

Diagrama de cuadrantes para las familias de macroinvertebrados para la aplicación de Signal 2.

Tomado de Chessman (2003)

Acarina	6	Conchostraca	1	Isopoda	2	Odonata	3
Amphipoda	3	Decapoda	4	Lepidoptera	2	Oligochaeta	2
Anaspidacea	6	Diplopoda	4	Mecoptera	10	Plecoptera	10
Anostraca	1	Diptera	3	Megaloptera	8	Polychaeta	1
Bivalvia	3	Ephemeroptera	9	Nematoda	3	Porifera	4
Branchiura	1	Gastropoda	1	Nemertea	3	Trichoptera	8
Bryozoa	4	Hemiptera	2	Neuroptera	6	Turbellaria	2
Coleoptera	5	Hirudinea	1	Nematomorpha	6		
Collembola	1	Hydrozoa	1	Notostraca	1		
b) Nivel de tolerancia/sensibilidad a nivel de Familia							
Acarina	Arrenuridae		8				
Acarina	Aturidae		8				
Acarina	Eylaidae		5				
Acarina	Hydrachnidae		7				
Acarina	Hydrodromidae		8				
Acarina	Hydryphantidae		8				
Acarina	Hygrobatidae		8				
Acarina	Limnesiidae		7				
Acarina	Limnocharidae		10				
Acarina	Mideopsidae		4				
Acarina	Momoniidae		10				
Acarina	Notodromadidae		1				
Acarina	Oxidae		8				
Acarina	Pionidae		5				
Acarina	Torrenticolidae		10				
Acarina	Unionicolidae		8				
Amphipoda	Ceinidae		2				
Amphipoda	Corophiidae		4				
Amphipoda	Eusiridae		7				
Amphipoda	Melitidae		7				
Amphipoda	Neoniphargidae		4				
Amphipoda	Paracalliopidae		3				
Amphipoda	Paramelitidae		4				
Amphipoda	Perthiidae		4				
Amphipoda	Talitridae		3				
Anaspidacea	Koonungidae		1				
Anostraca	Branchiopodidae		1				
Bivalvia	Corbiculidae		4				



Bivalvia	Hyriidae		5				
Bivalvia	Sphaeriidae		5				
Coleoptera	Brentidae		3				
Coleoptera	Carabidae		3				
Coleoptera	Chrysomelidae		2				
Coleoptera	Curculionidae		2				
Coleoptera	Dytiscidae		2				
Coleoptera	Elmidae		7				
Coleoptera	Gyrinidae		4				
Coleoptera	Haliplidae		2				
Coleoptera	Heteroceridae		1				
Coleoptera	Hydraenidae		3				
Coleoptera	Hydrochidae		4				
Coleoptera	Hydrophilidae		2				
Coleoptera	Hygrobiidae		1				
Coleoptera	Limnichidae		4				
Coleoptera	Microsporidae		7				
Coleoptera	Noteridae		4				
Coleoptera	Psephenidae		6				
Coleoptera	Ptiliidae		3				
Coleoptera	Ptilodactylidae		10				
Coleoptera	Scirtidae		6				
Coleoptera	Staphylinidae		3				
Decapoda	Atyidae		3				
Decapoda	Grapsidae		7				
Decapoda	Hymenosomatidae		3				
Decapoda	Palaemonidae		4				
Decapoda	Parastacidae		4				
Decapoda	Sundatelphusidae		3				
Diplopoda	Siphonotidae		6				
Diptera	Aphroteniinae		8				
Diptera	Athericidae		8				
Diptera	Blephariceridae		10				
Diptera	Cecidomyidae		1				
Diptera	Ceratopogonidae		4				
Diptera	Chaoboridae		2				
Diptera	Chironominae		3				
Diptera	Culicidae		1				
Diptera	Diamesinae		6				



Diptera	Dixidae	7				
Diptera	Dolichopodidae	3				
Diptera	Empididae	5				
Diptera	Ephydriidae	2				
Diptera	Muscidae	1				
Diptera	Orthoclaadiinae	4				
Diptera	Pelecorhynchidae	10				
Diptera	Podonominae	6				
Diptera	Psychodidae	3				
Diptera	Scatopsidae	1				
Diptera	Sciaridae	6				
Diptera	Sciomyzidae	2				
Diptera	Simuliidae	5				
Diptera	Stratiomyidae	2				
Diptera	Syrphidae	2				
Diptera	Tabanidae	3				
Diptera	Tanyderidae	6				
Diptera	Tanypodinae	4				
Diptera	Thaumaleidae	7				
Diptera	Tipulidae	5				
Ephemeroptera	Ameletopsidae	7				
Ephemeroptera	Baetidae	5				
Ephemeroptera	Caenidae	4				
Ephemeroptera	Coloburiscidae	8				
Ephemeroptera	Leptophlebiidae	8				
Ephemeroptera	Oniscigastridae	8				
Ephemeroptera	Prosopistomatidae	4				
Ephemeroptera	Siphonuridae	10				
Ephemeroptera	Teloganodidae	9				
Gastropoda	Ancylidae	4				
Gastropoda	Bithyniidae	3				
Gastropoda	Glacidorbidae	5				
Gastropoda	Hydrobiidae	4				
Gastropoda	Lymnaeidae	1				
Gastropoda	Physidae	1				
Gastropoda	Planorbidae	2				
Gastropoda	Pomatiopsidae	1				
Gastropoda	Thiaridae	4				
Gastropoda	Viviparidae	4				



Hemiptera	Belostomatidae	1				
Hemiptera	Corixidae	2				
Hemiptera	Gelastocoridae	5				
Hemiptera	Gerridae	4				
Hemiptera	Hebridae	3				
Hemiptera	Hydrometridae	3				
Hemiptera	Mesoveliidae	2				
Hemiptera	Naucoridae	2				
Hemiptera	Nepidae	3				
Hemiptera	Notonectidae	1				
Hemiptera	Ochteridae	2				
Hemiptera	Pleidae	2				
Hemiptera	Saldidae	1				
Hemiptera	Veliidae	3				
Hirudinea	Erpobdellidae	1				
Hirudinea	Glossiphoniidae	1				
Hirudinea	Ornithobdellidae	1				
Hirudinea	Richardsonianidae	4				
Hydrozoa	Clavidae	3				
Hydrozoa	Hydridae	2				
Isopoda	Amphisopidae	1				
Isopoda	Cirolanidae	2				
Isopoda	Janiridae	3				
Isopoda	Mesamphisopidae	3				
Isopoda	Oniscidae	2				
Isopoda	Phreatoicidae	4				
Isopoda	Phreatoicopsidae	2				
Isopoda	Sphaeromatidae	1				
Lepidoptera	Pyralidae	3				
Mecoptera	Nannochoristidae	9				
Megaloptera	Corydalidae	7				
Megaloptera	Sialidae	5				
Nemertea	Tetrastemmatidae	7				
Neuroptera	Neurorthidae	9				
Neuroptera	Osmylidae	7				
Neuroptera	Sisyridae	3				
Nematomorpha	Gordiidae	5				
Notostraca	Triopsidae	1				
Odonata	Aeshnidae	4				



Odonata	Austrocorduliidae	10				
Odonata	Coenagrionidae	2				
Odonata	Cordulephyidae	5				
Odonata	Corduliidae	5				
Odonata	Diphlebiidae	6				
Odonata	Gomphidae	5				
Odonata	Hemicorduliidae	5				
Odonata	Hypolestidae	9				
Odonata	Isostictidae	3				
Odonata	Lestidae	1				
Odonata	Libellulidae	4				
Odonata	Lindeniidae	3				
Odonata	Macromiidae	8				
Odonata	Megapodagrionidae	5				
Odonata	Protoneuridae	4				
Odonata	Synlestidae	7				
Odonata	Synthemistidae	2				
Odonata	Telephlebiidae	9				
Odonata	Urothemistidae	1				
Oligochaeta	Enchytraeidae	4				
Oligochaeta	Lumbriculidae	3				
Oligochaeta	Naididae	5				
Oligochaeta	Phreodrilidae	4				
Oligochaeta	Tubificidae	3				
Plecoptera	Austroperlidae	10				
Plecoptera	Eustheniidae	10				
Plecoptera	Gripopterygidae	8				
Plecoptera	Notonemouridae	6				
Porifera	Spongillidae	3				
Trichoptera	Antipodoeciidae	8				
Trichoptera	Atriplectididae	7				
Trichoptera	Calamoceratidae	7				
Trichoptera	Calocidae	9				
Trichoptera	Conoesucidae	7				
Trichoptera	Dipseudopsidae	9				
Trichoptera	Ecnomidae	4				
Trichoptera	Glossosomatidae	9				
Trichoptera	Helicophidae	10				
Trichoptera	Helicopsychidae	8				

Trichoptera	Hydrobiosidae	8				
Trichoptera	Hydropsychidae	6				
Trichoptera	Hydroptilidae	4				
Trichoptera	Kokiriidae	3				
Trichoptera	Leptoceridae	6				
Trichoptera	Limnephilidae	8				
Trichoptera	Odontoceridae	7				
Trichoptera	Oeconesidae	8				
Trichoptera	Philopotamidae	8				
Trichoptera	Philorheithridae	8				
Trichoptera	Polycentropodidae	7				
Trichoptera	Tasimiidae	8				
Turbellaria	Dugesidae	2				
Turbellaria	Temnocephala	5				

Tabla 3: Nivel de tolerancia/sensibilidad a nivel de Orden-Clase-Phylum (Chessman, 2003)

Región Cuyo

Angélica Gil, Liliana Elizabeth Moreno, Jorgelina Daruich, Gustavo Bustamante, Erica Scheibler y Néstor Ciocco.

Los ríos y arroyos de la provincia de Mendoza poseen dos periodos hidrológicos bien marcados por el incremento del caudal hacia la primavera y el verano, producto del deshielo. El origen de los ríos de montaña de la provincia es principalmente nival y, en menor medida, glacial. En consecuencia, las estaciones climáticas de otoño e invierno (período de aguas bajas o de menor caudal) son las indicadas para realizar el monitoreo y conocer la estructura comunitaria de los macroinvertebrados bentónicos, ya que presentan mayor biodiversidad. Durante el periodo de aguas altas, comprendido en los meses de primavera-verano, la densidad de los invertebrados disminuye, principalmente en los ríos de tamaño grande (caudal aproximado: 120-60 m³s⁻¹ durante el verano, caudal mínimo apro-

ximado 20-8 m³s⁻¹ durante otoño invierno; orden de Strahler: 4-5) y mediano (caudal máximo: 15-6 m³s⁻¹, caudal mínimo aproximado: 4-2 m³s⁻¹; orden de Strahler: 2-3). En arroyos de pequeño tamaño (orden de Strahler: 1-2; caudal máximo aproximado 7-2 m³s⁻¹ durante el verano, caudal mínimo aproximado: 0.2-2 m³s⁻¹ durante el otoño invierno), si bien se produce una disminución en la abundancia de los invertebrados, las diferencias entre estaciones climáticas no son tan significativas como en los ríos de mayor tamaño (Fig. 1a).

Los ríos de la provincia de San Luis se caracterizan por presentar dos estaciones hidrológicas bien marcadas denominadas aguas altas y aguas bajas; denominaciones que responden a los periodos de lluvias y de sequías, respectivamente. El período de aguas altas queda comprendido entre los meses de primavera-verano y, el período de aguas bajas, entre los meses de otoño-invierno. Estos datos son muy importantes porque los ciclos biológicos y, por tanto, las densidades poblacionales de los ejemplares, varían.

En las fotos se muestran ejemplos de ríos de Mendoza con distinto grado de artificialización.



a) Río Malargüe: (Foto: Gustavo Bustamante)



b) Dique Potrerillos: (Foto: Olivia Moreno)



c) Río Tunuyán: (Foto: Liliana Moreno)

Es común que, posteriormente a una lluvia torrencial (alrededor de los 400 mm), se produzcan grandes crecidas que arrastren el sustrato y la fauna de los ríos; por lo tanto, es aconsejable esperar por lo menos 15 días para la toma de muestras. En los ríos temporales, es muy importante adecuar el momento del muestreo a condiciones hidrológicas adecuadas que garanticen la existencia de un flujo de agua continuo. Los ríos de la provincia se ubican entre el orden 1 y 4.

Los ríos de esta región son mayoritariamente pequeños y se los denomina habitualmente como "arroyos serranos". Prácticamente en su totalidad se encuentran regulados para el aprovechamiento del agua para usos humano y agrícola. Los caudales son bajos con un promedio de 0,20 y 1,5 m³s⁻¹ (Fig.1b).

Para caracterizar el ambiente, lo ideal es abarcar completamente los distintos ambientes o hábitats puesto que, al tener diferente hidrología, albergan a diferentes organismos y se los puede considerar

como zonas de depósito y deriva. En tramos de mayor velocidad del agua, debido a la mayor pendiente, es común encontrar pozones o remansos donde la velocidad es menor y el tamaño del sustrato suele ser arenoso o limoso y, otros tramos, denominados correderas, rabiones o rápidos donde la velocidad es mayor, la profundidad menor y el sustrato es más grande, como de guijarros a rocas grandes.

Antes de comenzar, hay que familiarizarse con el índice que se aplicará para poder organizar los muestreos y saber exactamente qué tipo de observaciones se deben realizar. Esto ahorrará tiempo y esfuerzo, ya que se contará con todos los elementos necesarios para lograr los objetivos.

Dividimos a la región Cuyo en dos regiones. Una, en la provincia de Mendoza, correspondiente a las mayores pendientes con alturas entre 2800 msnm, se denomina zona de Cordillera Central y Frontal (zona cordillerana): 1000 msnm piedemonte, 600 m el llano, donde hasta ahora se han

Ríos de San Luis con distinto grado de intervención humana



a) Arroyo Los Molles: (Foto: Liliana Moreno)



b) Río San Luis: (Foto Matías Argüello)



c) Dique la Florida: (Foto David Nicola)



d) Río Nogolí: (Foto Carlos Quiroga)

empleado los índices **BMWP** y **ASPT** así como **EPT** y **%DF**. La otra, la denominaremos región serrana (en la provincia de San Luis) con pendientes menores, con alturas entre 900 y 600 msnm, donde se ha aplicado el Índice Biótico de las Sierras de San Luis (**IBSSL**) (Vallania *et al.* 1996). Para la evaluación de calidad de ambientes acuáticos urbanos se utilizaron, recientemente, indicadores múltiples (Calderon *et al.*, 2014) y, para ambientes salinos, se aplicaron índices de macroinvertebrados (Colombetti *et al.*, 2020).

IBSSL (Índice Biótico de las Sierras de San Luis): Índice propuesto por Vallania *et al.* (1996) para la

región. Este índice se calcula sumando las puntuaciones asignadas a los distintos taxones o familias de macroinvertebrados encontradas en las muestras. Las familias que se han podido identificar se registran y se les asigna el puntaje que reciben según el índice en función del grado de sensibilidad a la contaminación (ver cuadro 1). Al final, se suman todos los puntajes (una única vez por familia independientemente de la cantidad de individuos o diferentes especies o géneros encontrados) y, según el resultado, se compara con la tabla de valores para obtener un juicio de calidad del agua del río donde se realizó el muestreo (Tabla 1).

Grupo taxonómico		N° total de unidades sistemáticas presentes (U.S.)							
		0-1	2-5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-30	31-35
		Índices Bióticos							
Plecópteros y Efemerópteros	+ de una U. S.	-	7	8	9	10	11	12	13
	Sólo una U. S.	-	6	7	8	9	10	11	13
Tricópteros	+ de una U. S.	-	6	7	8	9	10	11	12
	Sólo una U. S.	-	5	6	7	8	9	10	11
Odonato o Coleóptera ó Simúlidos	Las U. S. anteriores ausentes	-	4	5	6	7	8	9	10
Moluscos o Crustáceos	Las U. S. anteriores ausentes	-	3	4	5	6	7	-	-
Oligoquetos o Quironómidos	Las U. S. anteriores ausentes	1	2	3	4	5	-	-	-
Todas las unidades anteriores ausentes		0	1	2	3	-	-	-	-

Cuadro 1: Listado de taxones considerados y el puntaje asignado para el Índice Biótico de las Sierras de San Luis (IBSSL).

Clase de calidad	Valores del Índice Biótico	Juicio	Color de Referencia
Clase I	10-11-12	Ambiente no contaminado	
Clase II	8-9	Ambiente poco contaminado	
Clase III	6-7	Ambiente contaminado	
Clase IV	4-5	Ambiente muy contaminado	
Clase V	1-2-3	Ambiente fuertemente contaminado	

Tabla 1: Clase de calidad del agua según los valores del Índice Biótico de las Sierras de San Luis (IBSSL).

Región Centro

Romina Elizabeth Príncipe, Javier Andrés Márquez, y Victoria Montilla

En este capítulo, se proponen procedimientos para la valoración de la calidad de sistemas fluviales serranos y de llanura de la provincia de Córdoba (Fig. 1). La valoración de la calidad en estos sistemas puede realizarse mediante la aplicación del Índice Biótico Carcarañá (IBC, Gualdoni y Corigliano, 1991). El índice BMWP ajustado localmente también puede aplicarse en arroyos serranos.

a. Muestreo

Los muestreos serán semicuantitativos estandarizando el esfuerzo de muestreo por tiempo en arroyos serranos y ríos de llanura con distinto grado de antropización, desde condiciones prístinas o naturales hasta sistemas altamente intervenidos.

b. Aplicación de índices

a) Realizar la identificación de los invertebrados utilizando la clave pictórica incluida. Se debe recurrir también a claves especializadas (Lopretto & Tell, 1995, Domínguez y Fernández 2009) para la identificación de familias y géneros según corresponda.

- b) Si se aplica solamente el índice BMWP identificar los invertebrados a nivel de familia. Si se aplica el índice IBC verificar el límite taxonómico de identificación requerido para cada orden. (Ver Tabla1).
- c) Anotar en una planilla los taxones identificados.
 - Con la planilla de identificación proceder al cálculo de los índices. Para ello, armar una planilla de Excel en la cual se incluyan los sitios en las columnas y los taxones en las filas.
 - Si se aplicará solamente el índice IBC, en cada celda marcar con una x los taxones identificados en cada sitio.
 - Si se aplicará el índice BMWP (disponible solo para arroyos serranos), en cada celda se coloca el puntaje de cada familia.
 - Nótese que cuando completa la planilla de Excel con los puntajes de familia para aplicar BMWP, puede aplicar también el índice IBC.



Figura 1: Sistemas fluviales de la provincia de Córdoba. a. arroyos serranos de primer orden (Villa Alpina); b. arroyo serrano de tercer orden (Alpa Corral); c. río de llanura de lecho arenoso (Río Cuarto); d. río de llanura de lecho limoso (Alejandro Roca).

Índice Biótico Carcarañá (IBC): El IBC fue propuesto por Gualdoni & Corigliano (1991) y es una herramienta idónea de evaluación de la calidad de arroyos serranos y ríos de llanura del sur de Córdoba. Este índice es válido en tramos de impacto ambiental severo y no tiene el alcance para evaluar el efecto post-embalse, los impactos orgánicos no severos y otras perturbaciones leves (Corigliano 1999). El IBC requiere que la identificación de los macroinvertebrados esté definida por el límite taxonómico de familia o género (Tabla 1).

A partir de la identificación realizada, utilizar la tabla estándar de doble entrada correspondiente a arroyos serranos (Tabla 2) o ríos de llanura (Tabla 3) según corresponda, para obtener el valor del índice IBC.

- Seleccionar una de las filas en función de la presencia de uno o más taxones (unidades sistemáticas US) de cada grupo faunístico registrados en la muestra. Ejemplo: si en la muestra no se registraron efemerópteros ni plecópodos y se registró una sola familia de tricópteros, seleccionar la 4ta fila de la tabla.
- Luego moverse por esa fila y buscar la columna que corresponda de acuerdo a la cantidad total de taxones (unidades sistemáticas US) registrados en la muestra. Se obtiene así el valor del índice.
- Convertir el valor del índice en un juicio de calidad con la Tabla 4.

Índice BMWP (Biological Monitoring Working Party) - Aplicable solo en arroyos serranos: El BMWP fue propuesto originalmente por Armitage *et al.* (1983) y es muy utilizado a nivel mundial para el monitoreo de las alteraciones de los ríos por su fácil aplicación al requerir identificaciones sólo hasta nivel de familias y datos cualitativos. En el caso de nuestra región, el puntaje asignado a cada una de las familias de invertebrados está ajustado, hasta el momento, solamente para arroyos serranos (Tabla 5 y 6).

- Colocar el puntaje asignado a cada una de las familias identificadas en la muestra (el puntaje va de 1 a 10 de acuerdo con la tolerancia de los diferentes grupos a la contaminación orgánica).
- Sumar las puntuaciones de cada familia. A partir de esta sumatoria se obtiene un puntaje que permite emitir un juicio de calidad del agua para cada uno de los sitios muestreados (Tabla 6).

Grupo faunístico	Límite de identificación
Plecóptera	Género
Ephemeroptera	Género
Trichoptera	Familia
Odonata	Género
Coleóptera	Familia
Molusca	Género
Crustacea	Familia
Heteróptera	Género
Diptera	Familia
Dugesiiidae	Familia
Hirudinea	Género
Oligochaeta	Familia
Otros Grupos raros	
Acariformes	Presencia
Nematoda	Presencia
Nematomorpha	Presencia
Tardígrada	Presencia
Lepidóptera	Presencia

Tabla 1: Límite de identificación requerido para cada grupo faunístico para el cálculo del Índice Biótico Carcarañá (IBC).

Grupos faunísticos		Nº total de unidades sistemáticas presentes							
		0-1	2-5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-30	31-...
		Índices bióticos							
Plecópteros o Ephemeropteros	+ de una U.S.	-	-	8	9	10	11	12	13
	Solo una U.S.	-	-	7	8	9	10	11	12
Tricópteros	+ de una U.S.	-	6	7	8	9	10	11	12
	Solo una U.S.	-	5	6	7	8	9	10	11
Ancílidos o Simúlidos	Las U.S. anteriores ausentes	-	4	5	6	7	8	9	-
Otros Moluscos u Odonatos o Coleópteros	Las U.S. anteriores ausentes	-	3	4	5	6	7	-	-
Oligochaetas o quironómidos	Las U.S. anteriores ausentes	1	2	3	4	5	-	-	-
Todas las U.S. anteriores ausentes		0	1	2	3	-	-	-	-

Tabla 2: Cálculo de los valores del Índice Biótico Carcarañá (IBC) para arroyos serranos.

Grupos faunísticos		Nº total de unidades sistemáticas presentes							
		0-1	2-5	6-10	11-15	16-20	21-25	26	
		Índices bióticos							
Plecópteros o Ephemeropteros	+ de una U.S.	-	-	9	10	11	12	13	
	Solo una U.S.	-	-	8	9	10	11	12	
Tricópteros	+ de una U.S.	-	7	8	9	10	11	12	
	Solo una U.S.	-	6	7	8	9	10	-	
Odonata o Mollusca	Las U.S. anteriores ausentes	-	5	6	7	8	-	-	
Coleoptera o Crustacea	Las U.S. anteriores ausentes	-	4	5	6	7	-	-	
Oligochaetas o Chironomidae	Las U.S. anteriores ausentes	2	3	4	5	-	-	-	
Todas las U.S. anteriores ausentes		2	3	-	-	-	-	-	

Tabla 3: Cálculo de los valores del Índice Biótico Carcarañá (IBC) para ríos de llanura.

Clase de calidad	Valores del Índice biótico	Juicio	Color de referencia
I (Buena)	10-11-12...	Ambiente no contaminado	Azul
II (Aceptable)	8-9	Ambiente poco contaminado	Verde
III (Dudosa)	6-7	Ambiente contaminado	Amarrillo
IV (Crítica)	4-5	Ambiente muy contaminado	Anaranjado
V (Peligrosa)	1-2-3	Ambiente fuertemente contaminado	Rojo

Tabla 4: Conversión de valores del Índice Biótico Carcarañá en clase y juicio de calidad.

	Familia	Puntuación		Familia	Puntuación
Annelida	Lumbriculidae	1	Hemiptera	Hebridae	3
	Lumbricidae	1		Naucoridae	3
	Tubificidae	1		Notonectidae	3
	Naididae	1		Corixidae	3
	Hirudidae	3		Mesoveliidae	3
	Glossiphoniidae	3		Hydrometridae	3
	Semiscolocidae	3		Belostomatidae	3
	Macrobdellidae	3		Gelastocoridae	7
Mollusca	Planorbidae	3	Odonata	Coenagrionidae	6
	Ancylidae	5		Lestidae	6
	Physidae	3		Aeshnidae	6
	Lymnaeidae	3		Gomphidae	7
	Hydrobiidae	3		Libelulidae	6
	Sphaeriidae	3	Lepidoptera	Crambidae	4
	Mycetopodidae	3	Coleoptera	Elmidae	5
	Hyriidae	4		Hydrophilidae	3
	Chiliniidae	6		Dytiscidae	3
Plathelminthes	Dugesidae	5		Gynidae	3
Nematoda	Nematoda	1		Dryopidae	5
Acari	Hydracarina	4		Haliplidae	4
Crustacea	Hyalellidae	6		Staphylinidae	3
	Aeglidae	5		Lutrochidae	6
Ephemeroptera	Baetidae	6		Scirtidae	5
	Caenidae	4		Blephariceridae	10
Trichoptera	Leptohyphidae	7	Diptera	Chironomidae	2
	Leptophlebiidae	10		Tabaniidae	4
	Coloborusidae	8		Stratiomyidae	4
	Philopotamidae	8		Psychodidae	4
	Hydropsychidae	5		Dixidae	4
	Polycentropodidae	7		Empididae	4
	Hydroptilidae	7		Muscidae	2
	Helicopsychidae	8		Simuliidae	5
	Leptoceridae	10		Ceratopogonidae	4
	Calamoceratidae	10		Tipulidae	5

	Familia	Puntuación		Familia	Puntuación
Trichoptera	Glossosomatidae	8	Diptera	Ephhyridae	2
	Odontoceridae	10		Culicidae	2
	Hydrobiosidae	8			
	Limnephilidae	7			
Plecoptera	Perlidae	10			

Tabla 5: Puntuación asignada a las familias de macroinvertebrados acuáticos para la obtención del Biological Monitoring Working Party (BMWP).

BMWP	Juicio	Calidad	Clase	Color
> 100	Aguas muy limpias	Muy buena	5	Azul
61-100	Aguas con poca contaminación	Buena	4	Verde
36-60	Aguas contaminadas	Moderada	3	Amarrillo
16-35	Aguas muy contaminadas	Mala	2	Anaranjado
≤ 15	Aguas extremadamente contaminadas	Pésima	1	Rojo

Tabla 6: Juicio de calidad del agua basado en la sumatoria de puntajes de familias de invertebrados del índice BMWP.

Región Pampa

Alberto Rodrigues Capítulo, Laura Cecilia Armendáriz, Carolina Silvia Ocon

Los ríos y arroyos pampeanos están sometidos a una fuerte intervención antropogénica como consecuencia del intenso uso urbano y agropecuario del suelo. Esto ha conducido a que esta área del país, de gran relevancia desde el punto de vista socio-económico, esté expuesta a diferentes problemáticas ambientales que abarcan desde el enriquecimiento con materia orgánica y nutrientes, hasta la contaminación por desechos industriales y agropecuarios, algunos de carácter tóxico. Esto ha generado un progresivo deterioro de la calidad ecológica de sus redes hídricas, cuyo diagnóstico y monitoreo requieren del empleo de múltiples indicadores entre los que se deben considerar los vinculados a la biota.

En esta sección se abordará el desarrollo y aplicación de indicadores biológicos empleados para monitorear el estado ecológico de las cuencas pertenecientes a la ecorregión Pampa. Se trata de una zona en la cual se emplazan los principales conglomerados urbanos de la Argentina, entre ellos los correspondientes al área metropolitana, que abarca una superficie de 3.880 km² y alrededor de 12.800.000 habitantes (INDEC, 2010). Por otra parte, esta área reúne la mayor superficie del país sembrada, además de llevarse a cabo prácticas ganaderas extensivas e intensivas (*feedlots*). Esta situación, originada en las últimas décadas, ha generado la necesidad de que desde el ámbito científico se exploren y desarrollen distintos indicadores bióticos, para así poder contar e incorporar estas herramientas a la evaluación y monitoreo de los ríos y arroyos pampeanos de acuerdo con sus características limnológicas.

a. Los cursos de agua de la llanura

De acuerdo con la geomorfología y con las cuencas de drenaje, pueden reconocerse varias áreas hidrográficas (Frenguelli, 1956 y modificado por Ringuelet, 1962), además de los ríos alóctonos que atraviesan la región y otras áreas que carecen de ríos permanentes. Estos cursos de agua discurren por una superficie de escasa pendiente (1m/km), algunos meandrosos, otros semipermanentes, con una densidad de drenaje de ríos y arroyos de 0.16 km/km² (Sala *et al.*, 1998). Los cauces están compuestos por sedimentos finos, con abundantes detritos orgánicos; la velocidad de la corriente es baja y frecuentemente transportan agua con elevada turbiedad, nutrientes y conductividad. Estos cursos de agua en general están alimentados por lluvias, por vertientes y el aporte de las napas freáticas.

La escasa pendiente favorece el desarrollo de las macrófitas (plantas acuáticas), una característica distintiva de estos cursos de agua, a las que se reconoce como elementos claves en la estructuración de estos sistemas acuáticos. El paisaje pampeano solo se ve interrumpido por las elevaciones de las sierras del Sistema de Tandilia (650 msnm.) y Ventania (1.250 msnm.) donde los arroyos presentan un predominio de fondo pedregoso-arenoso, con escasa turbidez, mayor velocidad del flujo y una fauna de invertebrados reófila (adaptado a la corriente de agua).

La diversidad de comunidades acuáticas representadas en los arroyos pampeanos ha favorecido la posibilidad de explorar distintos indicadores biológicos permitiendo su empleo en la evaluación y monitoreo de algunos ecosistemas acuáticos con el ensamble de los invertebrados como uno de los más utilizados.

b. Procedimiento de muestreo

En los ambientes pampeanos, las dimensiones variadas de los sistemas lóticos hacen que la selección del tamaño de tramo también varíe. Por lo tanto, el tamaño standard de 100 m puede disminuir en función de la morfometría del ambiente. Al momento de seleccionar los sitios debe tenerse en cuenta los diferentes hábitats presentes, como ser las distintas granulometrías del sustrato (en nuestro caso, generalmente, sedimentos finos y limo-arcillosos, o pedregosos en arroyos serranos) o la presencia de macrófitas (teniendo en cuenta su cobertura y sus diferentes arquitecturas o tipos biológicos).

Para la ecorregión Pampa está muy extendido el uso de dragas para sedimentos blandos, como es el caso de la draga Ekman, útil para su uso desde pequeñas embarcaciones o bien modificada para uso con mango. Para ríos con mayor velocidad de corriente se utilizan las dragas Van Veen, Tamura o Dietz-Lafond. Para sedimentos duros en ambientes con mayor velocidad de corriente, como los arroyos serranos bonaerenses, se emplea la red Surber. También es común el uso de redes tipo D o de marco triangular o cuadrangular que se apoyan y arrastran por el sustrato.

c. Índices bióticos de aplicación en biomonitoreos de arroyos y ríos pampeanos

IBPAMP (Índice Biótico Pampeano): es un índice biótico que evalúa la calidad ambiental basado en la presencia de macroinvertebrados y sus sensibilidades diferenciales a la contaminación orgánica, desarrollado por Rodrigues Capítulo *et al.* (2001) para la zona. Consta de una tabla correspondiente a ambientes ritrónicos (montaña) (Tabla 1a) y otra a

ambientes potámicos (llanura) que se seleccionará en función de las características del sistema a estudiar (Tabla 1b). En dichas tablas se da un listado de taxa ordenados de arriba hacia abajo según su sensibilidad (en orden decreciente) y de izquierda a derecha se detalla el número de unidades taxonómicas acompañantes (desde 0 a más de 26).

Estas unidades taxonómicas (Tabla 2) están constituidas por los grupos de organismos registrados en la muestra que no correspondan a los mencionados en la primera columna. A la vez, en la primera columna puede seleccionarse si en la muestra existen sólo uno o más de los taxa para cada rango de sensibilidad. Así, si en la muestra existe 1 o más taxa correspondiente a una sensibilidad dada, se observa cuántas unidades taxonómicas lo acompañan y en el cuadro donde confluyen ambos datos se lee el valor, que será mayor cuantos más grupos acompañantes existan.

Los potenciales valores del índice se detallan en otra tabla donde se presentan cinco rangos de valores y colores correspondientes para las clases de calidad (Tabla 5).

IMRP (Índice de Macroinvertebrados para Ríos Pampeanos): para la aplicación de este índice se otorgó un valor de sensibilidad ecológica (Vx) a cada taxón inversamente proporcional al grado de tolerancia a la contaminación variando este desde 0.1 para los muy tolerantes hasta 2.0 para los más sensibles (Tabla 3). De esta manera, el índice (IMRP) se basa en una sumatoria de valores de sensibilidad ecológica (Vx) asignados a cada uno de los diferentes taxones observados en los ambientes en estudio (Rodrigues Capítulo, 1999). El índice se vincula a la calidad del agua general según los detalles y colores que se disponen en la Tabla 5.

PBMWP. (Pampean Biomonitoring Working Party): es una adaptación de los índices europeos BMWP (Inglaterra) e IBMWP-(España) a las familias de macroinvertebrados de la ecorregión Pampa. Se lo utiliza a partir de una tabla donde existe una lista de familias con rangos de sensibilidad ecológica que van de 1 a 10 puntos (Tabla 4). La sumatoria de estos puntajes da un valor que también se remite a una tabla con rangos de calidad ecológica de sus aguas de acuerdo con

Grupo faunístico	Número total de unidades sistemáticas (U.S) presentes						
	0-1	2-5	6-10	11-15	16-20	21-25	>26
1 Trichoptera con estuche (Leptoceridae) > 1 U.S. Solo 1 U.S			8 7	9 8	10 9	11 10	12 11
2 Hydropsychidae, Lestidae, Elmidae, Gomphidae >1 U.S Solo 1 U.S		6 5	7 6	8 7	9 8	10 9	11 10
3 Ancylidae, Decapoda, Aeshnidae, Simuliidae, Otros Trichoptera >1 U.S Solo 1 U.S		4 3	5 4	6 5	7 6	8 7	9 8
4 Otros Coleoptera, Ephemeroptera (excepto Caenidae) Todas las U.S anteriores (1,2,3) ausentes		3	4	5	6	7	
5 Coenagrionidae, Caenidae, Heteroptera, Amphipoda Todas las U.S anteriores (1,2,3,4) ausentes		2	3	4	5		
6 Tubificidae, Chironomidae rojos, Physidae, Culicidae Todas las U.S anteriores (1,2,3,4,5) ausentes	1	1	2	3			
7 Syrphidae, Enchitreidae, Psychodidae Todas las U.S anteriores (1,2,3,4,5,6) ausentes	0	1	2				

Tabla 1: Tabla de doble entrada para de cálculo del Índice Biótico Pampeano (IBPAMP).

a) Para ambientes de ritron (arroyos de las sierras pampeanas)

la diversidad y tolerancia a la contaminación (sin especificar el origen de esta) y ajustándose a cinco clases de estado ecológico de los ríos (Tabla 5). Este índice PBMWP se complementa con el ASPT (Average Score Per Taxon) que da una idea de la sensibilidad media de los macroinvertebra-

dos utilizados al dividir el PBMWP por el total de familias sumadas (Tabla 5).

Todos estos índices son cotejados con otros parámetros fisicoquímicos normalmente utilizados en la calidad de aguas.

Grupo faunístico	Número total de unidades sistemáticas (U.S) presentes						
	0-1	2-5	6-10	11-15	16-20	21-25	>26
1 Trichoptera con estuche (Leptoceridae) > 1 U.S. Solo 1 U.S			9 8	10 9	11 10	12 11	13 12
2 Otros Trichoptera, Lestidae, Elmidae, Gomphidae, Unionidae >1 U.S Solo 1 U.S		6 5	7 6	8 7	9 8	10 9	11 10
3 Ancylidae, Decapoda, Aeshnidae, Simuliidae >1 U.S Solo 1 U.S		4 3	5 4	6 5	7 6	8 7	9 8
4 Otros Coleoptera, Ephemeroptera (excepto Caenidae), Libellulidae Todas las U.S anteriores (1,2,3) ausentes		3	4	5	6	7	
5 Coenagrionidae, Caenidae, Heteroptera, Amphipoda Todas las U.S anteriores (1,2,3,4) ausentes		2	3	4	5		
6 Tubificidae, Chironomidae rojos, Physidae, Culicidae Todas las U.S anteriores (1,2,3,4,5) ausentes	1	1	2	3			
7 Syrphidae, Enchitreidae, Psychodidae Todas las U.S anteriores (1,2,3,4,5,6) ausentes	0	0	1	2			

Tabla 1: Tabla de doble entrada para de cálculo del IBPAMP.
b) Para ambientes de potamon (ríos y arroyos de llanura)

Taxa	Nivel de la Unidad Sistemática (U. S.)	Taxa	Nivel de la Unidad Sistemática (S.U.)
Trichoptera	Familia	Hirudinea	Familia
Ephemeroptera	Género	Oligochaeta	Familia
Odonata	Género	Hydracarina	Presencia
Coleoptera	Familia	Nematoda	Presencia
Mollusca	Género	Tardigrada	Presencia
Crustacea	Género	Coelenterata	Presencia
Heteroptera	Género	Porifera	Presencia
Diptera	Familia	Bryozoa	Presencia
Tricladida	Familia	Temnocephala	Presencia

Tabla 2: Unidades sistemáticas. Definición de Unidades Sistemáticas que acompañan al taxon o taxones seleccionados por su sensibilidad en el lado izquierdo de la tabla. Se indican referencias del n° de U.S. para el área pampeana en las columnas 3 a 5).

Vx	TAXA	Vx	TAXA
1.00-1.2	HYDROIDA	1.1-1.2	EPHEMEROPTERA (Caenidae)
0.50	TURBELLARIA	1.5- 1.9	Baetidae-Polymitarcidae
			ODONATA (larvas)
0.30	ROTIFERA	1.0-1.2	Coenagrionidae
0.10	NEMATODA	1.6-1.9	Anisoptera y Lestidae
	OLIGOCHAETA	0.4	PSOCOPTERA
0.2-0.3 0.13- 0.15	Naidinae Lumbriculidae Tubificinae Enchytraeidae	0.70- 0.90	HETEROPTERA
0.50-0.6	HIRUDINEA GASTROPODA PELECIPODA	1.5-2.0 0.30-0.60	TRICHOPTERA DIPTERA Chironomidae
0.35	CLADOCERA	0.30 0.40	Culicidae,Tipulidae (larvas) Tabanidae (larvas) Ceratopogonidae
	COPEPODA	0.10	Psychodidae
0.35 0.40	CYCLOPOIDA HARPACTICOIDA	0.20 1.70	Stratiomyidae Ephyridae Simuliidae (larvas)
	OSTRACODA	0.3- 0.4	COLEOPTERA (no Elmidae)
0.90 -	AMPHIPODA	1.5	Elmidae
1.50	DECAPODA	0.2-0.4	TARDIGRADA
0.20	COLLEMBOLA	0.30	ACARINA

Tabla 3: Lista de los taxa de invertebrados para la obtención del Índice de Macroinvertebrados para Ríos Pampeanos (IMRP) y sus valores de Vx de sensibilidad en relación con su calidad ambiental. Donde sp es cada uno de los taxones considerados desde 1 hasta n; V_x= valor de sensibilidad de cada taxón.

$$IMRP = \sum_{sp}^n V_x$$

PBMWP Río:	Fecha		Localidad		Identificado por:	
	PTS	Abund	TAXÓN	Abund	TAXÓN	Abund
TRICLADIDA			EPHEMEROPTERA			
Dendrocoelidae	5				TRICHOPTERA	
Dugesidae	5		Baetidae	8	Enomidae	7
Planariidae	5		Caenidae	4	Glossomatidae	8
OLIGOCHAETA	1		Leptophlebiidae	100	Hydropsychidae	9
HIRUDINEA			Polymitarcidae	9	Hydroptilidae	5
Erbodellidae	3		ODONATA		Lepidostomatidae	10
Glossiphoniidae	3		Aeshnidae	8	Leptoceridae	10
Hirudidae	3		Calopterygidae	9	Limnephilidae	7
Piscicolidae	4		Coenagrionidae	6	Odontoceridae	10
MOLLUSCA			Cordulegasteridae	8	Philopotamidae	8
Ancylidae	6		Corduliidae	8	Phryganeidae	10
Bithyniidae	3		Gomphidae	8	Polycentropodidae	10
Hydrobiidae	3		Lestidae	8	Psychomyiidae	8
Lymnaeidae	3		Libellulidae	8		
Neritidae	6		Platycnemididae	6	LEPIDOPTERA	
Physidae	3		HETEROPTERA		Pyralidae	4
Planorbidae	3		Aphelocheiridae	10	DIPTERA	
Sphaeriidae	3		Corixidae	3	Athericidae	10
Thiaridae	6		Gerridae	3	Blephariceridae	10
Unionidae	6		Hydrometridae	3	Ceratopogonidae	4
Valvatidae	3		Mesoveliidae	3	Chironomidae	2
Viviparidae	6		Naucoridae	3	Culicidae	2
			Nepidae	3	Dolichopodidae	4
HYDRACARINA	4		Notonectidae	3	Empididae	4
OSTRACODA	3		Pleidae	3	Ephydriidae	2
AMPHIPODA			Velliidae	3	Limoniidae	4

PBMWP Río:	Fecha		Localidad		Identificado por:	
	PTS	Abund	TAXÓN	Abund	TAXÓN	Abund
Corophiidae	6		NEUROPTERA		Muscidae	4
Hyalellidae	6		Sialidae	4	Psychodidae	4
Ingolfiellidae	8		COLEOPTERA		Ptychopteridae	4
ISOPODA			Chrysomelidae	4	Rhagionidae	4
Asellidae	3		Curculionidae	4	Sciomyzidae	4
DECAPODA			Dryopidae	5	Simuliidae	5
Trichodactylidae	8		Dytiscidae	3	Stratiomyidae	4
Aeglidae	8		Elmidae	5	Syrphidae	1
Ocypodidae	5		Gyrinidae	3	Tabanidae	4
Portunidae	7		Halipidae	4	Thaumaleidae	2
Palaemonidae	7		Helodidae	3	Tipulidae	5
Grapsidae	7		Hydraenidae	5		
Sergestidae	7		Hydrochidae	5		
TANAIDACEA			Hydrophilidae	3		
Tanaidae (Sinelobus)	8		Hygrobiidae	3		
Kalliapseudidae	8		Noteridae	3		
CUMACEA			Psephenidae	3		
Nannastacidae (Claudicuma)	8		Scirtidae	3		

Tabla 4: Taxa utilizados para cálculo del PBMWP (Pampean Biological Monitoring Working Party) basado en los puntajes relativos del IBMWP Iberic Biomonitoring Working Party- España), BWP (BioMonitoring Working Party-original- Inglaterra) y valores de sensibilidad derivados de otros índices bióticos pampeanos.

Clases	Calidad	IMRP	IBPAMP	PBMWP	ASPT	Significado
I	Buena	>12.1	> 14	> 125	>4.3	Aguas muy limpias
		8.0 -12.0	10-13	111-125	3.8-4.2	Aguas no contaminadas
II	Aceptable	4.0 – 7.9	8-9	91-110	3.0-3.7	Aguas donde se evidencian algunos efectos de la contaminación
III	Dudosa	2.6 – 3.9	6-7	51-70	2.6-2.9	Aguas moderadamente contaminadas
IV	Crítica	1.1 – 2.5	4-5	15-50	2.1-2.5	Aguas muy contaminadas
V	Muy crítica	0 – 1.0	1-3	<15	1-2.0	Aguas fuertemente contaminadas

Tabla 5: Datos de rangos de calidad de aguas y su significado según los índices pampeanos.

Región Patagonia

María Laura Miserendino, Pablo Macchi y Cecilia Brand

a. Campo de aplicación

El índice BMPS (Biological Monitoring Patagonian Streams) es el índice más apropiado para el biomonitorio de ríos y arroyos de Patagonia. La diversidad biogeográfica de la región, es acompañada por cambios en la composición faunística de los ecosistemas lóticos de la cordillera y de la meseta, por lo tanto, se presentan adecuaciones en las escalas o juicios de valor del BMPS para poder utilizar el mismo en los diferentes ríos y arroyos de Patagonia. Se presentan dos versiones del índice BMPS, una para ríos y arroyos cordilleranos y piedemonte, de bosque, con predominio de sustratos rocosos, o ríos de mediano porte de ecotono (Ficha 1) y, otra versión, para arroyos y grandes ríos de meseta con vegetación predominante de monte o estepa (Ficha 2).

b. Recomendaciones

La aplicación de índices bióticos de macroinvertebrados acuáticos en arroyos y ríos de Patagonia requiere tener en cuenta ciertas consideraciones particulares para una correcta evaluación.

- Existen ríos y arroyos, que por sus condiciones naturales (ej. fisicoquímica del agua, alta presencia de sedimentos) y biogeográficas, presentan una pobreza faunística que puede resultar en valores bajos cuando se computa el índice BMPS y entonces el juicio de calidad no se correspondería con una mala situación o contaminación sino a una pobreza faunística característica. Entonces para no incurrir en errores de interpretación sugerimos revisar estudios o antecedentes del área o de la cuenca, o en su defecto, de ser un ambiente desconocido se debe establecer un sitio de referencia (sin impactos) para poder establecer comparaciones.
- Precipitaciones (lluvias) o deshielo en arroyos con hielo o nieve en cabecera, previas al muestreo pueden ocasionar aumentos de caudal y sedimentos en el río, afectando a la biota presente en el curso de agua. Es por ello que se recomienda seleccionar un momento de muestreo con un mínimo de siete días previos sin precipitaciones.
- Las variaciones hidrológicas estacionales (altos caudales y crecidas) afectan a la comunidad de macroinvertebrados y pueden incrementar los procesos de sedimentación. Durante aguas altas es común observar en arroyos patagónicos una merma en términos de riqueza de especies y de densidad. De esta

forma, los resultados de la evaluación del índice BMPS pueden dar menores puntuaciones a las esperadas. Es por ello que el mejor momento de muestreo en la región es fines de primavera y verano, con condiciones hidrológicas estables.

- Por último, los índices construidos para la región no solo permiten visualizar perturbaciones como lo es la contaminación, sino también otros tipos de perturbaciones: síntomas de erosión (sedimentación), disturbios del hábitat (ej: dragado), fluctuaciones hidrológicas resultado de las intervenciones humanas (extracción de agua, regulación de caudal, etc.), entre otras.

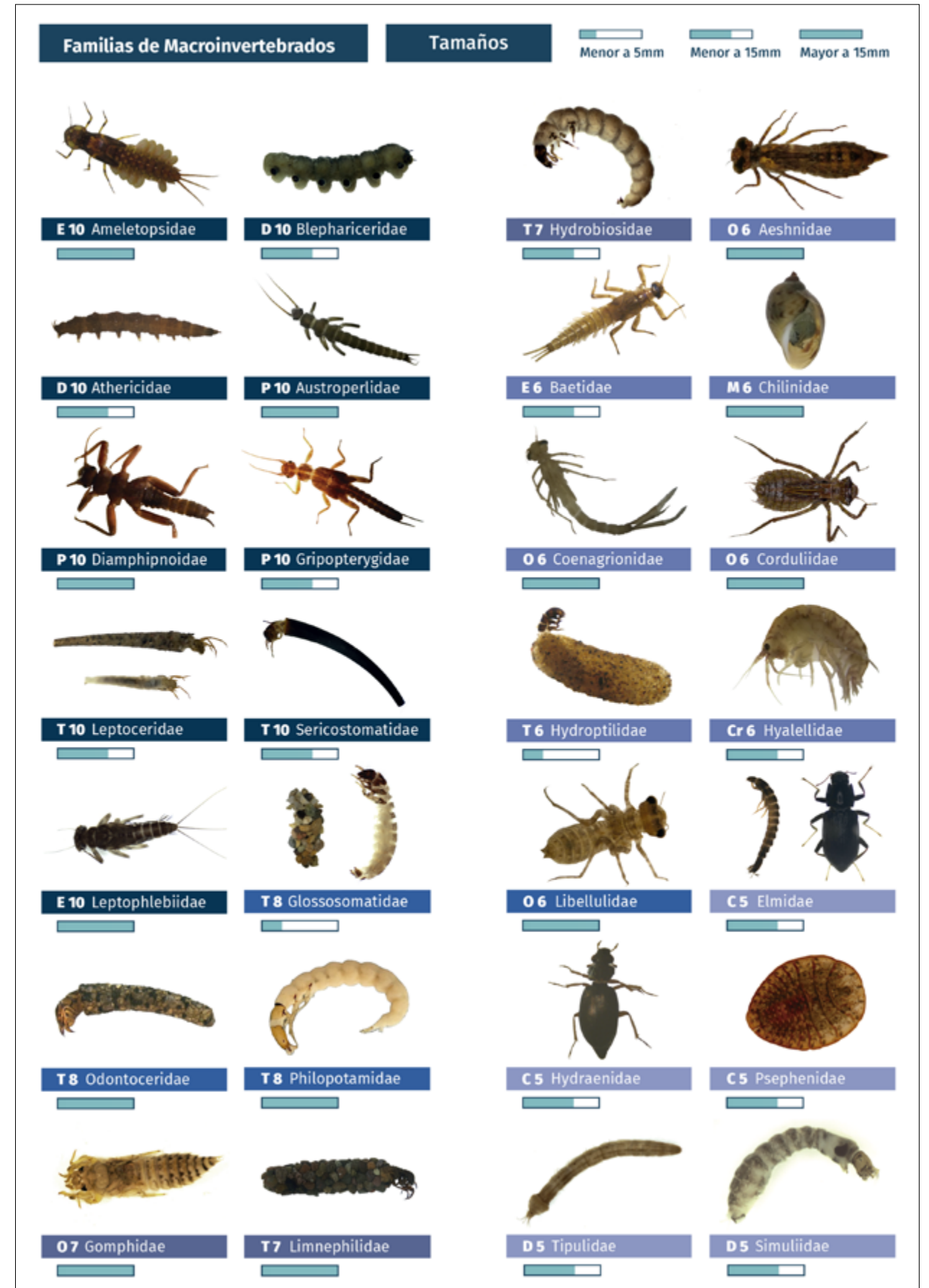
c. Procedimientos de muestreo

Se deberá recopilar la información descriptiva del hábitat, que documentará la descripción de la estación, las condiciones climáticas, fisicoquímicas y uso de suelo. Para lo cual se utiliza la [ficha de campo](#).

- **Ríos y arroyos de montaña, piedemonte y ecotono (montaña-estepa).** En arroyos se sugiere elegir un tramo de 10-15 metros y, en un río, un tramo de hasta 50 m que contenga la mayor cantidad de hábitats representados. En general se encuentran rápidos, pozones, y correderas. Si existen macrófitas integrarlas al muestreo. Dado que uno de los sustratos que dominan en estos ríos son los bloques y guijones, se sugiere la utilización de la red Surber con copo de 90 cm o una red D, porque generalmente son ambientes muy turbulentos y con mucha corriente. Se pueden observar en las fotografías que siguen la variedad de ambientes presentes en ríos y arroyos de cordillera y piedemonte.
- **Grandes ríos de meseta.** Se seleccionará un sitio de muestreo que consistirá en un tramo de entre 50 y 100 metros representativos del cuerpo de agua. Debido a que el río puede tener una alta diversidad de hábitats, primero se evaluará visualmente el tramo identificando los hábitats más representativos (que ocupan al menos un 5 % de la superficie del lecho) en función de la velocidad de la corriente y de la heterogeneidad del sustrato. De esta forma se podrán identificar rápidos y correderas de sustrato rocoso, pozones de sustrato fino, manchones de macrófitas sumergidas o emergentes, acúmulos de materia orgánica, como hojarasca y troncos, entre otros. Estimar visualmente la superficie aproximada (en porcentaje) que ocupa cada uno de los hábitats identificados a lo largo de todo el tramo. En estos ríos, la red D es la más adecuada para tomar las muestras.



Figura 1: Arroyos y ríos de Patagonia a y b) Arroyos de montaña, c y d) Arroyos piedemonte/ecotono e) Arroyos de meseta. Grandes ríos de meseta: f) Río Chubut, g) Río Colorado, h) Río Santa Cruz, i) Confluencia río Varvarco y río Neuquén, j) Río Negro. (Fotos: Laura Miserendino y Pablo Macchi)



Ficha 1: Fotos de Macroinvertebrados y puntaje asignado, según el índice biótico BMPS (Fuente: Proyecto SPU- UNRN 2021 Bioindicación y Gestión, Pablo Macchi)



Ficha 1 (Continuación): Fotos de Macroinvertebrados y puntaje asignado, según el índice biótico BMPS (Fuente: Proyecto SPU-UNRN 2021 Bioindicación y Gestión, Pablo Macchi)

d. Aplicación de los índices bióticos

El índice biótico Biotic Monitoring Patagonian Streams (BMPS) es un índice cualitativo (presencia/ausencia) de familias de macroinvertebrados, donde a cada una de ellas se les asigna una puntuación que oscila entre 10 y 1 según su sensibilidad a las perturbaciones ambientales. Su aplicación consiste en identificar las familias presentes en un muestreo, elaborar una lista inventario, buscar la puntuación de cada familia (el puntaje se asigna una sola vez por familia, independientemente de la cantidad de individuos recolectados) y obtener el valor del índice por la suma total de la puntuación correspondiente a cada una de ellas. Finalmente, el valor obtenido se hace corresponder con una determinada clase de calidad ecológica del agua.

Para arroyos y ríos de montaña, piedemonte y de ecotono se sugiere utilizar el BMPS (Ficha 2) y, para ríos de meseta, se sugiere utilizar el BMPS reescalado para tal fin (Ficha 3).

Una vez identificados los macroinvertebrados en el laboratorio con la clave pictórica (Ficha 1), se vuelcan los datos en una matriz para proceder a asignar los puntajes de cada familia.

Para asignar los puntajes, deberá utilizar la tabla del índice BMPS apropiado: cordillera (Ficha 2) o meseta (Ficha 3), según la región del río o arroyo a evaluar. En la tabla ubicar cada una de las familias presentes en el sitio de muestreo y asignar su puntaje. Recuerde que es un índice cualitativo, el puntaje se asigna sólo por la presencia independientemente de la cantidad de individuos o géneros/especies diferentes recolectados de una familia. Una vez completado el puntaje de cada familia, sumar el valor total de cada sitio (Ficha 4). Ese valor se corresponderá a una clase de calidad ecológica de agua (Ficha 2 y 3).

Para grandes ríos de meseta (Colorado, Negro, Limay, Neuquén, Santa Cruz, Chubut y Gallegos) puede utilizar la aplicación Biomonitoreo RN (www.biomonitoreo.com.ar), con el índice BMPS adaptado, con las categorías de evaluación reescaladas. El procedimiento consiste en abrir la aplicación y comenzar una "evaluación". Se debe identificar y seleccionar todas las familias presentes de macroinvertebrados en las muestras del tramo a evaluar. Finalmente, una vez cargadas todas las familias de tramo muestreado, la aplicación calcula automáticamente el valor de índice biótico y la clase de la calidad ecológica del agua.

Familias	Puntuación
Eustheniidae Diamphipnoidae Perlidae Notonemouridae Gripopterygidae Austroperlidae Ameletopsidae Leptophlebiidae Nesameletidae Leptoceridae Leptoceridae Sericostomatidae Philorheithridae Helicophidae Anomalopsychidae Tasimiidae Kokiriidae Athericidae Blephariceridae	10
Coloborusidae Glossosomatidae Philopotamidae Calamoceratidae Odontoceridae Helicopsychidae	8
Hydrobiosidae Polycentropodidae Limnephilidae Gomphidae	7
Baetidae Hydroptilidae Gelastocoridae Lestidae Austropetaliidae Aeshnidae Petaluridae Corduliidae Neopetaliidae Libellulidae Coenagrionidae Hyalellidae Chilinidae Oniscogastridae	6
Ecnomidae Hydraenidae Psephenidae Scirtidae Elmidae Corydalidae Hydropsychidae Tipulidae Simuliidae Parastacidae Aeglididae Dugesidae Phreodrilidae Osmylidae	5
Caenidae Haliplidae Curculionidae Tabanidae Stratiomyidae Empididae Ceratopogonidae Psychodidae Tanyderidae Thaumaleidae Sialidae Hyriidae Hydracarina	4
Notonectidae Corixidae Mesoveliidae Hydrometridae Belostomatidae Dytiscidae Gyrinidae Hydrophilidae Mycetopodidae Sphaeriidae Cochliopidae Lymnaeidae Physidae Planorbidae Glossiphoniidae Semiscolecidae Hirudinidae	3
Chironomidae Culicidae Muscidae Ephydriidae Syrphidae	2
Lumbriculidae Naididae	1

Clases de calidad ecológica del agua

Clase	Calidad	Valor	Significado	Color
I	Excelente	> 150	Aguas muy limpias	
II	Muy Buena	101 - 120	Aguas no contaminadas	
III	Buena	61 - 100	Aguas con probable incipiente contaminación	
IV	Dudosa	36 - 60	Aguas probablemente contaminadas	
V	Crítica	16 - 35	Aguas contaminadas	
VI	Muy Crítica	< 15	Aguas fuertemente contaminadas	

Ficha 2: Índice Biotic Monitoring Patagonian Streams (BMPS) para arroyos y ríos de cordillera y de ecotono

Familias	Puntuación
Notonemouridae Gripopterygidae Austroperlidae Leptophlebiidae Leptoceridae Sericostomatidae Athericidae Blephariceridae	10
Glossosomatidae	8
Hydrobiosidae Limnephilidae Polycentropodidae Gomphidae Leptohiphidae	7
Baetidae Hydroptilidae Lestidae Aeshnidae Libellulidae Coenagrionidae Hyalellidae Chilinidae	6
Hydraenidae Psephenidae Scirtidae Elmidae Corydalidae Crambidae Hydropsychidae Tipulidae Simuliidae Parastacidae Aeglididae Dugesidae	5
Caenidae Haliplidae Curculionidae Tabanidae Stratiomyidae Empididae Ceratopogonidae Psychodidae Vellidae Hyriidae Hydracarina	4
Notonectidae Corixidae Mesoveliidae Belostomatidae Gelastocoridae Dytiscidae Gyrinidae Hydrophilidae Sphaeriidae Cochliopidae Lymnaeidae Physidae Planorbidae Cyrenidae Glossiphoniidae Hirudinidae Semiscolecidae	3
Chironomidae Culicidae Muscidae Ephydriidae Syrphidae	2
Lumbriculidae Naididae	1

Clases de calidad ecológica del agua

Clase	Calidad	Valor	Significado	Color
I	Muy Buena	≥ 81	Aguas de muy buena calidad.	
II	Buena	56 - 80	Aguas aceptables, con incipiente degradación	
III	Dudosa	31 - 55	Aguas probablemente contaminadas	
IV	Mala	16 - 30	Aguas contaminadas	
V	Muy Mala	≤ 15	Aguas fuertemente contaminadas	

Ficha 3: Índice Biotic Monitoring Patagonian Streams (BMPS) para arroyos y grandes ríos de meseta

Arroyo/ Río:		Fecha:		
FAMILIAS	Puntaje BMPS	SITIO 1	SITIO 2	SITIO 3
Resultado BMPS (suma total)				

Ficha 4: Matriz para el cálculo del índice Biotic Monitoring Patagonian Streams (BMPS)

Bibliografía

Región NOA

Domínguez, E. y H. R. Fernández. 1998. *Calidad de los ríos de la cuenca del Salí (Tucumán, Argentina) medida por un índice biótico*. Serie Conservación de la Naturaleza 12. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.

Dos Santos, D., C. Molineri, M. C. Reynaga & C. Basualdo. 2011. Which index is the best to assess stream health? *Ecological Indicators*, 11(2): 582-589.

Ríos-Touma, B., R. Acosta & N. Prat. 2014. The Andean Biotic Index (ABI): revised tolerance to pollution values for macroinvertebrate families and index performance evaluation. *Rev. Biol. Trop.*, 62: 249-273.

Wantzen, K. M. y G. Rueda Delgado. 2009. Técnicas de muestreo de macroinvertebrados bentónicos. En: Domínguez E. y H. R. Fernández (Eds.). *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y biología*. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina., pp. 17-45. ISBN 978-950-668-015-2.

Región NEA

Anderson J. T., F. Zilli, L. Montalto, M. Marchese, M. McKinney & Y. Lak Park. Sampling and Processing Aquatic and Terrestrial Invertebrates in Wetlands. In: Anderson James T. & C. A. Davis (Eds.). *Wetland Techniques*. Springer, pp. 143-196.

Alba-Tercedor, J. y A. Sanchez-Ortega. 1988. Un método rápido y simple para evaluar la calidad biológica de las aguas basado en el de Hellawell (1978). *Limnética*, 4: 51-56.

Benzaquén, L., D. E. Blanco, R. F. Bó, P. Kandus, G. F. Lingua, P. Minotti, R. D. Quintana, S. Sverlij y L. Vidal (Eds.). 2013. *Inventario de los Humedales de Argentina. Sistemas de paisajes de humedales del Corredor Fluvial Paraná-Paraguay*. Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación. 376 pp.

Cairns, Jr J., K. L. Dickson. 1971. A simple method for biological assessment on the effects of the most discharges on aquatic bottom-dwelling organisms. *Journal Water Pollut. Control Fed.*, 43: 755-772.

Capeletti, J., M. Marchese y F. Zilli. 2017. *Aplicación y evaluación de índices bióticos en el río Salado del Norte (Santa Fe, Argentina)*. XXV Jornadas de Jóvenes Investigadores AUGM, Tomo V: 348-356.

Capeletti, J., D. Alberto, F. Facelli, J. M. Cabrera, M. Marchese y F. Zilli. 2019. *Métricas basadas en macroinvertebrados como monitores de ambientes con uso de suelo agrícola: estudio preliminar en una cuenca pampeana*. X Congreso de Ecología y Manejo de Ecosistemas Acuáticos Pampeanos. 1.ª edición, pp. 259-261.

Chessman, B. C. 2003. *SIGNAL 2, A scoring system for macroinvertebrate ("water bugs") in Australian rivers, Monitoring river health initiative*. Australia, Canberra.

Crettaz-Minaglia, M. C., R. A. Juárez, I. Aguer, E. D. Borro y R. B. Peruzzo. 2014. Aplicación de índices de calidad de agua en un arroyo pampeano utilizando macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores (Guaqueguaychú, Entre Ríos, Argentina). *Biología Acuática*, 30: 93-105.

Crettaz-Minaglia, M.C., R. A. Juárez, I. Aguer. 2015. Adaptación de un índice de calidad de agua y comparación con el índice biótico Biological Monitoring Working Party (BMWP) en el arroyo Santa Bárbara (Guaqueguaychú, Entre Ríos). *Scientia Intefluvius*, 1.

Damborsky, M. P. y A. S. G. Poi. 2015. Aplicación de índices bióticos utilizando macroinvertebrados para el monitoreo de calidad del agua del Río Negro, Chaco, Argentina. *FACENA*, 31: 41-52.

Damborsky, M. P., A. S. G. Poi y S. Mazza. 2012. Patrón espacial y temporal de las colectividades de artrópodos asociados a macrófitas en un río subtropical de bajo orden (Chaco, Argentina). *Interciencia*. 37(7): 534-541.

Hilsenhoff, W. L.. 1988. Rapid field assessment of organic pollution with a family level biotic index. *The North American Benthological Society*, 7: 65-68.

Juárez, I., M. C. Crettaz Minaglia, D. Gianello, M. S. Rodriguez, F. San Millan, E. Chaves y R. A. Juárez. 2018. Diagnóstico ambiental de la cuenca media-baja del arroyo Santa Bárbara (Guaqueguaychú, Entre Ríos). *Scientia Interfluvius*, 9: 46-70.

Juárez, R., M. C. Crettaz Minaglia, I. Aguer, I. Juárez, D. Gianello, E. Ávila y C. Roldán. 2016. Aplicación de índices bióticos de calidad de agua en cuatro arroyos de la cuenca del río Guaqueguaychú (Entre Ríos, Argentina). *Intropica* 11: 35-46.

Kandus, P., P. Minotti, I. Fabricante y C. Ramonelli. 2017. Identificación y delimitación de regiones de humedales de Argentina. En: Benzaquén, L., et al., (Eds.). *Regiones de Humedales de Argentina*. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sustentable,

Fundación Humedales/Wetlands International, Universidad Nacional de San Martín y Universidad de Buenos Aires.

Kuhlmann, M. L., G. Johnscher-Fornasero, L. L. Ogura, H. R. V. Imbimbo. 2012. *Protocolo para o biomonitoramento com as comunidades bentônicas de rios e reservatórios do estado de São Paulo*. CETESB, São Paulo. 113 pp.

Marchese, M. & I. Ezcurra de Drago. 1999. Use of benthic macroinvertebrates as organic pollution indicators, in lotic environments of the Parana River drainage basin. *Pollution Archives of Hydrobiology*, 46: 233-255.

Marchese, M. e I. Ezcurra de Drago. 2006. Bentos como indicador de condiciones tróficas del sistema del río Paraná Medio. En: Tundisi, J, T. Matsumura Tundisi y C. Sidagis Galli (Eds.) *Eutrofização na América do Sul: Causas, Consequências e Tecnologias de Gerenciamento e Controle*. pp 297-316.

Merritt, R. W., K. W. Cummins, M. B. Berg, J. A. Novak, M. J. Higgins, K. J. Wessell, K. J. & J. L. Lessard. 2002. Development and application of a macroinvertebrate functional group approach in the bioassessment of remnant river oxbows in southwest Florida. *Journal of the North American Benthological Society*, 21: 290-310.

Munné, A., C. Solá y N. Prat. 1998. QBR: Un índice rápido para la evaluación de la calidad de los ecosistemas de ribera. *Tecnología del agua*, 175. 20:37.

Pavé, P. y M. Marchese. 2005. Invertebrados bentónicos como indicador de calidad de ríos urbanos (Paraná-Entre Ríos). *Ecología Austral*, 15: 185-197.

Peso, J., N. Meichtry de Zaburlin y P. Araya. 2013. Humedales del Alto Paraná en fisiografía rocosa. En: Benzaquén, L. et al., (Eds.). *Inventario de los Humedales de Argentina. Sistemas de paisajes de humedales del Corredor Fluvial Paraná-Paraguay*. Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación. pp. 129-136.

Prat, N., B. Ríos, R. Acosta y M. Rieradevall. 2009. Los macroinvertebrados como indicadores de calidad de las aguas. En: Domínguez, E. y H. Fernández (Eds.). *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos*. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.

Ramírez, A. & P. E. Gutiérrez-Fonseca. 2014. Functional feeding groups of aquatic insect families in Latin

America: a critical analysis and review of existing literature. *Revista de Biología Tropical*, 62: 155-167.

Chessman, B. 2003. *Signal2- A Scoring System for Macroinvertebrate (Water Bugs) in Australian Rivers, Monitoring River Health Initiative Technical Report N° 31*, Commonwealth of Australia, Canberra

Tomanova, S. 2007. *Functional Aspect of Macroinvertebrate Communities in Tropical and Temperate Running Waters*. Ph.D. thesis. Faculty of Science, Masaryk University.

Troitiño, E., M. C. Costa, L. Ferrari y A. Giorgi. 2010. *La conservación de las zonas ribereñas de arroyos pampeanos*. I Congreso Internacional de Hidrología de Llanuras, Azul, Argentina.

Región Cuyo

Colombetti, P., M. Calderon, J. Tello, P. González & M. Jofré. 2020. Relationships between aquatic invertebrate assemblages and environmental quality on saline wetlands of an arid environment. *Journal of Arid Environments*. 181: 1-11.

Calderon, M. R., M. M. Moglia, R. P. Nievas, P. L. Colombetti, S. P. González & M. B. Jofré. 2017. Assessment of the environmental quality of two urbanized lotic systems using multiple indicators. *River Res Applic.* 33(7): 1-11.

Región Centro

Armitage, P. D., D. Moss, J. F. Wright & M. T. Furse. 1983. The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water research*, 17(3): 333-347.

Corigliano, M. del C. 1999. Índices bióticos: aplicaciones y alcances. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 58(1-2): 193-201.

Domínguez E. y H. Fernández (Eds.). 2009. *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y biología*. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina. 656 pp.

Gualdoni C. M. y M. C. Corigliano. 1991. El ajuste de un índice biótico para uso regional. *Rev. UNRC*, 11: 43-49.

Lopretto, E. C. y G. Tell. 1995. *Ecosistemas de aguas continentales Metodologías para su estudio*. La Plata, Argentina: Ediciones Sur.

Región Pampa

Alba-Tercedor, J., P. Jáimez-Cuéllar, M. Álvarez, J. Avilés, N. Bonada, J. Casas, A. Mellado, M. Ortega, I. Pardo, N. Prat, M. Rieradevall, S. Robles, C. E. Sáinz-Cantero, A. Sánchez-Ortega, M. L. Suárez, M. Toro, M. R. Vidal-Albarca, S. Vivas y C. Zamora-Muñoz. 2002. Caracterización del estado ecológico de los ríos mediterráneos ibéricos mediante el índice IBMWP (antes BMWP). *Limnetica*, 21(3-4): 175-185.

Armitage, P. D., D. Moss, J. F. Wright & M. T. Furse. 1983. The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water Research*, 17: 333-347.

Brinkhurst, R. y M. Marchese. 1992. *Guía para la identificación de oligoquetos acuáticos continentales de sud y centroamérica*. Santo Tomé, Argentina: Asociación de Ciencias Naturales del Litoral, Colección Climax, vol 6, ISBN: 950-9267-07-4.

Domínguez E. y H. R. Fernández. 2009. *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y biología*. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.

Freguelli, J. 1956. Rasgos generales de la hidrografía de la provincia de Buenos Aires, *Publ. L.E.M.I. T.*, 2(62): 1-19.

Lopretto E, G. Tell. 1995a. *Ecosistemas de aguas continentales. Metodología para su estudio*, Tomo II. La Plata, Argentina: Ediciones Sur.

Lopretto E, Tell G. 1995b. *Ecosistemas de aguas continentales. Metodología para su estudio*, Tomo III. La Plata, Argentina: Ediciones Sur.

Ringuelet, R. 1962. *Ecología Acuática Continental*. Buenos Aires: Eudeba. 137 pp.

Rodrigues Capítulo, A. 1999. Los macroinvertebrados como indicadores de calidad de ambientes lóticos en el área pampeana. En Simposios IV Cong. Arg. de Entomología, Mar del Plata. *Rev. Soc. Ent. Argentina*, 58: 208-217.

Rodrigues Capítulo, A., M. Tangorra & C. S. Ocón. 2001. Use of Benthic macroinvertebrate to assess the biological status of pampean streams in Argentina. *Aquatic Ecology*, 35: 109-19.

Rodrigues Capítulo, A., C. S. Ocón. y M. Tangorra. 2003. Una visión bentónica de ríos y arroyos pampeanos. *Biología Acuática*, 21: 1-18.

Sala, J. M., E. E. Kruse., A. Rojo, P. Laurencena y L. Varela. 1998. *Condiciones hidrológicas en la Provincia de Buenos Aires y su problemática*. Cátedra de Hidrología General, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, Publicación Especial.

Región Patagonia

Domínguez, E. y 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.

Macchi, Pablo 2019. *Biomonitoreo RN* (Versión 1.0) https://play.google.com/store/apps/details?id=ar.com.biomonitoreo.muestras&hl=es_AR&gl=US

Miserendino, M. L., & L. A. Pizzolón. 1999. Rapid assessment of river water quality using macroinvertebrates: a family level biotic index for the Patagonic Andean zone. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 11(2): 137-148.

Miserendino, M. L., R. Casaux, M. Archangelsky, C. Y. Di Prinzio, C. Brand & A. M. Kutschker. 2011. Assessing land-use effects on water quality, in-stream habitat, riparian ecosystems and biodiversity in Patagonian northwest streams. *Science of the Total Environment*, 409: 572-584.

Técnicas de campo y laboratorio para el estudio de algas y cianobacterias

Principales grupos taxonómicos de algas

María de los Ángeles Taboada

Conceptos y algunas definiciones

El término alga comprende un grupo diverso de organismos, extremadamente heterogéneo y desprovisto de significado taxonómico. Es un modo de designación colectiva de un grupo de organismos mayoritariamente acuáticos, fotosintéticos, autótrofos, pequeños y menos complejos que las plantas superiores, carentes de tallo, raíz, hojas y tejidos vasculares (Graham, 2009).

La clasificación de las algas en las distintas categorías es compleja y existen numerosos criterios: ecológicos, morfológicos, fisiológicos, ultraestructurales, bioquímicos y moleculares. Asimismo, los avances en los estudios genéticos y moleculares llevan a que se produzcan cambios en la taxonomía de forma permanente.

En sistemas de aguas continentales es común encontrar un grupo de organismos procariontes, las denominadas algas verdeazuladas o cianobacterias, y cinco grupos de organismos eucariontes: algas verdes, algas rojas, diatomeas, euglenoides y dinoflagelados.

A continuación, se detallan las características más destacadas de cada grupo:

Cianobacterias

Las cianobacterias forman parte de la comunidad fitoplanctónica natural de los cuerpos de agua, también se las encuentra en el suelo y formando parte de biofilms. Son organismos fotosintéticos. Algunos de ellos, pueden tener gran desarrollo cuando la concentración de nutrientes (P y N) aumenta en el sistema acuático (eutrofización). Además del aumento en los nutrientes, propician su multiplicación las mayores tempera-

turas y una mayor estabilidad de la columna de agua. En condiciones de multiplicación excesiva pueden dar lugar a las floraciones (blooms), que en ocasiones se acumulan cerca de las orillas de los cuerpos de agua o en las capas superficiales formando espumas ("scums") de mayor toxicidad. Algunas especies, principalmente las que tienen heterocistos, pueden fijar nitrógeno. En síntesis, su expansión a nivel global en los sistemas acuáticos se ha ido incrementando por la eutrofización (aumento de nutrientes en el medio acuático) y por el cambio climático (aumento de temperatura).

Algunas características:

- No tienen núcleo, pero presentan ADN y ARN.
- Presentan clorofila-a y tilacoides libres en el citoplasma. Al no tener cloroplastos, los pigmentos están distribuidos en toda la célula, por lo que siempre se los va a observar con una coloración homogénea.
- Pigmentos accesorios: ficocianina y ficoeritrina ubicados en ficobilisomas. También pueden presentar carotenoides.
- Ausencia de formas flageladas.
- La principal sustancia de reserva es el almidón de las mixofíceas.
- Se las encuentra en agua dulce, marina, hábitats terrestres y en ambientes extremos (termófilas, criófilas, etc.).

En la Fig. 1 se ilustran algunos de los taxa más representativos de este grupo taxonómico.

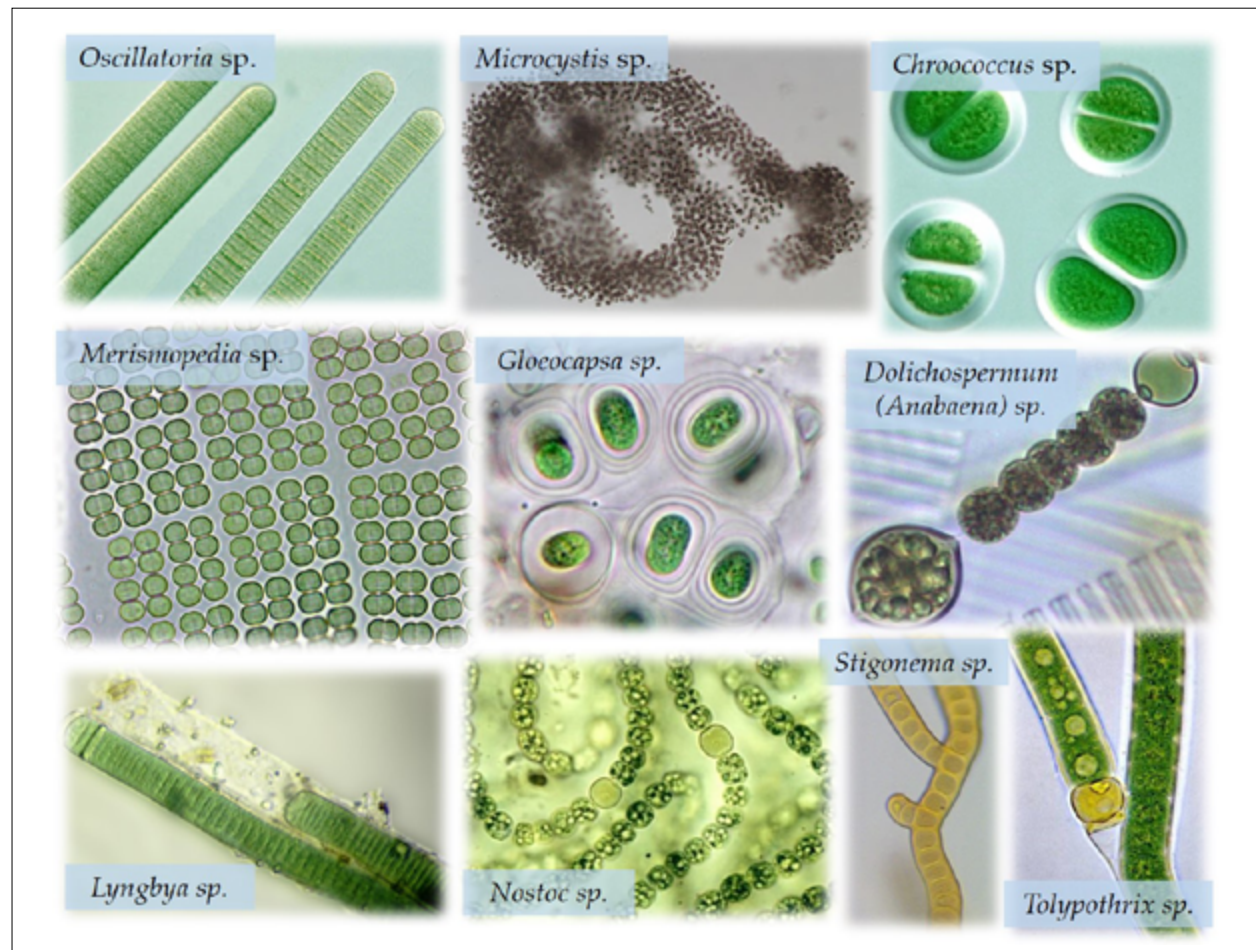


Figura 1: Ejemplos de taxones de cianobacterias en sistemas acuáticos.

Algas verdes (Clorophyta)

La mayoría son acuáticas y, principalmente, dulceacuícolas (90%); también hay representantes marinos y de suelo. Las especies dulceacuícolas son, en general, microscópicas y de distribución cosmopolita, mientras que las marinas son macroscópicas. Crecen en un amplio rango de salinidad y nutrientes. Participan en una amplia variedad de asociaciones bióticas. Numerosos taxones de este grupo son empleados en bioindicación, por ejemplo, especies pertenecientes a las desmidiales (*Closterium*, *Cosmarium*, etc) se utilizan como indicadores de aguas "relativamente" limpias y ligeramente ácidas.

Algunas características:

- Los plastos varían en número y forma (de copa, banda, estrellados, discoides o en bandas helicoidales). Es un carácter taxonómico importante para la determinación de géneros y especies.

- Presentan clorofila-*a* y *b* no enmascarada por pigmentos accesorios y carotenos (luteína y xantofilas)
- Pueden presentar células flageladas con 2-4 flagelos lisos.
- Sustancia de reserva: almidón intraplástico, como gránulos en el cloroplasto. El almidón es similar al de las plantas superiores y está compuesto de amilosa y amilopectina.
- Poseen Pirenoides visibles al microscopio óptico: estructuras proteicas asociadas a la formación de sustancias de reserva. Su ubicación puede ser intraplástica o extraplástica. Constan de un cuerpo esférico proteico rodeado por placas de almidón. El número de pirenoides es un carácter específico. Los pirenoides son un reservorio de la enzima ribulosa-1-5 difosfato carboxilasa/oxigenasa (Rubisco), enzima que fija CO₂.



Figura 2: Taxones de algas verdes comunes en sistemas acuáticos continentales.

En la Fig. 2 se ilustran algunos de los taxa más representativos de este grupo taxonómico.

Algas Rojas (Rhodophyta)

Algunas características:

- Presentan clorofila-*a* enmascarada por pigmentos hidrosolubles (ficobiliproteínas): ficocianina y ficoeritrina. α y β carotenos.
- No hay formas flageladas.
- Sustancia de reserva: almidón de las florídeas o rodamilón, ubicado como gránulos en el citoplasma.
- La mayoría son marinas, existen pocas especies de agua dulce (en aguas limpias, frías y bien oxigenadas) y algunas en suelo húmedo. A diferencia de las formas marinas, los pocos ejemplares de agua dulce son de coloración

azul-verdoso (con mayor cantidad de ficocianina) y se las suele encontrar en sistemas acuáticos relativamente prístinos y con una buena concentración de oxígeno.

En la Fig. 3 se ilustran algunos de los taxa más representativos de este grupo taxonómico.

Euglenoides (Euglenophyta)

Algunas características:

- Presentan clorofila-*a* y *b*, no enmascarada por pigmentos accesorios, β -carotenos y diversas xantófilas. Plastos en forma discoide, placa, cintas, urna etc.
- No tienen pared celular, presentan una película proteica debajo de la membrana plasmática. La película está formada por bandas proteicas sostenidas por microtúbulos y ubicada debajo de la membrana plasmática, la que puede ser

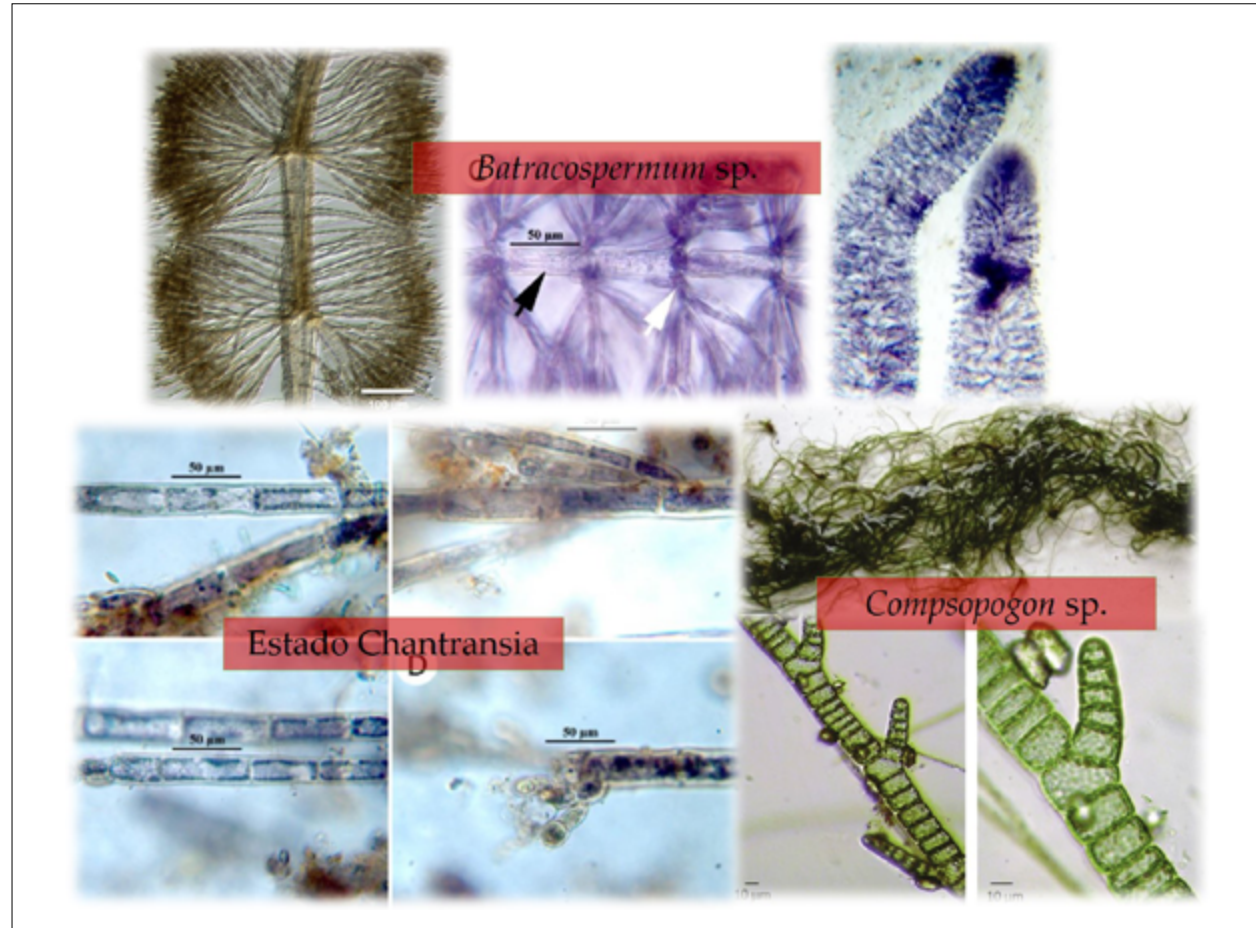


Figura 3: Ejemplos del aspecto y coloración de algas rojas comunes en sistemas de aguas continentales.

flexible o no. Las bandas están dispuestas en espiral de un extremo a otro de la célula. En las formas que tienen película elástica o flexible, pueden presentar metabolia (cambios de forma en la célula).

- Unicelulares flagelados, raramente en colonias sin perder el flagelo.
- Núcleo pequeño.
- La sustancia de reserva es el paramylon extraplastidial.
- Son buenas indicadores de calidad de agua.
- Los taxones dulceacuícolas son frecuentes en aguas estancadas y con alto contenido de materia orgánica.

En la Fig. 4 se ilustran algunos de los taxa más representativos de este grupo taxonómico.

Dinoflagelados (*Dinophyta*)

Algunas características:

- Presentan clorofila-a y c2. La clorofila enmascarada por pigmentos como β -caroteno y xantófilas.
- Sin pared celular, algunos con amphiesma: cubierta de la célula de los dinoflagelados ubicada por debajo de la membrana plasmática; está formada por alvéolos membranosos que pueden o no tener placas tecaes de celulosa de variado espesor.
- Unicelulares flagelados, pocos son cocoides y filamentosos.

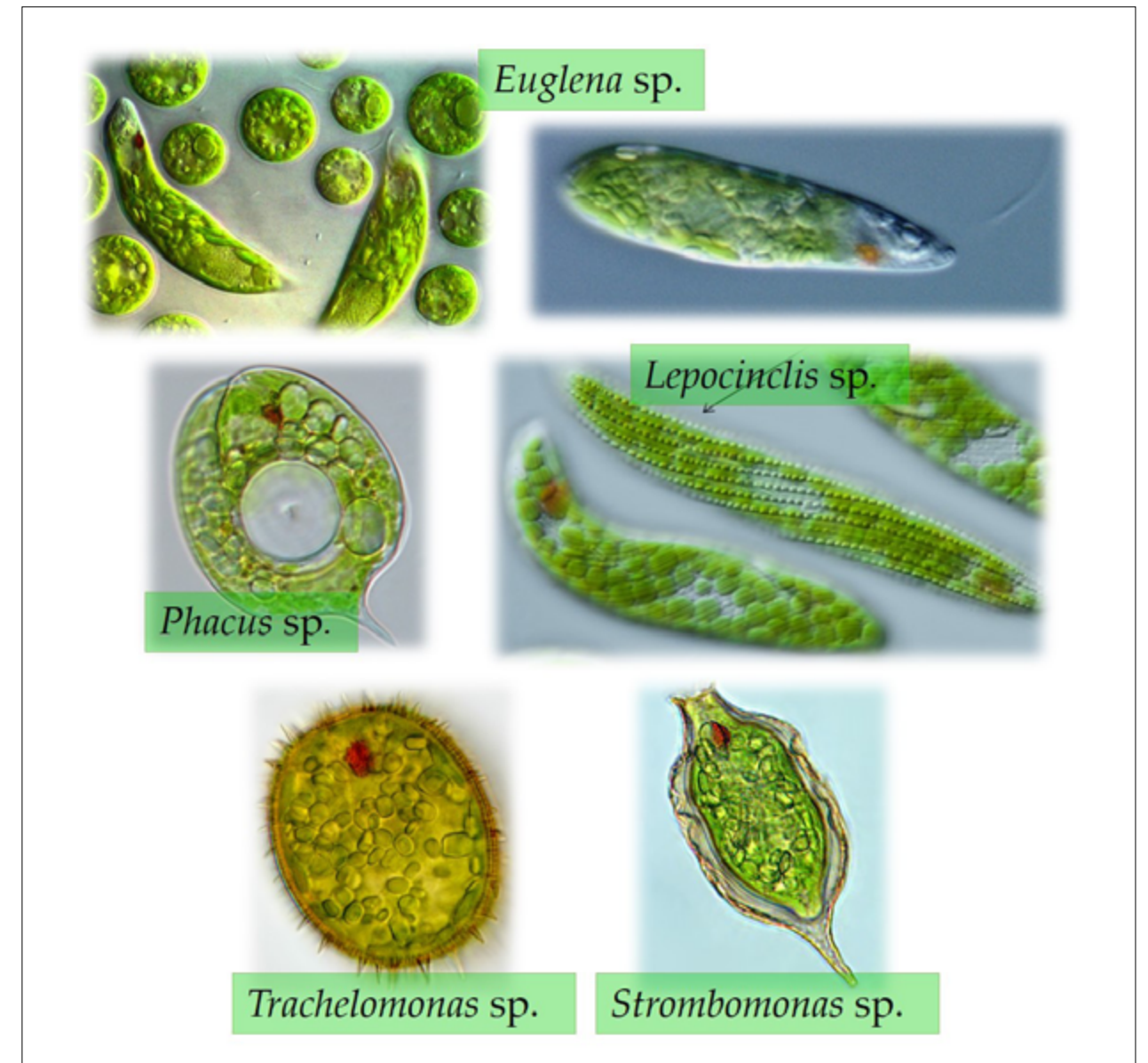


Figura 4: Euglenoides pigmentados comunes en algunos ambientes fluviales

- Se las encuentra en mayor diversidad en ambientes marinos, pero tiene representantes en aguas dulces.
- Las especies del género *Ceratium* desarrollan floraciones en lagos y embalses de zonas

tropicales y templadas. Sus floraciones no son tóxicas, sin embargo, pueden modificar el color y sabor del agua, obstruir filtros en los sistemas de potabilización y generar la muerte de peces por el agotamiento del oxígeno disuelto.

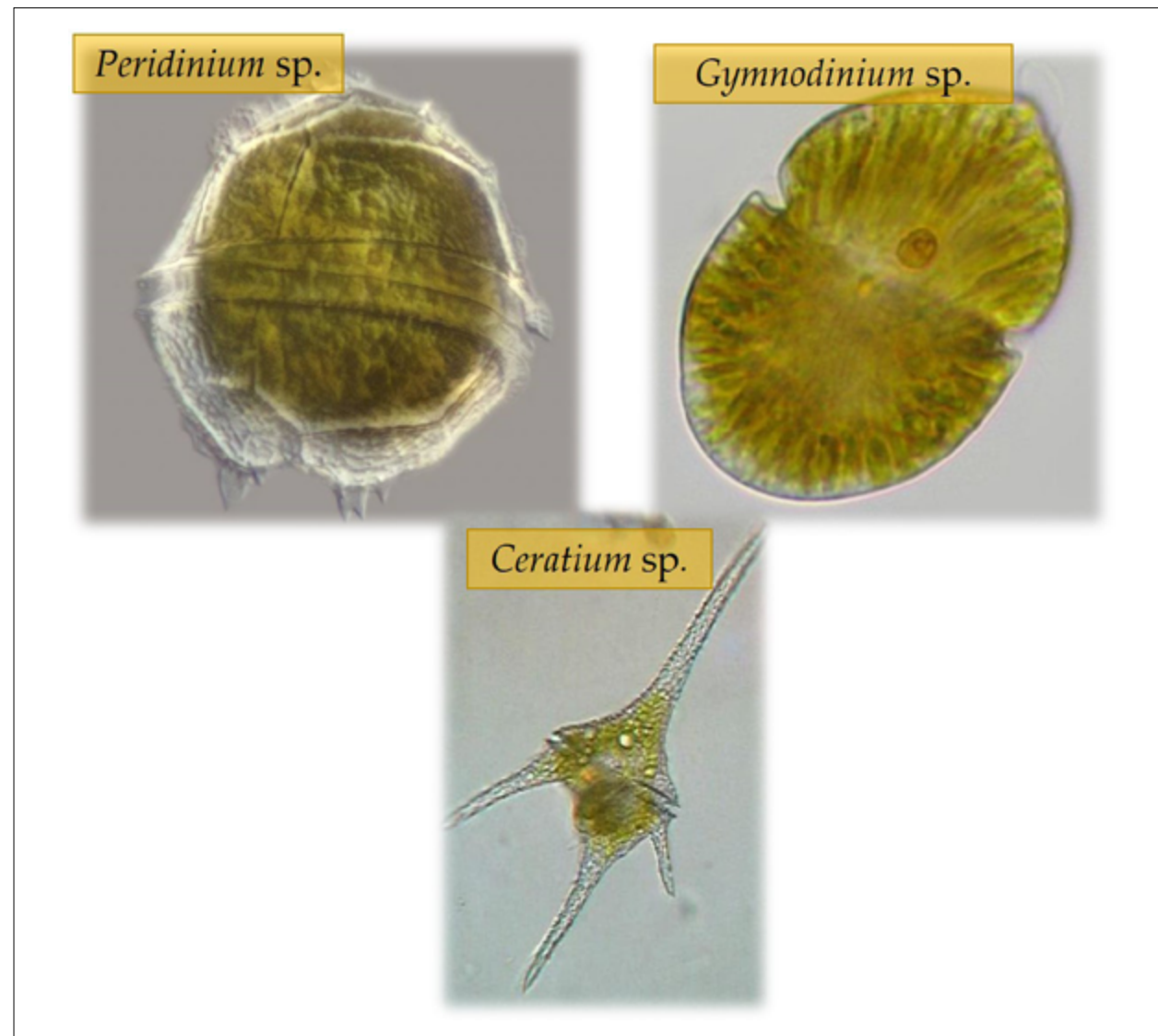


Figura 5: Dinoflagelados comunes en algunos ambientes fluviales.

Diatomeas (*Bacillariophyta*)

Las diatomeas son algas unicelulares que pueden formar pseudo filamentos o cadenas y llegar a distintos hábitats del río arrastradas por el agua. Esta estrategia hace que, a pesar de la heterogeneidad del río, ensambles de diatomeas que se desarrollan en ambientes de ecología semejantes sean también similares. En tal sentido hay diatomeas que viven en ambientes de aguas limpias y otras en aguas muy contaminadas, su fidelidad a estas condiciones permiten diagnosticar correctamente sitios con distintas condiciones ambientales.

Algunas características:

- Poseen clorofila-a, c1 y c2, carotenoides como el β -caroteno y diversas xantofilas,

como la fucoxantina, que le da el color verdeamarillento.

- Son unicelulares coccoideas, a veces agrupadas en colonias o pseudofilamentos.
- Como sustancia de reserva poseen crisolaminarina en vesículas en el citoplasma y lípidos.
- Lo característico en este grupo es la impregnación de la pared con sílice, dando lugar a un frústulo silicio. La pared celular está formada esencialmente por dos valvas, junto con varias estructuras de unión llamadas elementos cingulares o bandas conectivas, o cópulas. Todo el conjunto recibe el nombre de frústulo.

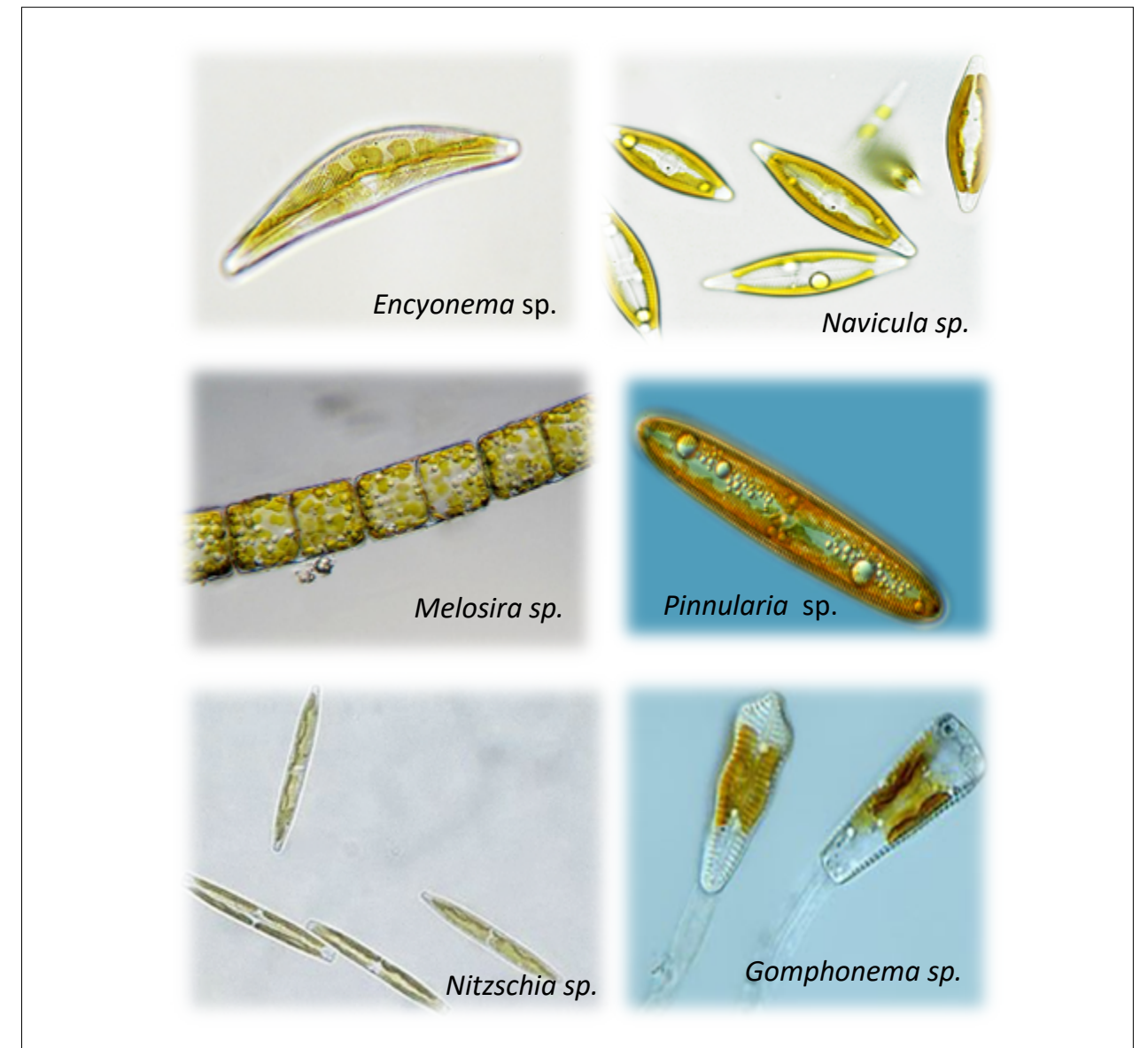


Figura 6: Algunas representantes de diatomeas bentónicas frecuentes en sistemas fluviales. Fuente: Nora Gómez

Muestreo de campo y conservación de muestras

Melina Devercelli

Elementos de campo

Se utilizan elementos citados en la sección "Materiales de colecta y equipo de muestreo". Específicamente para algas y cianobacterias suelen utilizarse los que se detallan a continuación.

Protección personal

- botas
- guantes de látex

Recolección de muestras

- redes de plancton (de 20 µm de apertura de malla)
- jeringas descartables / aspiradores
- cepillo de dientes (de preferencia con cerdas gruesas)
- cuchillo de plástico (o algún instrumento que permita el raspado del sustrato)
- frascos de plástico (con tapa a rosca, de cierre hermético)
- marcador indeleble
- fijadores / conservantes

Heladera portátil o conservadora provista de hielo o refrigerantes.

Materiales para el registro

- GPS
- cámara fotográfica
- lápiz y/o lapicera indeleble (para rotular las muestras)
- planilla o libreta de campo.

Recipientes

- Los recipientes para la toma de muestras pueden ser de vidrio o plástico (PET), preferentemente de boca ancha para evitar la desviación angular del agua y sesgos que afecten la recolección de los organismos de mayor tamaño. Los recipientes pueden reutilizarse una vez usados. Se deben lavar con agua y cepillo para desprender todas las partículas y organismos que podrían haber quedado adheridos y enjuagar con agua destilada o unas gotas de hipoclorito de sodio (lavandina). De lo contrario, se pueden dejar 24 h en ácido clorhídrico diluido al 20% y luego enjuagar con abundante agua. Además de los envases que comúnmente se comercializan, resultan útiles los recipientes para análisis clínicos, frascos de vidrio u otro tipo de recipiente que reúna características similares, e incluso botellas de agua mineral si se tratara de una emergencia. En el caso de las muestras para ADN ambiental, es conveniente que los recipientes sean estériles (como los recipientes para análisis clínicos) o estén autoclavados a 1 atm durante 20-30 minutos. Todos los recipientes deben identificarse adecuadamente con etiquetas y rótulos resistentes al agua y a solventes, como la acetona o el alcohol.

Red de fitoplancton

- Permite obtener una muestra concentrada de organismos para el análisis cualitativo del fitoplancton e identificación de especies. El diámetro del poro de la red más comúnmente empleado es de 25 µm, pero pueden emplearse redes de 10 a 30 µm de poro. Las muestras obtenidas con red no son adecuadas para la cuantificación ya que solo retienen una fracción del fitoplancton (aquellos organismos de mayor tamaño que el poro de la red). Algunas redes tienen un mango rígido que permite realizar recorridos en el agua para el filtrado,

mientras que otras poseen una soga para realizar lances y arrastres en el agua. Una vez utilizadas, se deben lavar lo antes posible con abundante agua y sumergirse unas horas en agua con hipoclorito de sodio diluido para una limpieza más profunda.

Botella de van Dorn horizontal y vertical

- Estos muestreadores permiten extraer muestras a mayor distancia o a distintas profundidades. La botella horizontal es útil cuando se requiere colectar la muestra a unos metros de distancia de donde se encuentra la persona, desde embarcaciones altas y en zonas ribereñas vegetadas. Si la velocidad de la corriente fuera elevada, no es posible emplear la botella horizontal. La botella vertical es útil cuando los muestreos se realizan desde un puente o para tomar muestras a distintas profundidades. Tanto la botella vertical como la horizontal poseen un tubo central de PVC transparente y un sistema de cierre que se activa con un disparador mensajero.

Baldes

- Son muy útiles cuando resulta difícil acceder en forma directa al agua debido a la altura de la embarcación, la turbulencia del agua, o bien, en pequeños ríos o arroyos que pueden ser muestreados desde puentes. Es conveniente adicionar un peso a la base del balde para favorecer su hundimiento.

Fijadores

Un buen fijador debe prevenir la degradación de la materia orgánica, permitir el reconocimiento de los organismos y minimizar su pérdida por el shock químico. A continuación, se señalan los más recomendados y fáciles de conseguir:

- Solución de Lugol: se emplea para periodos cortos de conservación (las muestras pueden guardarse durante algunos meses y en oscuridad).

Se pueden emplear dos tipos de soluciones:

Solución ácida de Lugol (Willen, 1962): disolver 100 g de Yoduro potásico en 1 litro de agua destilada, agregar 50 gr de cristales de yodo, mezclar hasta disolver y, por último, agregar 100 gr de ácido glacial acético; dejar decantar la solución antes de usar. El lugol acidificado, conserva adecuadamente a la mayoría de los organismos, excepto a las valvas poco silicificadas de las diatomeas y las escamas de Mallomonas. Aumenta el peso

específico de las células y facilita la sedimentación requerida para los conteos con microscopio invertido, y posee muy baja toxicidad. Posee la desventaja de ser sensible a la luz, por lo que las muestras deben almacenarse en oscuridad, y también la de teñir gran parte de los organismos de un color marrón oscuro. El lugol acidificado tiene una duración de 3 meses y debe almacenarse en frascos oscuros. Transcurrido ese tiempo es necesario renovar el ácido acético. Se utiliza a una concentración final del 1% en la muestra, o hasta que la misma adquiera color ámbar o caramelo. Al día siguiente de extraída la muestra se debe chequear que la coloración sea la adecuada ya que muestras con elevado contenido de materia orgánica o alta concentración de organismos pueden requerir adicionar unas gotas más. Pueden almacenarse en lugares frescos y la recomendación de mantenerlas refrigeradas hasta su observación es sólo a los efectos de disminuir la tasa de procesos que llevan a la reducción de la calidad de las muestras.

Solución alcalina de Lugol: se prepara igual que la mencionada anteriormente, solo que se agregan 100 gr de acetato de sodio ($C_2H_3NaO_2$) en lugar del ácido glacial acético. Se agregan entre 0,5-1 mL de Lugol yodado por cada 100 mL de muestra; esta cantidad puede variar dependiendo del contenido de materia orgánica presente. Se utiliza para la fijación en aguas alcalinas, es decir que tengan un pH mayor a 7.

- Formalina: es uno de los fijadores más efectivos en cuanto a la conservación de la muestra, especialmente si se quiere preservarla durante tiempos prolongados (años). Se deben tomar recaudos ya que se trata de un compuesto tóxico y la exposición prolongada es cancerígena. La formalina (formaldehído acuoso al 40%) se utiliza a una concentración final del 2 al 3% en la muestra. Las muestras fijadas con formalina se mantienen a temperatura ambiente y en oscuridad para preservar, en alguna medida, la auto-fluorescencia de las algas.
- Alcohol: solo si no se dispone de ninguno de los 2 fijadores anteriores, las muestras pueden conservarse con alcohol (97%) a una concentración final del 30%. El lugol debe adicionarse con posterioridad a las muestras cuantitativas para su observación con microscopio invertido.

Conservación y etiquetado de las muestras

- Muestras sin fijar (en vivo): mantenerlas en frío (entre 4 y 10 °C). En caso de que contenga una elevada cantidad de microorganismos

y materia orgánica, se puede diluir la muestra con agua del propio sitio antes de refrigerar. El tiempo máximo de conservación para poder realizar el procesamiento es de 12 horas, luego es necesario agregar un conservante; caso contrario, la muestra podría sufrir procesos que alteren su composición y la inutilicen para los estudios posteriores.

- **Muestras con conservantes:** una vez fijadas las muestras pueden ser conservadas durante un periodo más prolongado de tiempo. En lo posible guardar los frascos en lugares protegidos de luz y frescos.
- **Etiquetado:** todas las muestras deben estar correctamente identificadas. Se puede emplear un sistema de codificación para diferenciar las distintas muestras. En la etiqueta también debe figurar: fecha de recolección, tipo de taxocenosis (fitoplancton o perifiton, especificar cuál en caso de tratarse de muestras perifíticas), sitio y si es una muestra cualitativa o cuantitativa. Todas las muestras se toman por duplicado o triplicado, por lo que también hay que indicar número de réplica. Se emplea un marcador/rotulador indeleble, o se puede confeccionar las etiquetas previamente también con tinta indeleble y colocarlas en los frascos.

Ensamblajes de algas

Fitoplancton

Melina Devercelli

El fitoplancton es el ensamble de microalgas y cianobacterias que viven en suspensión en la columna de agua de los ecosistemas acuáticos. Son microorganismos autótrofos que, al igual que las plantas, requieren de la luz solar y los nutrientes para la vida. No obstante, ante la escasez de estos últimos, existen especies que pueden combinar la nutrición autotrófica con la heterotrófica. Poseen escasa movilidad que les impide contrarrestar la dirección de la corriente en los ríos por lo que son permanentemente arrastrados aguas abajo.

Los organismos que componen el fitoplancton son muy diversos en cuanto a tamaño, forma y fisiología. Las condiciones ambientales y la dispersión determinan qué especies estarán presentes en un ecosistema, con qué rasgos y en qué abundancia. Son sensibles a los cambios ambientales ante los cuales responden rápidamente por sus cortos tiempos generacionales (que varían de unas horas a unos pocos días). Estos cambios ambientales favorecen el desarrollo de algunas especies y perjudican a otras, y producen modificaciones en la composición y abundancia del ensamble fitoplanctónico.

Para diseñar el muestreo del fitoplancton fluvial, es fundamental tener en cuenta los siguientes aspectos:

- La **estacionalidad y el régimen hidrológico, y sedimentológico** del río influyen directamente sobre las características del fitoplancton, con especies y abundancias propias de cada período.
- El **cauce principal** de un río, generalmente, se encuentra conectado con otros ambientes (cauces, lagunas o ambientes de la llanura aluvial). Esa conectividad hidrológica es fundamental para mantener la dinámica del río y para intercambiar materiales y organismos. La influencia de estos ambientes varía según el caudal, la fase hidrológica y la dirección del flujo.
- En los ríos o tramos del río con **llanura aluvial**, la dimensión lateral cobra particular importancia para el desarrollo del fitoplancton. Las fluctuaciones hidrológicas determinan periodos de

mayor y menor conectividad entre los ambientes de la llanura y el cauce principal posibilitando el intercambio de agua y organismos.

- Las **márgenes del río** son zonas particularmente heterogéneas en donde suelen desarrollarse poblaciones de organismos diferentes a los del resto del cauce. En las márgenes se forman remansos o zonas “muertas” con muy baja velocidad de la corriente que favorecen la concentración de nutrientes, sustancias y microorganismos. También la caída de ramas, desarrollo de vegetación, acumulación de material orgánico o cambios en el sedimento favorecen el desarrollo de poblaciones algales diferentes.
- Los puertos, puentes estrechos, balnearios, efluentes, fábricas y cualquier otra construcción desarrollada en las márgenes del río, o que interfiera con el flujo principal, son consideradas **discontinuidades del paisaje** que es necesario tener en cuenta ya que pueden ocasionar modificaciones en el fitoplancton.
- El **cauce principal** (con excepción de algunas zonas de las márgenes), generalmente, se encuentra en mezcla permanente por lo que no es necesario tomar muestras en distintas zonas ni profundidades. No obstante, puede existir estratificación de la columna de agua en ríos con escasa pendiente y velocidad de la corriente en los cuales será necesario tomar muestras a distintas profundidades o una muestra integrada de la columna de agua.
- El fitoplancton que se encuentra en un sitio del río **proviene de aguas arriba**. Por lo tanto, lo que observamos en un sitio determinado, indica lo que sucede aguas arriba. Sólo en las márgenes o sitios con nula o muy escasa velocidad de la corriente, el fitoplancton es indicador de una situación local.
- Los organismos del fitoplancton, por su pequeño tamaño, poseen **altas tasas reproductivas**, lo cual tiene implicancia directa al momento de establecer la frecuencia de muestreo.
- El fitoplancton en **ríos pequeños y arroyos** puede tener un desarrollo menor ya que por el escaso tiempo de permanencia en la columna de agua suelen ser organismos propios del bentos o del biofilm o epifiton que se encuentran ocasionalmente formando parte del plancton (por ello se lo denomina ticoplancton). Sin embargo, aún en ríos y arroyos de poca profundidad, puede desarrollarse una

comunidad planctónica permanente. En esos casos, debe tenerse en cuenta durante la realización de los muestreos evitar el contacto con las comunidades bentónicas usando elementos de colecta adaptados a esa escasa profundidad o tomando las muestras con balde o bomba y filtrándolas posteriormente a través de redes.

Los sitios de muestreo y la cantidad de muestras deben definirse en función del objetivo, representatividad del estado del río, accesibilidad y seguridad. La cantidad de sitios y de muestras a tomar es un compromiso entre los recursos económicos, el tiempo disponible, la capacidad humana de análisis y la heterogeneidad del paisaje. Al llegar a la zona de muestreo, se debe realizar una observación visual que puede ir acompañada de un registro fotográfico o esquemas, a fin de caracterizar los siguientes aspectos:

- el tramo: sinuosidad del cauce, zonas de mayor y menor velocidad de la corriente, zonas de erosión y sedimentación de materiales, desarrollo de brazos e islas, presencia de barrancas y llanura aluvial, conexiones con otros ambientes acuáticos.
- las márgenes: desarrollo de vegetación, playas, cambios de coloración del agua, etc.
- las discontinuidades del paisaje: construcciones, puentes, efluentes, balnearios, etc.

A continuación, se señalan algunas opciones para la selección de los sitios en función de los objetivos (Fig. 1).

Si el objetivo contempla captar la **heterogeneidad espacial**: se debe realizar un muestreo en una transecta transversal del río en la cual los sitios se localizan en el centro (o en el talweg) y en las márgenes. También deben colectarse muestras en las discontinuidades del paisaje consideradas de interés según el objetivo del estudio. Tanto las márgenes como las discontinuidades son potenciales sitios para el desarrollo de organismos diferentes a los del flujo principal.

Si el objetivo es observar **cambios longitudinales**: los sitios de muestreo se localizan en el eje longitudinal del río aguas arriba, aguas abajo y en la fuente puntual de contaminación (por ejemplo, un efluente), o donde se encuentre el factor de disturbio o discontinuidad que pudiera estar ocasionando cambios en el fitoplancton (por ejemplo, estrechamiento del río, puente, modificación de las riberas). Los muestreos longitudinales se de-

ben realizar desde aguas abajo hacia aguas arriba. El sitio localizado aguas arriba cumple la función de actuar como control del estado del río, en ausencia de dicha fuente o discontinuidad. Los sitios localizados aguas abajo (dos al menos) permiten analizar el efecto de la fuente, agente o discontinuidad, y la capacidad de autodepuración que posee el río. Si el tipo de contaminación es difusa, se deberá prestar especial atención a la pendiente y a la cobertura vegetal de las riberas y regiones adyacentes al curso buscando representatividad de estas áreas.

Si el objetivo es identificar **cambios temporales**: la frecuencia de muestreo debe establecerse en función de la dinámica natural del sistema o de los factores antropogénicos que se quiera observar teniendo en cuenta la rápida respuesta de las algas por sus bajos tiempos generacionales. El fitoplancton es particularmente sensible a los cambios de temperatura y a las fluctuaciones hidrológicas del río. Durante los períodos estivales, se recomienda aumentar la frecuencia de muestreo, ya que los cambios en el fitoplancton se aceleran.

En algunos tramos del río, se suceden, longitudinalmente, angostamientos (de mayor profundidad) y ensanchamientos (de menor profundidad) con la formación de islas centrales y brazos. Los angostamientos resultan sitios ideales para la toma de muestras si lo que se pretende es observar el estado del fitoplancton como indicador de los cambios que suceden aguas arriba, ya que por ellos fluye gran parte del caudal de esa sección.

En río con profundidad mayor a 5 m, si se observa **estratificación** de la columna de agua como consecuencia de un gradiente **térmico**, se deben tomar muestras a distintas profundidades. Esto puede chequearse midiendo las diferencias de temperatura entre la superficie y el fondo del río. Deben realizarse mediciones en la columna de agua cada 1 m. Si se observan cambios de temperatura de 1 °C o más por metro, se considera que la columna de agua se encuentra estratificada.

Si bien no existe un **horario** de preferencia para realizar el muestreo, es conveniente mantener una misma franja horaria. Si se observan floraciones de cianobacterias, es conveniente realizar el muestreo durante la mañana cuando se encuentran más concentradas en la superficie, ya que estos organismos son capaces de migrar mediante el empleo de vesículas de gas que les permite regular la posición más conveniente en la columna de agua.



Figura 1: Esquema del río en planta con ejemplos de diseño de muestreo longitudinal y transversal. ejemplo de márgenes naturales e intervenidos por la actividad humana, que aportan a la heterogeneidad del hábitat ribereño. Fuente: Melina Devercelli

a. Obtención de muestras de fitoplancton Toma de muestras cualitativas

- Colocar la red en el curso de agua, contra la corriente y filtrar el agua durante aproximadamente 20-25 minutos.
- Enjuagar la red y extraer el contenido filtrado en un recipiente que contenga agua del mismo río/arroyo.
- Colocar el concentrado obtenido del filtrado en un frasco plástico opaco o en uno de vidrio color caramelo con una capacidad aproximadamente de 200 cc.

- Fijar la muestra.
- Etiquetar.

Muestras cuantitativas para recuento

- Tomar al menos 3 muestras de agua directamente del curso de agua, sin filtrar, empleando frascos plásticos con tapa hermética y llenarlos en un 90% para permitir, posteriormente, una homogeneización.
- Agregar el fijador.
- Etiquetar.



Figura 2: Pasos para el muestreo y conservación del fitoplancton. Fuente: María de los Angeles Taboada.

Muestras para el análisis de pigmentos (clorofila-a)

- Emplear recipientes opacos.
- Recoger un volumen de agua entre 0,5 a 2 litros de agua del sistema considerado. En general, en sistemas oligotróficos, es necesario filtrar un volumen mayor, mientras que en los eutróficos basta con un volumen pequeño.
- Mantener la muestra en frío y oscuridad.
- En el laboratorio proceder a su filtrado.

En el caso de los arroyos o ríos pequeños y poco profundos la colecta de la muestra puede realizarse accediendo al agua por tierra, mientras que en ríos medianos y grandes más profundos y anchos, las muestras se deben extraer desde una embarcación (detenida, nunca en movimiento) o puente. En el caso de los sitios localizados en las márgenes de estos últimos, se puede acceder por tierra, teniendo precaución de cambios en la pendiente y profundidad, y características del sedimento de fondo (puede resultar muy blando y ocasionar hundimientos). Si la coloración del agua resulta verdosa, o se observan cúmulos verdosos o existiera riesgo de contaminación, se deben utilizar guantes descartables.

Para extraer las muestras, se introduce el recipiente en forma directa en el agua, sub-superficialmente (a 20 cm de profundidad aproximadamente) y en el sentido contrario a la corriente. Si la toma se realiza accediendo a pie desde la orilla, se debe tener especial precaución de no remover el sedimento del fondo. Si se observa estratificación térmica de la columna de agua, deben tomarse muestras a

distintas profundidades con botella tipo van Dorn vertical. También puede utilizarse dicha botella o baldes si se dificultara colectar la muestra en forma directa.

Es importante homogeneizar el contenido del balde y botellas previamente al llenado de los recipientes definitivos. Los baldes, botellas y recipientes deben estar limpios y enjuagarse 3 veces con agua del ambiente a un costado del sitio de donde se extrae la muestra, para evitar disturbios.

Una vez obtenidas las muestras, se procede a la medición de los parámetros ambientales.

Tipos de muestras. Para tener un análisis integral del fitoplancton, es necesario recolectar distintos tipos de muestras (Tabla 1), cada una de las cuales posee particularidades en cuanto a **volumen, recipiente y fijación**. La adición del fijador y rotulación de las muestras se debe realizar inmediatamente a la extracción de las mismas. Las muestras se trasladan refrigeradas (en heladeras portátiles con hielo o refrigerantes) al laboratorio o sitio de procesamiento. Solo las muestras fijadas pueden trasladarse a temperatura ambiente, si estas no fueran muy elevadas, y protegidas de la luz.

Muestra cuantitativa del fitoplancton y para el análisis particular de cianobacterias. Permiten estimar la densidad del fitoplancton y de las especies que lo componen, ya sean microalgas o cianobacterias. Es conveniente utilizar recipientes de vidrio para su obtención ya que el fijador que se utiliza para su conservación, el lugol, es absorbido por ciertos tipos de material plástico.

Muestra cualitativa del fitoplancton o muestra de red. Se utilizan para el análisis cualitativo del

fitoplancton e identificación de especies. Estas muestras se obtienen con red, por lo que no resultan adecuadas para cuantificar ya que solo retienen una fracción del fitoplancton (aquellos organismos de mayor tamaño que el poro de la red).

Muestra de fitoplancton sin fijar. Resultan útiles para realizar cultivos celulares o para observar los movimientos y coloración de las algas vivas, lo cual facilita algunas identificaciones taxonómicas. Puede obtenerse con red o en forma directa. Es muy sensible a la luz y debe mantenerse refrigerada o entre 10 y 15° C.

b. Laboratorio Muestra cuantitativa del fitoplancton

Para la cuantificación del fitoplancton es necesario tener experiencia en la identificación de los organismos y emplear microscopios con una resolución óptica que permita una magnificación apropiada para observarlos. Solo las células que estaban vivas al momento de tomar la muestra son las que se cuentan, para lo cual puede tomarse como referencia que posean cloroplastos y membranas celulares en buen estado. A continuación, se describen dos métodos de cuantificación del fitoplancton.

Método de cuantificación por sedimentación de la muestra (Utermöhl 1958). Es el más recomendado para la cuantificación del fitoplancton. Se requiere de microscopio invertido con aumento de 400x (al menos) y cámaras de sedimentación con sus respectivas columnas de distintos volúmenes (5, 10, 50 mL), vidrio grueso para tapar las columnas y vidrio fino para desplazar las columnas, y utilizar como cubreobjetos (Fig. 3). Las muestras deben estar fijadas con lugol para aumentar el peso específico de los organismos y a temperatura ambiente para evitar la formación de burbujas indeseadas en el fondo de la cámara.

Los pasos a seguir para la preparación de la muestra son:

- Homogeneizar la muestra agitando con movimientos en forma de "ocho" durante 30 segundos.
- Seleccionar una columna de sedimentación según el volumen de muestra a procesar. Montar la columna sobre la cámara de sedimentación, completarla con la muestra homogeneizada y taparla con el vidrio grueso de manera que genere presión para evitar el derrame del líquido (Fig. 3). El volumen de muestra a sedimentar dependerá de la concentración de organismos en el ambiente. Si la muestra es-

tuviera muy concentrada, pueden realizarse diluciones que se deben tener en cuenta al momento de realizar el cálculo final. Si la concentración de organismos fuera baja, se utilizan columnas para más volumen de manera de concentrar un mayor número de organismos en el fondo de la cámara. El tiempo de sedimentación depende del volumen y alto de la cámara, aunque pueden dejarse de un día para el otro. Para cámaras de 2 mL y 0,5 cm de alto: 3 h de sedimentación; 10 mL y 2 cm: 8 h; 50 mL y 10 cm: 24 h.

- Transcurrido el tiempo de sedimentación, retirar la columna con el sobrenadante, desplazándola con el vidrio más fino (Fig. 3), y colocar la cámara con la muestra sedimentada en el microscopio invertido para su observación.

La cuantificación del fitoplancton se realiza con aumento de 400x, aunque la cuantificación de organismos de tamaño celular grande puede realizarse a 200x. Antes de iniciar el conteo, se debe realizar una observación general de la cámara a fin de chequear que el volumen de muestra sea el adecuado. En primer lugar, el número de organismos por campo tiene que ser tal que no dificulte la observación por exceso o deficiencia. La distribución de los organismos debe ser homogénea a simple vista. Si la mesada tiene una leve pendiente o se forman burbujas, o se deposita algún material de gran tamaño, la distribución podría verse groseramente sesgada hacia uno de los lados de la cámara. Por último, si la muestra contiene material inorgánico que dificulta la observación de los organismos, se deberá sedimentar un volumen menor de muestra y contar más campos e incluso más cámaras. Puede suceder que las vesículas de gas de organismos no colapsen y que se mantuvieran en suspensión; en tal caso, se deberá mover el tornillo macrométrico del microscopio para observar los distintos estratos de la cámara de sedimentación.

Las cámaras se recorren con el objetivo del microscopio realizando transectas verticales u horizontales evitando los bordes (Fig. 3). Dentro de dichas transectas, todos los organismos observados en campos al azar se identifican y enumeran. Se debe registrar el número de campos observados, los organismos identificados y la cantidad de veces que se observó cada organismo.

Los organismos se enumeran considerando como unidad el número de células. Se debería alcanzar al menos 100 individuos de la especie más frecuente. En algunas ocasiones, no es posible seguir este criterio por tener una baja densidad algal o una alta concentración de sedimentos. En ese caso, se

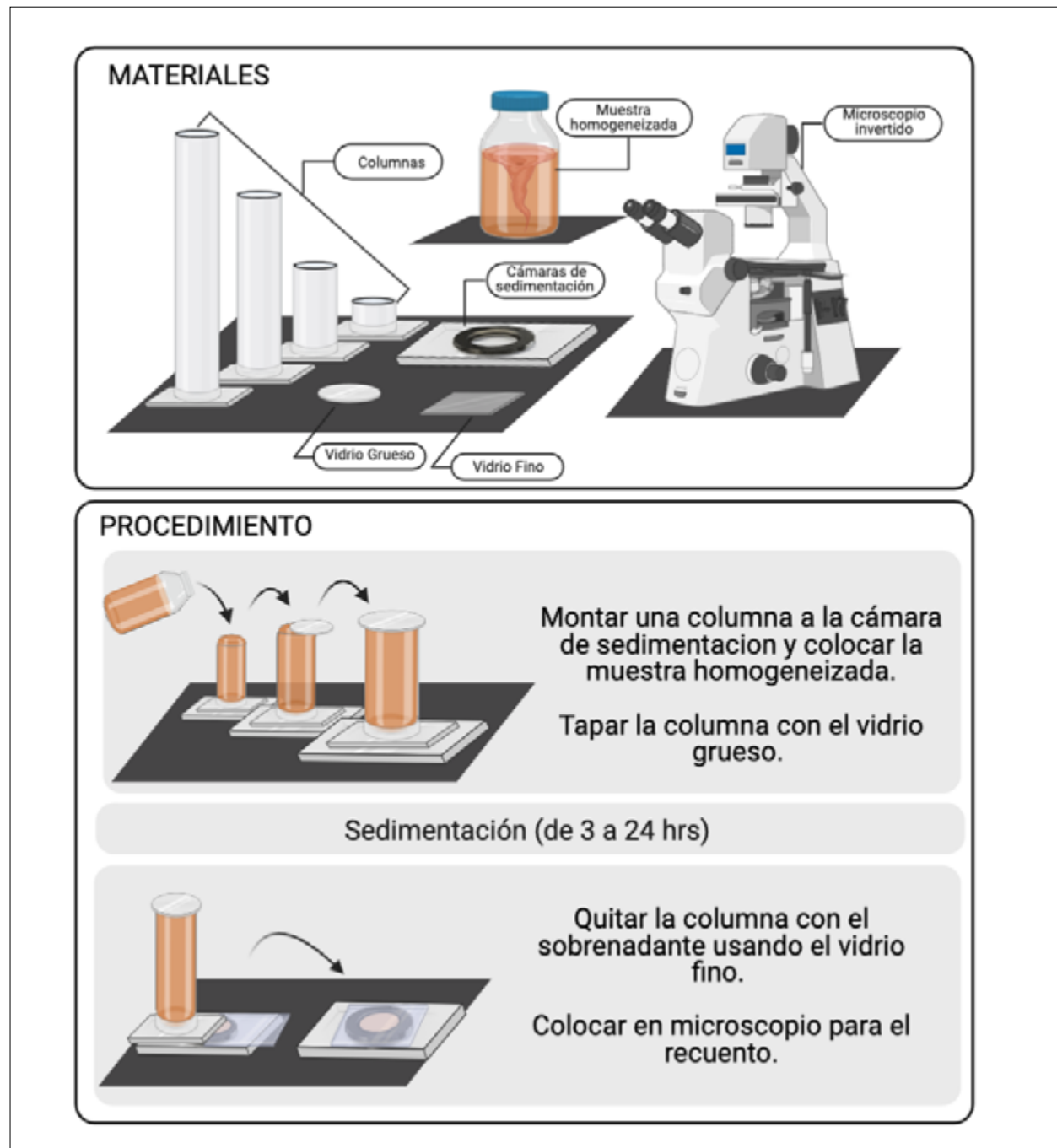


Figura 3: Pasos para la preparación de las muestras a observar en microscopio invertido. Fuente: Paula Huber

cuentan 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%. A veces es necesario contar varias cámaras para completar el procedimiento. En el caso de las cianobacterias, también debe cuantificarse el número de células por colonia o filamento (ver apartado Cianobacterias). Para estimar la densidad del fitoplancton, se calcula un factor con el área de la cámara, el área de los campos observados, la cantidad de campos con-

tados y el volumen de muestra sedimentado, que se multiplica por el número de organismos (expresados como individuos o células). La densidad se expresa como organismos por unidad de volumen: individuos por mililitro (ind/mL). La cuantificación particular de cianobacterias para la comparación con los niveles guía se expresa como células por mililitro (cél/mL) (ver apartado Cianobacterias).

Método de cuantificación con cámara de Sedgwick-Rafter. Esta cámara (Fig. 4) tiene capacidad para un volumen fijo de muestra, generalmente de

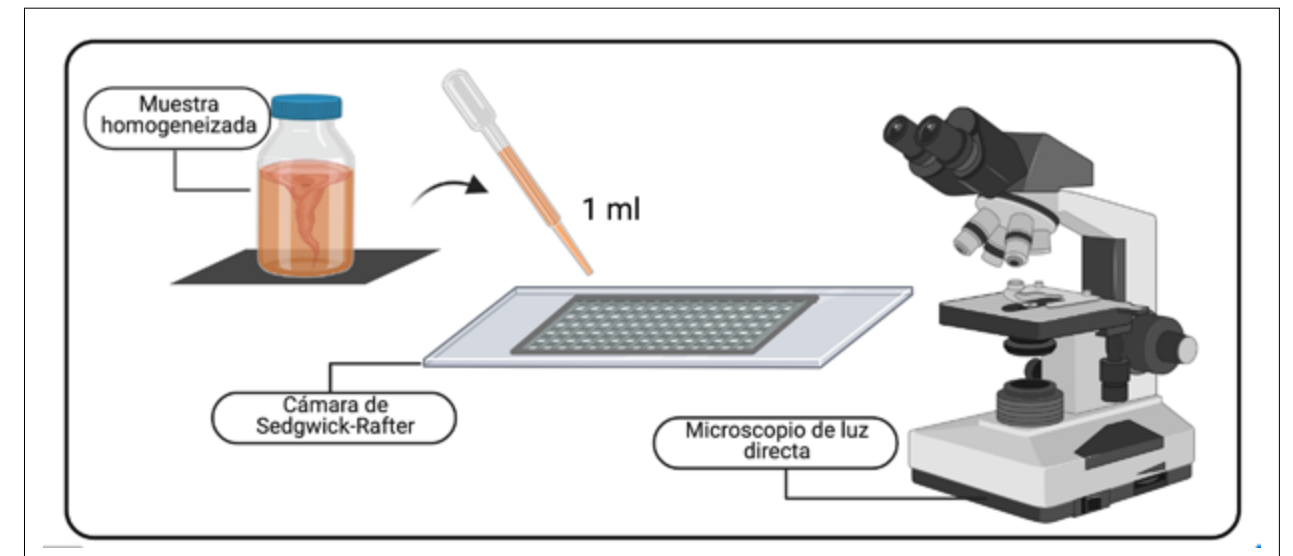


Figura 4: Esquema de método de conteo mediante cámara Sedgwick-Rafter. Fuente: Paula Huber

1 mL, y para su observación se utiliza microscopio de luz directa con aumentos de 200x, 400x. Luego de homogeneizar la muestra, se utiliza una pipeta Pasteur para submuestrear 1 mL de la muestra original. La cámara se observa con microscopio de luz directa, realizando recorridos de transectas horizontales en las cuales se enumeran e identifican todos los organismos como unidades naturales o individuos, o células según el objetivo. La estimación de la densidad se calcula teniendo en cuenta el área de cada transecta, el número de transectas y el volumen de la cámara.

Este método conlleva un error mayor que el anterior. Sin embargo, si se realizan varios conteos por cámara, puede calcularse cuál es el error con el que se expresan los resultados.

Muestra de fitoplancton sin fijar. Esta muestra es necesario mantenerla en oscuridad y refrigerada (4-10°C) con un tercio del recipiente vacío para permitir el intercambio de gases. Se debe observar antes de las 12-24 h ya que el fitoplancton puede ser consumido por predadores o atacado por bacterias y virus. No obstante, algunos organismos, como las cianobacterias, pueden mantenerse vivos por varios días entre 10 y 15° C.

Cálculo del biovolumen. El biovolumen es una estimación de la biomasa del fitoplancton. Puede calcularse para especies particulares o para el fitoplancton total (sumatoria de los biovolúmenes de todas las especies que componen el fitoplancton). A diferencia de la densidad, considera las dimensiones y la forma de los organismos. En el caso de las cianobacterias, resulta particularmente relevante para comparar con los niveles guía.

Para el cálculo del biovolumen es necesario contar con una regla micrométrica calibrada montada en el ocular del microscopio. Se realizan mediciones de las dimensiones celulares a 20 o 30 individuos de las morfoespecies que se encuentran en mayores densidades, y se calcula el volumen medio por aproximación a la forma geométrica más cercana (Hillebrand *et al.* 1999; Olenina *et al.* 2004) (Fig. 4). Luego se multiplica el volumen medio de cada morfoespecie por su densidad. Los resultados se expresan en milímetros cúbicos por litro (mm^3/L) o micrómetros cúbicos por mililitro ($\mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$). Las estructuras celulares como espinas, setas, verrugas, vainas de mucílago y flagelos no se incluyen en el cálculo del **biovolumen**.

c. Almacenamiento de las muestras

Si el monitoreo estuviera sujeto a un procedimiento judicial, las muestras deben conservarse en su totalidad. De lo contrario, se puede optar por conservar las muestras de algunos de los sitios que resultaran más representativos del estado del río o almacenar una alícuota para tener un registro histórico, para realizar análisis posteriores. Se puede optar por conservar una muestra cuantitativa en recipientes de menor volumen previa homogeneización de la muestra original o reducir la muestra eliminando el sobrenadante y recolectando el material depositado en frascos más pequeños, previa sedimentación de la muestra durante 24 h.

Los recipientes deben estar herméticamente cerrados y, en el caso que no lo estuvieran, puede sellarse la tapa con teflón o colocarse un plástico blando entre la tapa y la rosca para evitar la evaporación.

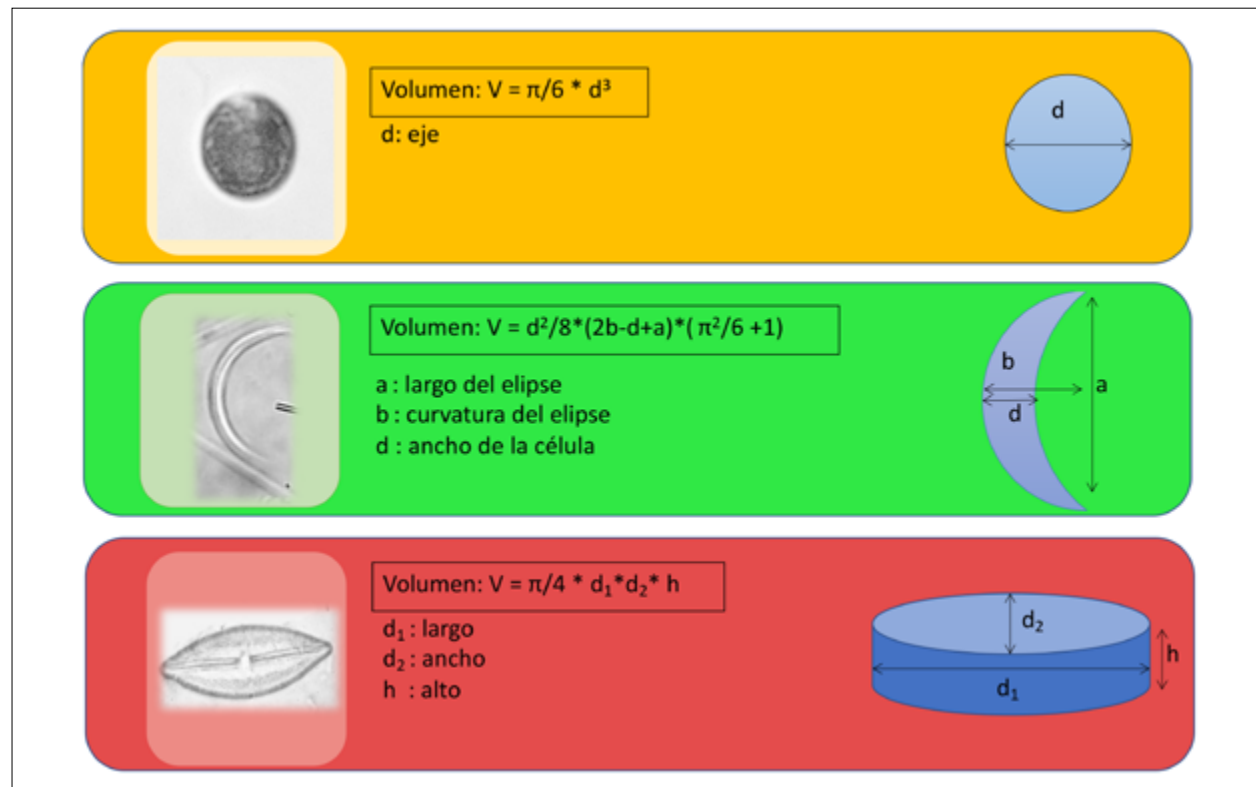


Figura 5: Ejemplos para el cálculo del biovolumen. Fuente: Melina Devercelli

Tipo de muestra	Volumen	Recipientes	Fijador	Traslado	Almacenamiento
Clorofila-a	500-1000 mL	Vidrio o PET Oscuros (1) Boca ancha	Sin fijador	Refrigerada	Filtrar antes de 24 h. Luego, freezar filtro
Cianotoxinas	300-1000 mL	Vidrio o PET Boca ancha	Sin fijador	Refrigerada	Freezar
ADN ambiental (3)	100-300 mL	Vidrio o PET Boca ancha (4)	Sin fijador	Refrigerada	Filtrar antes de 24 h. Luego, ultrafreezar filtro
Cuantitativa: Fitoplancton Cianobacterias	100-300 mL	Vidrio (pref.) o PET Boca ancha	Lugol acidificado 1% (color caramelo)	Refrigerada	En oscuridad. Refrigerada o lugar fresco
Cualitativa (red) Fitoplancton Cianobacterias	100 mL aprox. con red	Vidrio o PET	Formalina 2-3% ó alcohol (2)	Refrigerada	En oscuridad.
Muestra viva (3)	Opcional	Vidrio o PET	Sin fijador	Refrigerada	Refrigerada o a 10-15°C, 24 h, o más, dependiendo de los organismos

Tabla 1: Volúmenes, tipos de recipientes y condiciones de almacenamiento para las distintas muestras. (Refrigerada 4°C, freezada -17, ultrafreezada -80)

- (1) La clorofila es sensible a la luz por lo que los recipientes deben evitar el paso de la misma.
- (2) La fijación con alcohol posee la ventaja de que la muestra puede también utilizarse para análisis moleculares.
- (3) Opcional.
- (4) Preferentemente autoclavados o estériles.

d. Indicadores del fitoplancton

Si bien la bioindicación de las algas está basada en las especies, también es posible distinguir morfoespecies, grandes grupos taxonómicos o rasgos que indiquen respuestas a las condiciones y cambios ambientales. Incluso, el poder indicador del fitoplancton puede realizarse a diferentes niveles: comunitarios, de grandes grupos, especies, diversidad general o índices específicos. Cuando no existan valores guías, como para el caso de las cianobacterias o categorías, es muy importante compararlo con los valores de zonas no afectadas o momentos previos al disturbio. Los principales indicadores pueden clasificarse de la siguiente manera:

Indicadores comunitarios. La Clorofila-a (ver apartado Clorofila) y el biovolumen total del fitoplancton son indicadores de la biomasa que se relacionan con el estado trófico (por la capacidad de capturar nutrientes), la captación de la luz y la temperatura. Por ello, ambientes con muchos nutrientes (eutróficos) suelen tener valores más altos de biomasa algal, tanto si se estima como clorofila-a o como biovolumen.

Indicadores a nivel de rasgos. Un rasgo es una característica que refleja la adecuación del organismo al ambiente, de manera tal que se relaciona con los factores ambientales. Los rasgos pueden ser de distintos tipos (morfológicos, fisiológicos, ecológicos, etc.) y niveles (individuales, poblacionales, comunitarios). Por ejemplo, **los grupos fisiognómicos** (Reynolds 1984) son una

clasificación basada en grandes rasgos; se relaciona con la capacidad de captar luz y nutrientes, y el grado de flotabilidad de los organismos, que se clasifican en:

- unicelulares flagelados,
- unicelulares no móviles,
- filamentos,
- colonias o cenobios.

La **clasificación funcional basada en morfología**, propuesta por Kruk (2010), se basa en la diferenciación de rasgos fácilmente observables al microscopio. Las entidades observadas se clasifican en 7 grupos funcionales con características, respuestas y preferencias ambientales particulares (Fig. 1). Posee la ventaja que puede ser aplicada por personas con poca experiencia en la identificación del fitoplancton. Esta clasificación es muy adecuada para encontrar patrones generales del fitoplancton y a escalas geográficas amplias, pero para su aplicación en ríos es conveniente realizar mayores discriminaciones dentro de los grupos para que reflejen más adecuadamente ciertas situaciones ambientales, como las que se proponen en el apartado siguiente.

Combinación de rasgos, grandes grupos taxonómicos y especies. Dado que la aplicación de la clasificación funcional al estudio del fitoplancton lóxico basada en morfología (Kruk 2010) resulta

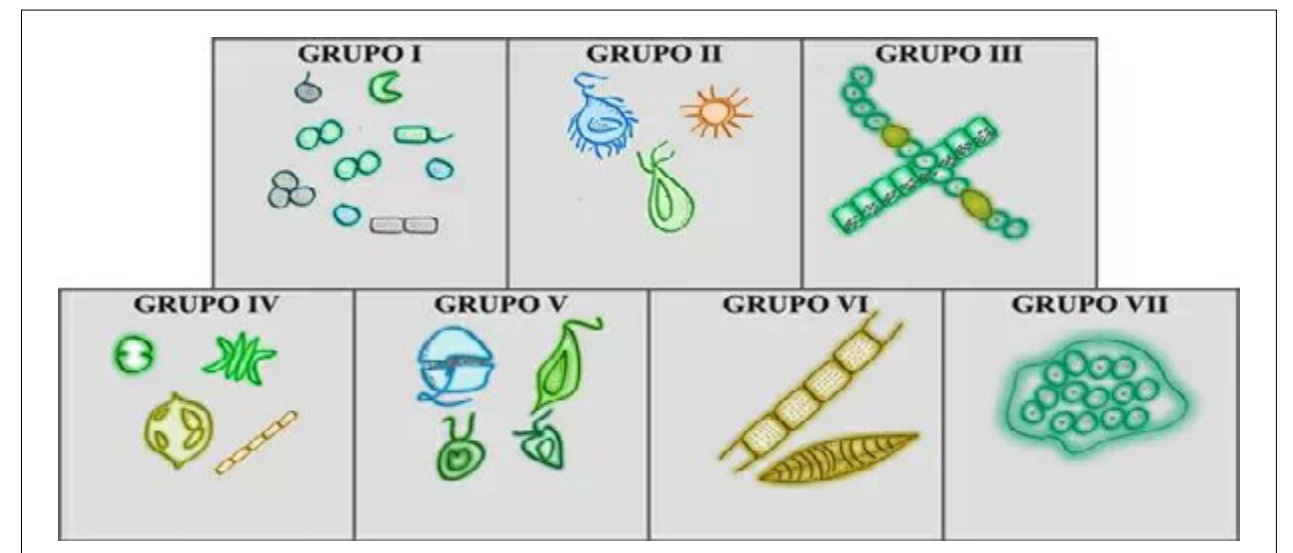


Figura 6: Propuesta para la identificación del fitoplancton de ríos, modificada de la clasificación de Kruk (2010). Grupo I: Organismos pequeños con alta relación superficie/volumen; Grupo II: Organismos pequeños, flagelados con estructuras silíceas en el exoesqueleto; Grupo III: Organismos pequeños con aerotopos; Grupo IV: Organismos medianos sin rasgos distintivos; Grupo V: Organismos flagelados de tamaño mediano a grande; Grupo VI: Organismos no flagelados con esqueletos silíceos; Grupo VII: Grandes colonias mucilaginosas.

muy general, aquí se propone subdividir 3 de los grupos originales y combinarlos con la identificación de géneros y especies a fin de obtener una indicación más fina. No obstante, es necesario continuar realizando estudios para validar cómo varían determinados rasgos y clasificaciones de las algas a través de gradientes ambientales para poder implementarlos en el biomonitoreo de ríos de la región.

Indicadores que utilizan grupos taxonómicos.

Existen diversos índices de calidad de agua que emplean a las microalgas. Dentro de los índices más antiguos que emplean el fitoplancton, están los de Nygaard (1949), los cuales establecen relaciones entre el número de taxones de algas planctónicas de ambientes oligotróficos y el número de taxones de aguas eutróficas. Si las primeras predominan, se espera que el agua sea de buena calidad, y si lo hacen las segundas, las condiciones del agua pueden ser malas. Los índices propuestos por Nygaard no tienen en cuenta las abundancias de los grupos, por lo cual Barbe *et al.* (1990) propusieron un índice trófico planctónico (ITP) que considera los grupos taxonómicos del fitoplancton encontrados en una muestra, su abundancia relativa y los valores de clorofila-a.

Este índice se basa en las proporciones de los biovolúmenes de los distintos grupos taxonómicos:

$$ITP = \frac{D + 0,1 * Cr + Cc + 2 * (Dc + Chc) + 3 * Vc + 4 * Cia}{I + 2 * (D + Cnc) + Chnc + Dnc}$$

D: dinoflagelados, Cnc: Crisofitos no coloniales, Chcn: clorococales no coloniales, Dnc: diatomeas solitarias, Cr: criptofitos, Cc: crisófitos coloniales, Dc: diatomeas coloniales, Chc: clorococales coloniales, Vc: volvocales coloniales.

Si bien estos índices se desarrollaron para aplicar en lagos, se realizó su adaptación en ambientes lóticos de noroeste argentino; por ejemplo, para el río Gastona (Tucumán) se emplearon algunos índices desarrollados para el fitoplancton lacustre por Nygaard (1949), a fin de utilizar todos los grupos taxonómicos:

Índice compuesto = cianofitas + clorococales + centrales + euglenales/desmidiales

Índice Clo/Des = clorococales/desmidiales

Índice Ce/Pen = Centrales/Pennales

Índice Euglenal = euglenales/cianofitas + clorococales

Si el valor fuese <1 se trataría de agua probablemente oligotrófica y > 1 sería eutrófica (Patrick, 1973; Wetzel 1981).

La información detallada se encuentra en: Miranda, V. 2001. *Dinámica del Fitoplancton del Río Gastona (Tucumán, Argentina) en relación a la Calidad de sus aguas*. Tesis Doctoral. FCN e IML, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. 271 pp.

NOTA: la nomenclatura de los grupos puede haber cambiado por lo que se recomienda consultar la base de datos: <https://www.algaebase.org/>

También se pueden analizar las diferentes taxocenosis algales mediante diversos índices ecológicos, que si bien no establecen categorías de la calidad de los ecosistemas fluviales, pueden brindar, en cambio, información complementaria:

- Índice de Diversidad (H') de Shannon y Wiener se basa en la estructura de la comunidad y es una medida que integra el número de taxones (o especies) y la distribución de sus abundancias o densidades.
- Índice de Kothé (Schwoerbel, 1975) de déficit de taxones considera el número total de especies, el cual decrece de manera sustancial bajo la influencia de contaminación. Solo el número total de especies es importante y no de qué especie se trate. Si aceptamos que cada muestra se estudia de la misma manera, el déficit de especies se puede calcular con la siguiente fórmula: $F = (A1 - Ax / A1) \times 100$.
- Donde A1: n° de especies (riqueza) del sitio que se toma como referencia o menos impactado, es decir corresponde a las muestras aguas arriba del tramo contaminado. Ax: es la riqueza de especies del sitio contaminado.
- El valor se da en porcentaje y fluctúa entre: 0% = ningún déficit de especies y 100% = pérdida total de especies.
- Índice de equitatividad (E ó J): se define como el grado de igualdad en la distribución de la abundancia de los taxones de una comunidad.

Indicadores que utilizan especies de algas y cianobacterias. Entre los principales se encuentran:

Cianobacterias: su presencia y abundancia puede ser, en ciertos casos, indicadora de pro-

cesos de eutrofización, deterioro de la calidad del agua y cambios en las condiciones hidráulicas e hidrológicas de los ríos. Para este grupo pueden considerarse distintos atributos como densidad, biovolumen, número de células, presencia de especies potencialmente tóxicas y desarrollo de floraciones (ver apartado Cianobacterias).

- Euglenoideos: los géneros *Euglena*, *Phacus* y *Lepocinclis* y algunas especies de *Trachelomonas* y *Strombomonas* son indicadoras de altas concentraciones de materia orgánica y cambios hidrológicos en los ríos.
- Dinoflagelados: el género *Ceratium* es considerado invasor en Sudamérica y se encuentra frecuentemente en ambientes que han sufrido alteraciones antropogénicas. Este género puede desarrollar floraciones y la presencia de las mismas estaría indicando una modificación severa de la diversidad del ambiente por factores múltiples.
- Empleo de ensamblajes fitoplanctónicos: Sathicq *et al.* (2017) realizaron una propuesta validada para el estuario del Río de la Plata de 24 especies pertenecientes a los grupos de cianobacterias, clorofitas, diatomeas y euglenoideos, que resultan indicadoras del deterioro de la calidad del agua.

Consideraciones generales

Antes de utilizar un índice por primera vez en un área, es necesario hacer una evaluación previa del índice, analizando si las características de los sistemas acuáticos de la región en la que se creó el índice son similares a las de los sistemas acuáticos en los que deseamos aplicar el índice en cuestión. Una vez calculado el índice, se recomienda una validación de los resultados obtenidos con las correspondientes variables físico-químicas consideradas para su creación (es necesario que se midan estas variables la primera vez que se aplica un índice foráneo en una región).

Es importante que los taxones dominantes presentes en la región estén también representados en el índice, es decir, que cuenten con valor indicador.

La correcta aplicación de los índices requiere de la participación de un técnico entrenado en la identificación taxonómica.

Bentos y sustratos sumergidos

Nora Gómez y Magdalena Licursi

Es una microcomunidad que recubre diferentes tipos de sustratos sumergidos (Fig.1), que está compuesta por microalgas, bacterias, hongos y protozoos inmersos en una matriz de



Figura 1: Esquema del biofilm fluvial con las microalgas que lo componen. Fuente: Nora Gómez y Magdalena Licursi

polisacáridos. De acuerdo al tipo de sustrato que revisten se emplearán los términos: epipelon, cuando colonizan sedimentos con predominio de limos y arcillas; episamon, cuando coloniza sustratos arenosos; epilimon, cuando revisten rocas y epifiton, cuando recubren plantas. También se puede desarrollar sobre sustratos artificiales de distinta naturaleza.

En un mismo río puede haber distintos ensambles o comunidades de organismos de acuerdo al tipo de sustrato con el que estén relacionados. Para realizar un monitoreo adecuado, puede reunirse la información que provean todos ellos o elegir la comunidad más representada y volver a tomar muestras del mismo tipo de comunidad en cada oportunidad en que se realicen nuevos muestreos, con el objetivo de poder analizar sus cambios.

Epipelon

- Se emplean aspiradores, jeringas cortadas o sacabocados con una superficie muestral conocida (ej.: 1 cm²) que permiten extraer los primeros 5-10 mm de la capa superficial del sedimento.
- La profundidad recomendable para la extracción de las muestras es de no menos de 10 cm de la superficie del agua.
- Las unidades muestrales se extraen al menos por quintuplicado. Una parte del material colectado es fijado y la otra parte se conserva viva para examinar el estado fisiológico de las células (movilidad, estado de los cloroplastos, núcleos, etc) y medir la clorofila-a (Fig. 2).

Epilimon

Se recomienda tomar muestras de comunidades algales que se desarrollan sobre sustratos duros y estables ubicados en zonas sumergidas del lecho fluvial: rocas o cantos rodados de un tamaño mínimo de 10 x 10 cm. En caso de no encontrarse estos sustratos, se puede tomar la muestra de otras estructuras sumergidas, y del tamaño recomendado, como pilares de puentes o paredes. Se pueden tomar muestras de superficies artificiales como ladrillos o tejas, siempre y cuando hayan permanecido al menos dos meses en ese sitio (tiempo estimado para la colonización y maduración de la taxocenosis algal; este tiempo puede ser variable dependiendo de otros factores abióticos).

- Seleccionar como mínimo 5 rocas o, en caso de ser de un tamaño más pequeño, se pueden elegir hasta 10. Siempre seleccionar las rocas de zonas sumergidas, en porciones soleadas y con aguas corrientes.
- Eliminar, agregando un poco de agua y de manera suave, cualquier tipo de detritos que se encuentren adheridos a los sustratos.
- Se puede emplear una plantilla de acetato del tamaño previamente determinado (10 x 10 cm) que se coloca sobre el sustrato; luego, se procede a cepillar (o a raspar con cuchillo) la superficie determinada. Se debe limpiar como mínimo una zona de 10 cm² por roca (20 cm² en caso de emplear 5 rocas). La superficie total de muestreo será de unos 100 cm².

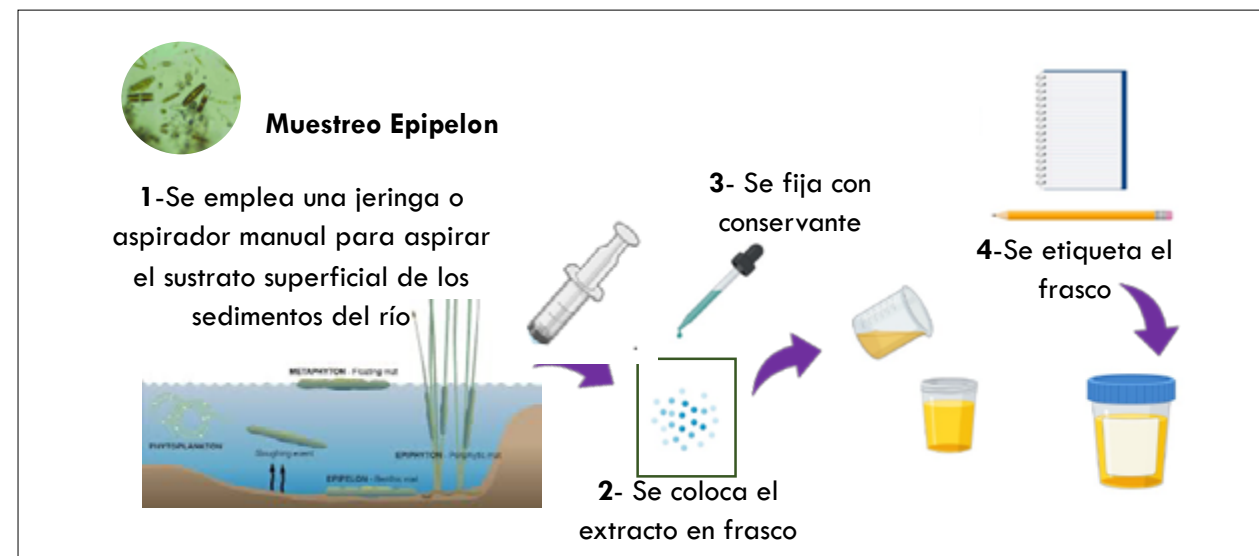


Figura 2: Pasos del muestreo sobre sustratos limosos o arcillosos. Fuente: María de los Ángeles Taboada

- Al ir colocando y lavando el extracto raspado con cepillo en un recipiente con 100 mL de agua destilada, el agua se tornará de color amarronado-verdoso.
- Proceder a etiquetar la muestra, emplear el fijador considerado (formaldehído, lugol o etanol) y cerrar correctamente el frasco para evitar derrames.
- Sustratos artificiales: se pueden colocar en los sitios, siempre y cuando se retiren una vez realizado todo el muestreo. Es preferible utilizar sustratos con superficies heterogéneas (ladrillos, tejas, cuerdas de propileno, etc) y lisas (por ejemplo, portaobjetos de vidrio). Es necesario insertarlos en los sistemas acuáticos un tiempo suficiente para que se realice la colonización. Se recomienda entre 7-8 semanas, sin embargo, el periodo de exposición varía con las condiciones ambientales. Debe tenerse en cuenta el diseño y la ubicación de los sustratos; asimismo, es importante colocar réplicas para minimizar el riesgo de pérdida por crecidas o vandalismo. Siempre considerar que todos los sustratos ingresados estén expuestos a las mismas condiciones y a la misma fecha de introducción. Se procede igual que con los sustratos "naturales": raspado de las superficies y lavado con agua destilada en un volumen de 100 cc.

En el caso de que se quiera medir la clorofila-a, no fijar la muestra (dado que los conservantes degradan los pigmentos), conservarla en frío y oscuridad hasta llegar al laboratorio. Ahí, se separarán 50 mL que serán filtrados para determinar la biomasa epilítica. A los restantes 50 mL, se le agregará el fijador (Fig. 3).

En el caso de sistemas vegetados, se puede extraer el epifiton a partir de macrófitos y macroalgas sumergidas y/o partes sumergidas de helófitos.

- Macrófitos sumergidos: retirar la planta entera (en caso de que sea de un tamaño pequeño) o cortar una parte de la misma empleando un cuchillo o tijera y colocarla dentro de una bolsa plástica. Se seleccionarán 5 réplicas.
- En el laboratorio se deben lavar y agitar las plantas (aproximadamente 2 minutos) en un vaso de precipitado que contenga agua destilada. Para extraer la taxocenosis epifítica, se puede emplear la ayuda de un pincel pequeño. Otro método para desprender las algas epifitas consiste en colocar la muestra en recipientes de vidrio dentro de una lavadora ultrasónica y aplicar de 3 a 5 períodos de un minuto con ultrasonido. Tiempos mayores suelen dañar las algas que pretendemos extraer.
- Conservar el extracto y fijar con el conservante seleccionado. (Fig.4)

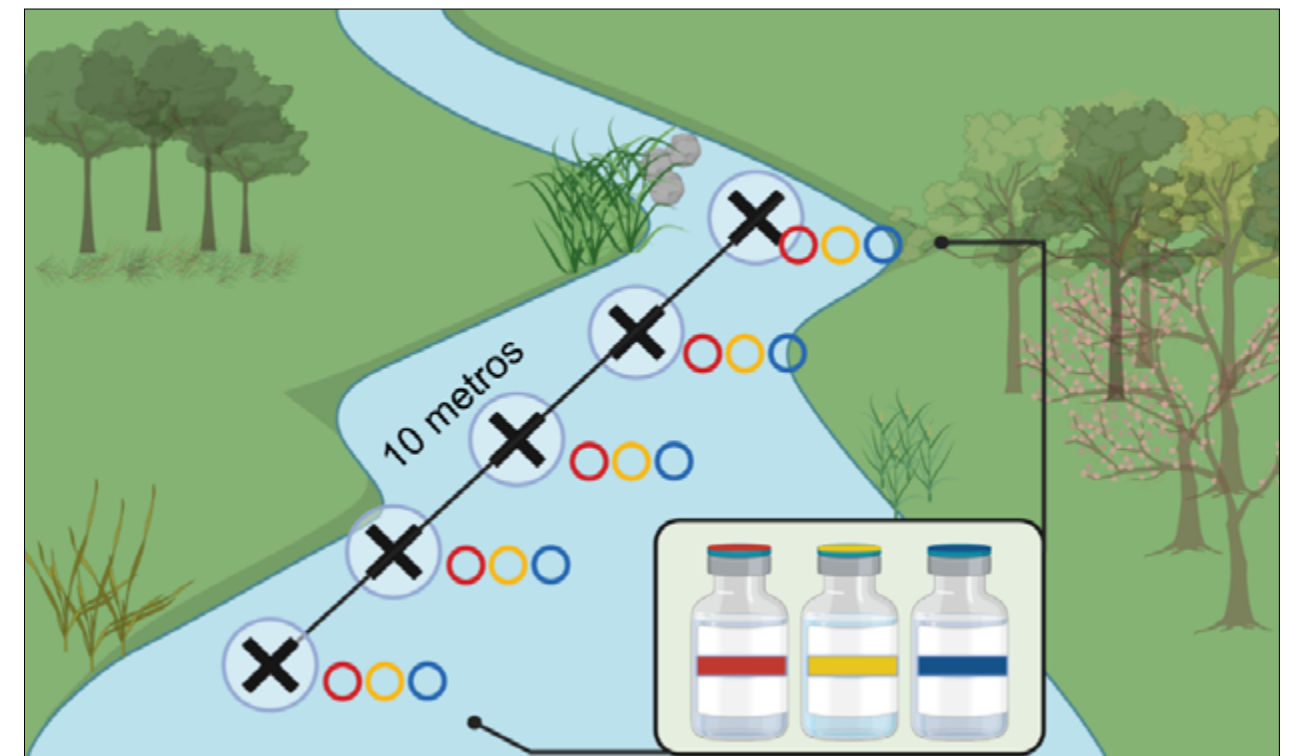


Figura 3: Ejemplo de diseño de muestreo en el cauce de un río. Fuente: Nora Gómez y Magdalena Licursi

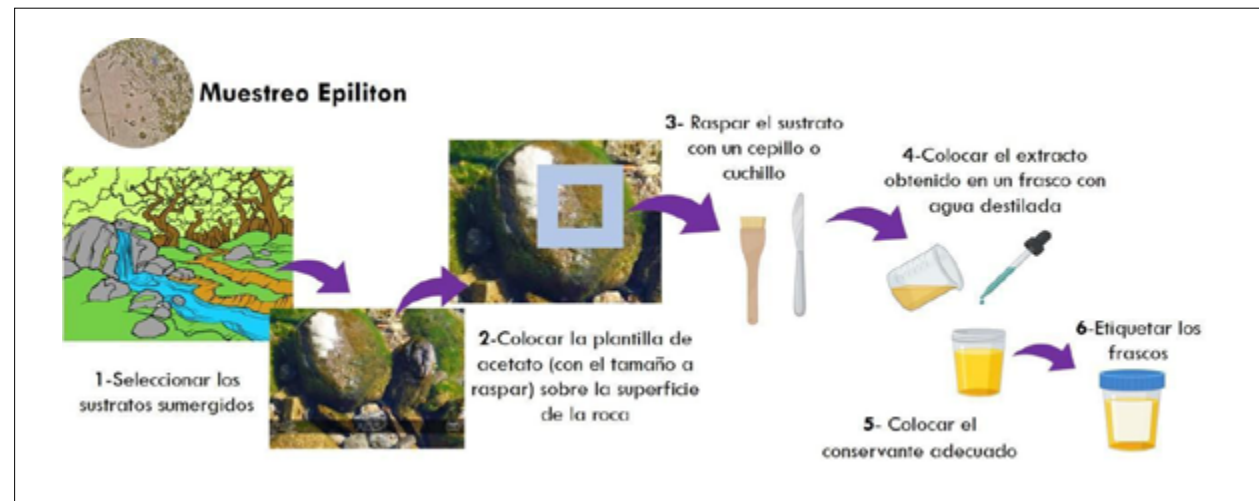


Figura 4: Pasos para el muestreo sobre rocas o guijarros. Fuente: María de los Ángeles Taboada

Macroalgas filamentosas

Se puede recoger una cantidad de ellas empleando pinzas. Luego, se deben colocar en un frasco con agua del sistema o agua destilada y fijar la muestra. En general, sobre estas macroalgas (algas verdes en su mayoría) tienden a desarrollarse diatomeas. El tratamiento será diferente si se quiere trabajar con todos los grupos algales o solo con diatomeas. Si se trabaja con todas las algas, la muestra se conservará con agua del sitio y se le agregará el fijador correspondiente. Si solo se emplean las diatomeas epifitas que se desarrollan sobre estas macroalgas, se debe conservar la muestra sin fijar, llevarla al laboratorio, proceder a lavados sucesivos con agua destilada y conservar el extracto. En caso de que, al observar al microscopio, luego de los lavados, aún persistan diatomeas adheridas, los talos pueden ser deshidratados en una estufa a 60° C durante 24

horas, o se pueden emplear técnicas de sonicado mencionadas más arriba.

Macrófitos emergentes

Considerar las partes que se encuentran sumergidas, pero que no correspondan a las secciones que estén afectadas por los sedimentos del fondo.

- Cortar las porciones por debajo del nivel del agua: se puede colocar una botella de plástico o vidrio boca abajo en la parte sumergida y cortar esa sección hasta la boca de la botella; girar la botella, que contendrá agua del sistema y la porción seccionada, y cerrar. Conservarla en frío y oscuridad
- En laboratorio se procederá al lavado y agitación de las porciones para extraer las microalgas.

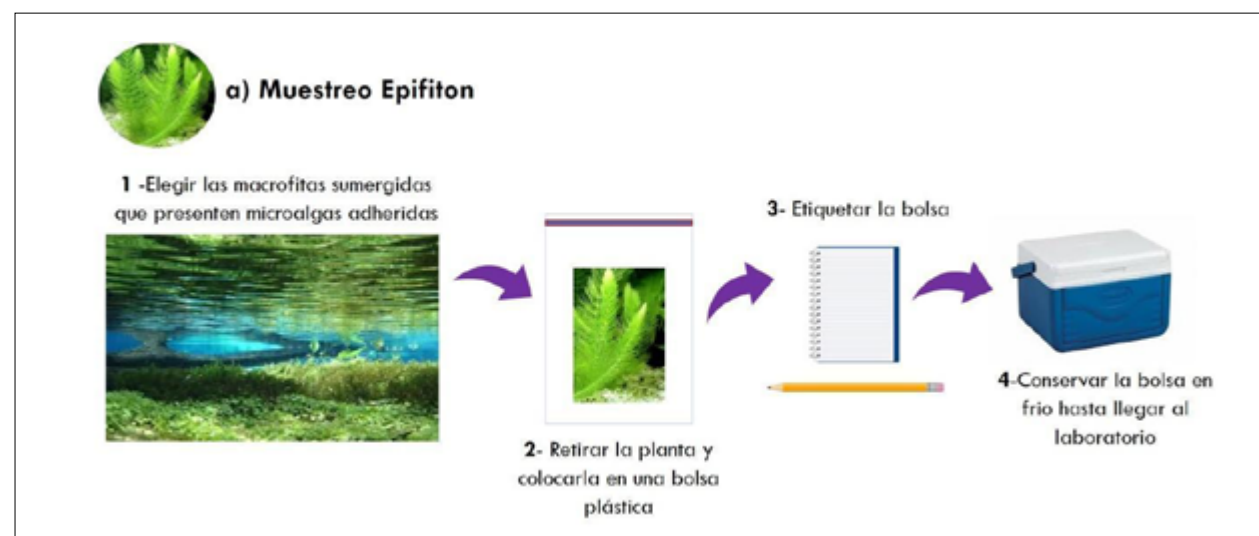


Figura 5: Pasos para el muestreo de epifiton en plantas sumergidas. Fuente: María de los Ángeles Taboada

- Conservar el extracto y fijar. (Fig. 5)
- En el caso de que se quiera medir la clorofila-a, separar un volumen conocido del extracto, no agregarle conservante y filtrarlo para la medición de la biomasa epifítica

En todos los casos que se muestrean algas del bentos o adheridas a sustratos sumergidos hay que evitar tomar muestras en:

- zonas sombreadas de los cursos de agua (a no ser que esta sea la característica distintiva del sitio a evaluar) y áreas debajo de puentes.
- zonas recientemente disturbadas (por dragados, canalizaciones, etc).
- zonas inundadas recientemente.
- pozas y zonas de escasa corriente en las que suele haber deposición de limos y de detritos; tampoco son recomendables las zonas de excesiva corriente (> 20 cm. seg⁻¹).
- áreas demasiado próximas a las orillas.

En la Figura 7 se resumen las comunidades de algas bentónicas que pueden ser muestreadas y la metodología de colecta de cada uno de ellos.

a. Índices taxonómicos empleando diatomeas

Los índices de calidad del agua se fundamentan en una puntuación que se da a cada especie en

relación a las diferentes clases de calidad química del agua (CEMAGREF, 1982). El valor indicador de cada taxón se obtiene a partir de la información de las bases de datos existentes en distintas regiones del país. Así, para cada especie, se conoce su rango y su amplitud ecológica. Para asignar una puntuación determinada, se han considerado los parámetros físico-químicos más significativos en lo referente a perturbaciones que afectan a sistemas acuáticos (temperatura, pH, conductividad, oxígeno disuelto, DBO, DQO, nitrógeno total, amonio, nitritos, nitratos, fosfatos, cloruros, etc). Con estos datos, cada especie tiene asignada una probabilidad de encontrarse en un rango ecológico determinado. Esta información se categoriza para cada taxón y se obtiene así un factor de sensibilidad a la contaminación, que se relaciona con un valor indicador del taxón con de acuerdo a su respuesta respecto a la calidad del agua.

Índice de Polusensibilidad específica "IPS" (*Indice de Pollusensibilité Spécifique*, Cemagref 1982).

Entre los numerosos índices europeos desarrollados para establecer la calidad del agua a partir de diatomeas, el "IPS" es uno de los más utilizados y ha sido considerado como el índice de referencia en la Directiva Marco del Agua de la Comunidad Europea. Fue diseñado considerando más de 5000 taxones a los que se le asignó un valor indicador; por la gran cantidad de información que reúne es ampliamente recomendado en esa región. Este índice fue diseñado para ríos europeos, frecuentemente empleado en programas de monitoreo y también ha sido aplicado en sistemas acuáticos de distintas regiones de

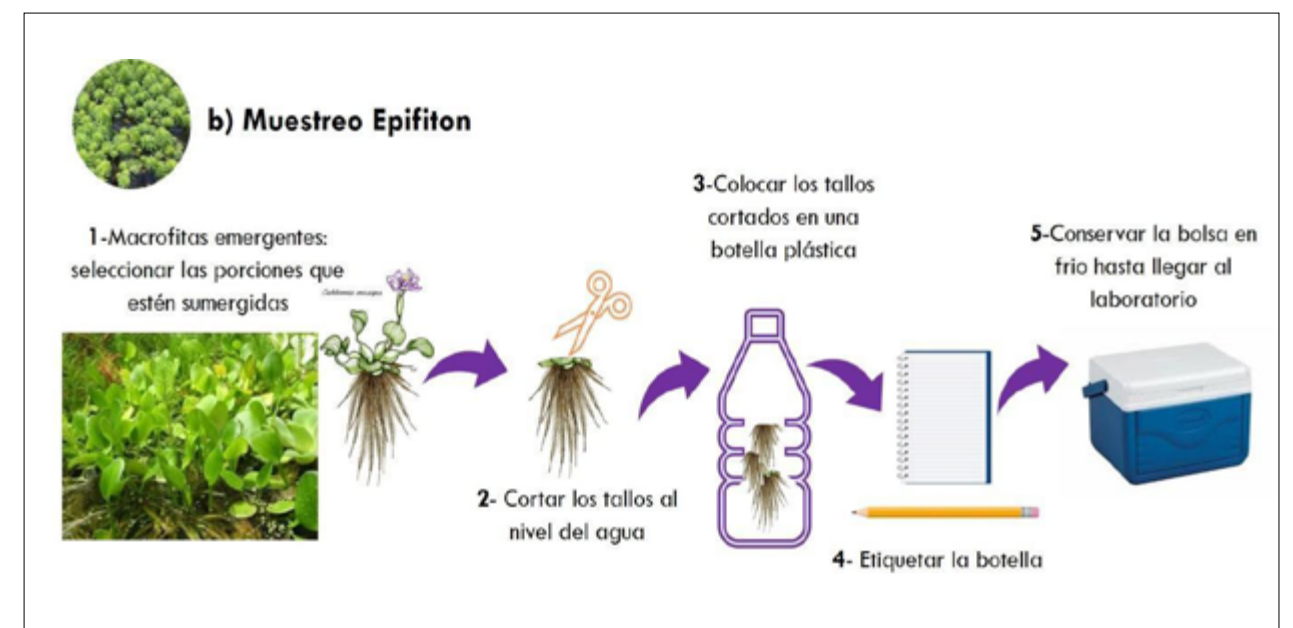


Figura 6: Pasos para realizar el muestreo de epifiton en plantas flotantes con raíces. Fuente: María de los Ángeles Taboada

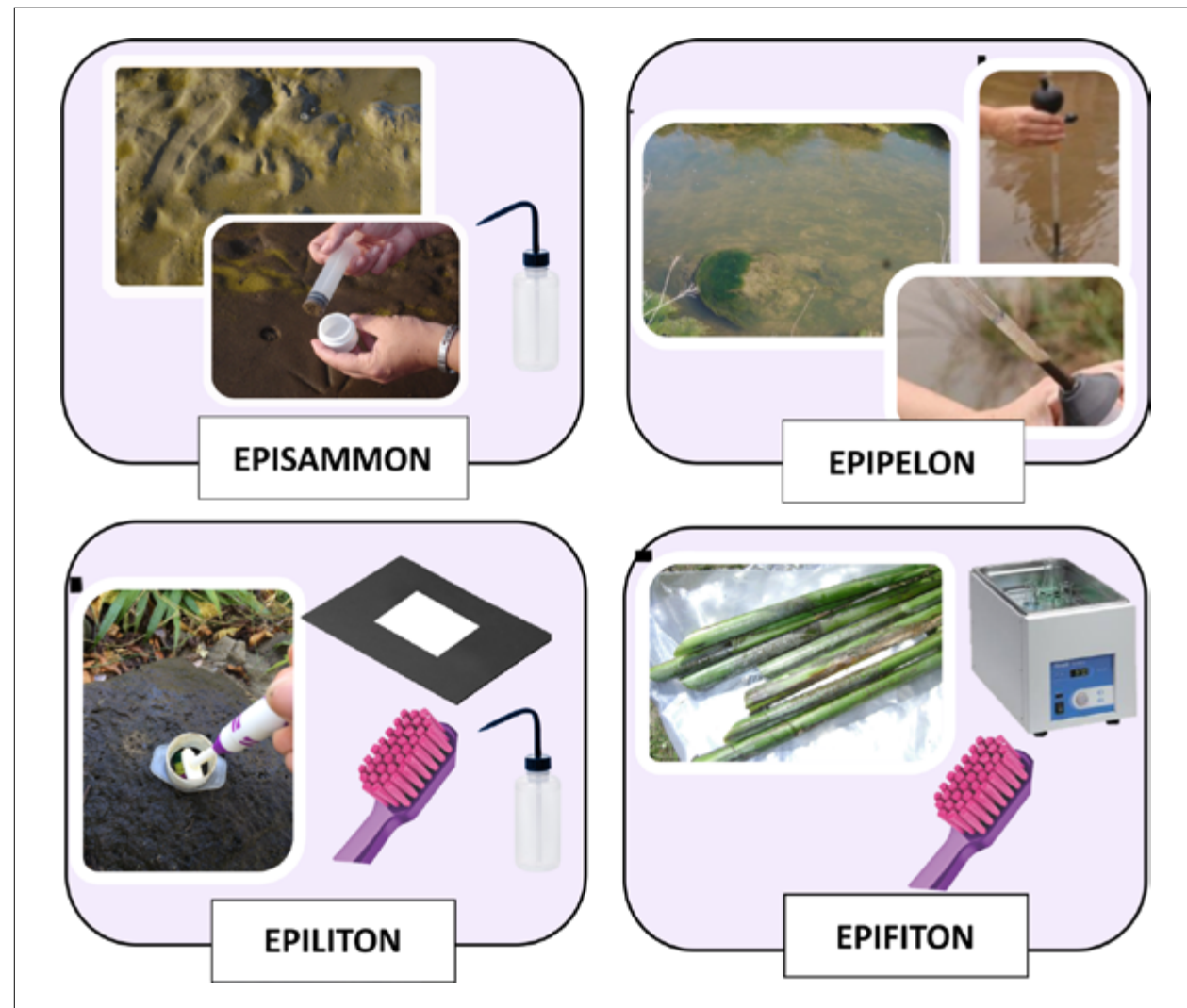


Figura 7: Resumen de métodos de colecta y separación de algas bentónicas. Fuente: Magdalena Licursi, Nora Gómez y Paula Huber

la Argentina. Ha mostrado diferentes grados de adecuación y sensibilidad en la evaluación de la calidad del agua.

El índice IPS se calcula sobre la base de las medias ponderadas de los valores de sensibilidad a la contaminación (S_j), valores de tolerancia a la contaminación (V_j) y la abundancia relativa de cada especie.

La fórmula para obtener el valor del índice es:

$$IPS = \frac{4,75 * A_j * S_j * V_j}{A_i * V_i} - 3,75$$

Dónde:

A_j = Abundancia relativa de la especie j
 S_j = Valor de sensibilidad de la especie j
 V_j = Valor de tolerancia de la especie j

El protocolo detallado para el cálculo e interpretación de este índice se puede obtener en el siguiente enlace: https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/estado-y-calidad-de-las-aguas/IPS-2013_24_05_2013_tcm30-175295.pdf

Existe un programa informático "OMNIDIA" (Leconte *et al.*, 1993) que permite el manejo de los inventarios de las muestras de diatomeas y el cálculo de numerosos índices de calidad del agua, así como índices de riqueza y diversidad. Entre los índices de calidad del agua que este software permite calcular se encuentran el Índice de Polusensibilidad Específica (IPS), ya presentado en este protocolo, y el Índice de Diatomeas Pampeano (IDP) que se presenta a continuación:

Para la **ecoregión pampeana** se cuenta con el Índice IDP (Índice de Diatomeas Pampeano - Gómez & Licursi, 2001). Este índice ha sido diseñado para ríos y arroyos con sedimentos finos. Para su cálculo,

Clases de calidad del agua	DBO ₅	NH ₄ ⁺ - N	PO ₄ ³⁻ -P
0	≤ 3	≤ 0.1	≤ 0.05
I	> 3-8	> 0.1-0.5	> 0.05-0.1
II	> 8-15	> 0.5-0.9	> 0.1-0.5
III	> 15-25	> 0.9-2	> 0.5-1
IV	> 25	> 2	> 1

Tabla 1: Caracterización de las clases de calidad del agua basadas en NH₄⁺- N, DBO₅ y PO₄³⁻ -P (mg l⁻¹) como descriptores de la eutrofización y polución orgánica.

lo, se requiere conocer las abundancias relativas de las especies y el valor indicador de cada una de ellas (ver ANEXO I). Ha sido empleado, además de en la llanura pampeana argentina, en el sur de Brasil y algunas otras regiones de la Argentina. Para su aplicación por fuera de la zona para la cual fue diseñado, se requiere una validación.

Índice de Diatomeas Pampeano (IDP) (Gómez & Licursi, 2001). El IDP fue diseñado con la finalidad de evaluar la eutrofización y polución orgánica de los ríos y arroyos del área pampeana. A cada taxón se le asignó un valor de sensibilidad a la polución con materia orgánica y eutrofización, teniendo en cuenta variables estrechamente relacionadas con estos procesos, como amonio, la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) y el fósforo reactivo soluble. Estas variables definieron 5 clases de calidad del agua (ver Tabla 1).

Para su cálculo se empleó la siguiente fórmula:

$$IDP = \frac{\sum_{j=1}^n I_{idp_j} * A_j}{\sum_{j=1}^n I_{idp_j}}$$

Donde:

I_{idp} : valor del IDP para la especie j (fluctúa entre 0 y 4)
 A_j : abundancia relativa de la especie j

Los valores del índice fluctúan entre 0 y 4. Se le asignan colores a las distintas calidades del agua para su identificación gráfica en mapas de calidad del agua y se las relaciona con las actividades antrópicas más frecuentes en el área de estudio (ver Tabla 2).

En el Anexo I se proporciona una planilla de Excel modelo que permite el cálculo del IDP.

Se presenta una planilla activada de Excel para el cálculo del Índice de Diatomeas Pampeano (IDP).

Se presenta el valor indicador para el IDP de las especies de diatomeas epipelónicas más frecuentes en los sistemas lóticos pampeanos. Se lista el nombre del taxon, su acrónimo y, para los taxa que han cambiado su denominación, el nombre reciente y el nuevo acrónimo.

Índice de Diatomeas Pampeano. Adaptado para el NOA y Cuyo.

María de los Angeles Taboada y Liliana Moreno

El IDP fue diseñado con la finalidad de evaluar la eutrofización y polución orgánica de los ríos y arroyos del área pampeana, en Gómez & Licursi (2001), Licursi & Gómez (2003), pero también fue aplicado en el NOA (Taboada, 2017). A cada taxón se le asignó un valor de sensibilidad a la polución con materia orgánica y eutrofización, teniendo en cuenta variables estrechamente relacionadas con estos procesos, como amonio, la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) y el fosfato en sistemas lóticos del NOA. Estas variables definieron 5 clases de calidad del agua (ver Tabla 2 y ANEXO I).

El Índice de Diatomeas Pampeano (Modificado) ha sido empleado en el NOA y aplicado en dos arroyos: el Mista y el Calimayo. Varias de las especies y sus rangos fueron diferentes al índice aplicado en la Pampa. Estos cambios están detallados en:

Taboada M. de los Á. 2017. *Estudio de la Ficoflora como Bioindicadora del Estado Ecológico en Sistemas lóticos de Tucumán. Evaluación del Impacto Antrópico*. Tesis Doctoral, FCN e IML, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. 272 pp.

Como los cambios solo se realizan en las especies, para su cálculo se utiliza el mismo algoritmo que en el IDP original.

Consignas para observar e identificar el material, claves generales o particulares (regionales) que puedan ser utilizadas. La identificación y recuento de las especies de diatomeas se realiza





Valor del IDP	Calidad del agua	Código de color	Características del agua	Grado de disturbio
0-0,5	Muy bueno		Sin polución, estado natural, pocos nutrientes y poco enriquecimiento orgánico	Mínimo: baja influencia humana
>0,5-1,5	Buena		Polución y eutrofización leve, bajos niveles de nutrientes y materia orgánica	Leve: ganadería extensiva y agricultura
>1,5-2	Aceptable		Polución y eutrofización moderada, altas concentraciones de nutrientes y materia orgánica	Moderado: actividad industrial y/o ganadería intensiva
>2-3	Mala		Polución y eutrofización fuerte, presencia de materia orgánica parcialmente degradada, nitrito, amonio y aminoácidos.	Fuerte: agricultura intensiva y ganadería, actividad industrial y densidad poblacional
>3-4	Muy mala		Polución y eutrofización muy fuerte, alta concentración de materia orgánica, predominio de procesos reductivos y presencia de productos industriales	Muy fuerte: actividad industrial intensiva y gran densidad poblacional

Tabla 2: Índice de Diatomeas Pampeano (IDP) y su relación con la calidad del agua y grado de disturbio antrópico. El código de color identifica las distintas calidades de agua en relación a la eutrofización y polución orgánica y se utiliza para su representación gráfica en mapas. (extraída de Licursi & Gómez, 2003).

con un microscopio óptico con el objetivo de 100X, añadiendo aceite de inmersión sobre el cubreobjetos y empleando un objetivo de contraste de fases para una mejor observación de la ornamentación de las diatomeas, necesarias para su identificación. Se hace el recuento de valvas enteras de diatomeas, en el caso de encontrar frústulos enteros se cuantificarán dos valvas. Se excluirán del recuento todas las valvas rotas. En todas las muestras se contabilizan aproximadamente 400 valvas. El conteo de las valvas se realiza por campos de visión y a lo largo de transectos.

Se coloca la preparación en la platina del microscopio y se anota la información que está en el portaobjetos en una hoja de recuentos. Se recomienda comenzar a contar en el margen de la muestra e identificar todas las valvas presentes en ese campo de visión utilizando el objetivo con aceite de inmersión. Si alguna valva no puede ser identificada en un primer momento, se recomienda tomar algún tiempo para: obtener fotografías o dibujos detallados. Tomar datos sobre la forma y dimensiones de la valva, densidad de estrías, forma del área central y detalles del rafe para que sea más fácil poder identificarla.

Una vez identificadas y contadas las valvas en el primer campo, nos iremos moviendo a lo largo de la muestra en un desplazamiento horizontal hasta el siguiente campo de visión hasta alcanzar las 400 valvas identificadas.

Al final del recuento, se retira la preparación de la platina y se limpia el aceite de inmersión del preparado, y los objetivos.

b. Índices no taxonómicos

Luciana Cibils Martina y Julieta del Rosario Lucero

Las especies identificadas se pueden caracterizar por sus rasgos funcionales, propuestos por Passy y Larson (2011) y Rimet y Bouchez (2012), y modificados por Cibils *et al.* (2015) para ríos de Córdoba. Estos rasgos biológicos están basados en la relación existente entre las estrategias y caracteres morfológicos de las algas que se encuentran en el epilíton o biofilm de rocas y su acceso a los recursos, y resistencia a las perturbaciones. Se los ha utilizado para evaluar el efecto perturbador de forestación en áreas serranas cuya vegetación natural es herbácea o arbustiva. Su utilización puede complementar la información provista por otros índices.

- **Tamaño:** Se considera el tamaño celular para asignar a las especies a una determinada clase de tamaño. Clasificado del 1 al 5, siendo las de clase 1 de menor biovolumen y las de clase 5 las de mayor. Las especies más pequeñas son, generalmente, las pioneras, tolerantes y aquellas que pueden colonizar un sustrato cuando el espacio es limitado. Mientras que, las especies de mayor tamaño poseen más requerimiento de nutrientes. Así se clasifican en:

c1 taxones con biovolumen menor a $99 \mu\text{m}^3$, c2 entre 100 y $299 \mu\text{m}^3$, c3 entre 300 y $599 \mu\text{m}^3$, c4 entre 600 y $1499 \mu\text{m}^3$ y c5 mayores a $1500 \mu\text{m}^3$. En el caso de especies cuyas células son de tamaño pequeño o intermedio, pero usualmente se encuentran formando cadenas de gran tamaño, se consideran de clase 5, por ejemplo: *Melosira varians*.

- **Gremio morfológico:** Clasificado en alto perfil, bajo perfil y móviles. Estos fueron definidos de acuerdo al acceso de los diferentes taxones a los recursos (luz y nutrientes) y a la susceptibilidad al arrastre, y desprendimiento por las perturbaciones (corriente y pastoreo). Aquellas algas que se elevan a muy poca altura del sustrato, sean inmóviles (adnatas, prostradas, erectas y células solitarias, colonias pequeñas y cenobios) o diatomeas de movimiento lento, constituyen el gremio de bajo perfil. Las algas unicelulares, coloniales o filamentosas que se extienden a mayor altura sobre el sustrato conforman el gremio de alto perfil. Por último, las diatomeas birafidales de movimiento rápido o algas no diatomeas flageladas pertenecen al gremio móviles. Las especies que se asignan al gremio de bajo perfil son aquellas que están adaptadas a altas velocidades de corriente y baja concentración de recursos, contrariamente a lo que ocurre con las especies de alto perfil (que no resisten disturbios físicos, pero prefieren aguas ricas en nutrientes). Por otro lado, las algas móviles, dado que pueden moverse y seleccionar zonas con mejores condiciones, están libres de limitaciones por recursos y del estrés por los disturbios.
- **Requerimiento de recursos:** Este rasgo se clasifica en dos categorías (alto y bajo) y se define en función de la tolerancia o la sensibilidad de las especies a la falta de nutrientes y luz, que puede deberse a la baja disponibilidad ambiental o al sobrecrecimiento del biofilm. Los taxones que requieren elevadas concentraciones de recursos para el crecimiento y reproducción (mesoeutróficos a hipereutróficos) fueron considerados en la categoría altos requerimientos, mientras que los que pueden proliferar con bajos niveles de recursos (oligotróficos, mesotróficos e indiferentes) fueron considerados en la categoría bajos requerimientos.
- **Mecanismos de adhesión al sustrato:** Este rasgo determina la posición de las especies en el biofilm y la capacidad que tienen de resistir a los disturbios. Las categorías que se

consideraron fueron: i) Adnatas: aquellas que se encuentran fuertemente adheridas al sustrato por su cara valvar (ej., *Cocconeis placentula*) o conectival (ej. *Eunotia* sp.). ii) Fijas por la base: producen mucílago en un polo que se adhiere al sustrato (ej. *Diatoma* sp., *Fragilaria* sp., *Ulnaria* sp.) iii) Con pedúnculos: las células producen un tracto mucilaginoso a través del campo poroso apical y esto se adhiere al sustrato; el pedúnculo puede ser simple (una célula) o puede enlazar varias células formando colonias arbusculares (ej., *Achnantheidium* sp., *Cymbella* sp., *Gomphonema* sp.). iv) Con células de fijación: filamentos adheridos por una célula inicial (ej. *Cladophora* sp., *Oedogonium* sp.). v) no adheridas: aquellas que no tienen ningún mecanismo especial para adherirse al sustrato porque flotan (ej. Diatomeas céntricas, cenobios, colonias y filamentos de cianobacterias, zygnematales) o porque se mueven libremente (ej., *Nitzschia* sp., *Navicula* sp., *Pinnularia* sp.).

- **Formas de vida:** Clasificadas en unicelular, colonial, cenobio, filamento. Este rasgo está relacionado con la arquitectura del biofilm, así es que no funciona de la misma manera una comunidad dominada por formas de vida unicelulares que una con mayor desarrollo de formas de vida filamentosas o coloniales. Las diatomeas que comúnmente forman cadenas o agregados arbusculares o en forma de roseta son asignadas a la categoría "colonia", aunque no formen verdaderas colonias.

Para obtener un índice a partir de los rasgos funcionales:

- Asignar la categoría de cada rasgo correspondiente a cada especie o género. Si la identificación se realizó a nivel de género y hay variaciones entre las especies, elegir las categorías que mejor se ajusten a lo observado.
- Sumar la densidad de todas las especies en cada categoría de cada rasgo para cada muestra.
- Calcular las proporciones de cada categoría.
- Calcular índices de diversidad funcional (Heino, 2005): índice de diversidad de Shannon-Wiener (DF), que describe tanto el número de grupos funcionales como la distribución de los individuos entre los grupos funcionales, y equitatividad funcional (EF), basado en el índice de Shannon-Wiener, que describe la distribución de los individuos entre los grupos funcionales.

e) Comparar entre sitios las proporciones de cada categoría y los índices de diversidad. En un sitio con altas concentraciones de nutrientes y baja velocidad de corriente es más común encontrar un predominio de especies móviles y de alto perfil, con altos requerimientos de recursos. Por otro lado, en ambientes con disturbios físicos o reducción de luz se observa un predominio de especies pequeñas, de bajo perfil (ej, Cibils *et al.*, 2015, Lucero, 2019). La mayor diversidad de rasgos funcionales está asociada a una mayor diversidad de estrategias de los organismos para obtener sus recursos y resistir los disturbios, por lo que un ambiente muy disturbado tendrá una menor diversidad funcional, con predominio de pocas especies resistentes.

Los rasgos funcionales propuestos fueron utilizados en arroyos de cabecera de las sierras de Córdoba forestados con pinos exóticos y en un río de llanura urbanizado. En los arroyos forestados se registró una menor diversidad funcional y, las categorías forma de vida unicelular y el gremio de alto perfil, fueron las que mejor respondieron al disturbio ocasionado por el cambio en la vegetación marginal (Cibils *et al.* 2015). Las comunidades de los arroyos forestados se mantuvieron estructuralmente simples, con mayor proporción de algas pequeñas y de bajo perfil, tolerantes a la menor intensidad lumínica, en comparación con los arroyos de pastizales (Cibils-Martina *et al.* 2017).

En el río Chocancharava, a la altura de la ciudad de Río Cuarto, los rasgos funcionales mostraron un predominio de especies de pequeño tamaño, de bajo perfil, unicelulares y que requieren altas concentraciones de nutrientes. En general, estas especies son pioneras, resistentes a las perturbaciones físicas y pueden colonizar rápidamente el sustrato, que en estos sitios es un sustrato arenoso, con gran inestabilidad y alto ingreso de nutrientes provenientes de la urbanización y la actividad agropecuaria. Los rasgos funcionales indicaron mejores condiciones en un sitio periurbano, dada la predominancia de especies que viven en condiciones de escasez de nutrientes, y en coincidencia a lo registrado con algunos índices taxonómicos utilizados. Los índices taxonómicos y no taxonómicos ofrecieron información complementaria, por lo que futuras herramientas de monitoreo deberían contemplar un enfoque basado en múltiples descriptores.

c. Particularidades para la región Patagonia

Cecilia Brand y Yanina Assef

Se recomienda realizar los muestreos de perifiton desde mediados a fines del verano. Esta temporada resulta adecuada, ya que coincide con las tempera-

turas más cálidas y un bajo caudal en los ríos y arroyos patagónicos. Sin embargo, la época y frecuencia de muestreo se deberán adecuar en función de los objetivos del estudio. Independientemente de la estación, se deben evitar los muestreos luego de lluvias intensas, ya que las comunidades se ven afectadas y pueden no reflejar las condiciones del entorno.

Muestreo de *Didymosphenia geminata*: en numerosos cursos de agua de la región patagónica se registra presencia de la diatomea *Didymosphenia geminata*. Esta especie exótica crece en ambientes muy pobres en nutrientes y suele no estar asociada a impacto antrópico, aunque sí a su uso recreativo. Donde se establece, las muestras de perifiton alcanzan valores muy altos de peso seco y clorofila-a, por esto se sugiere evitar utilizar este indicador en lugares con floraciones de *D. geminata* evidentes o, por el contrario, utilizarlos en un monitoreo general para detectar posibles zonas de invasión (Fig. 1).

d. Muestreo

a) Selección del sitio de muestreo

En una etapa previa de gabinete se seleccionan los tramos del río/arroyo a evaluar. El sitio previamente seleccionado se puede redefinir en el campo cuando hay impedimento o dificultad de acceso al mismo.

El número de sitios a muestrear y su ubicación dependerá de la longitud del río objeto de estudio y del esfuerzo de muestreo necesario para responder al objetivo de trabajo planteado. La distancia entre sitios de muestreo no debería ser superior a 10 km para una red de monitoreo. Del mismo modo, deberá decidirse si se realizará una colecta de multi hábitat o por hábitat específico.

En ríos con alta productividad, se puede reducir el número de rocas raspadas que conforman una muestra, o bien usar un disco de menor superficie. Es importante que en la planilla de campo quede registrada la superficie colectada que conforma cada muestra. Se recomienda realizar este procedimiento 2-3 veces por tramo seleccionado, y luego los valores obtenidos serán promediados para los análisis posteriores.

b) Selección del tramo a muestrear

En arroyos, se sugiere elegir un tramo de 10-15 metros y, en ríos, un tramo de hasta 50 m que contenga la mayor cantidad de hábitats representados.

c) Extracción de muestras

El procedimiento para la obtención de muestras es el mismo para clorofila-a que para Peso Seco



Figura 1: Floraciones de *Didymosphenia geminata* en rocas (Chubut, Argentina).

Libre de Cenizas (PSLC). En cada tramo se seleccionarán tres rocas al azar por cada muestra. El tamaño de las rocas puede variar de acuerdo al tipo de sustrato predominante en el tramo, pero se buscará que sean de un tamaño intermedio entre 6 y 15 cm de diámetro.

En primer lugar, se debe enjuagar el frasco color caramelo dos o tres veces con agua de la corriente, luego se llena con agua del sitio a muestrear (cuidando que no entre barro o algún otro material) y se vuelca el contenido en la batea.

Se puede emplear una plantilla de acetato o de goma eva del tamaño previamente determinado (10 x 10 cm), o un disco de diámetro conocido. Se coloca sobre el sustrato y se procede a cepillar (o raspar con cuchillo) la superficie determinada. Se debe limpiar una zona aproximada de, como mínimo, 10 cm² por roca (20 cm² en caso de emplear 5 rocas). La superficie total de muestreo será de unos 100 cm². Luego, se coloca el disco de superficie conocida sobre la roca seleccionada; se sostienen ambos con una mano cerca de la superficie del agua corriente. Con la otra mano, se cepilla toda la superficie de la roca por fuera del disco, enjuagando periódicamente el cepillo en el agua del río. Una vez que nos aseguramos de quitar todo el perifiton que queda por fuera de la superficie delimitada por el disco (Fig. 2a), se raspa el contenido restante sobre la batea que contiene el agua del sitio, enjuagando el cepillo con esta misma agua para asegurarnos de que todo el contenido del perifiton quede en la batea (Fig. 2b). Este procedimiento se debe repetir en todas las rocas muestreadas. Luego, se vierte el contenido de la batea en el frasco color caramelo rotulado co-

rrrectamente, se tapa y se guarda en la conservadora hasta su traslado al laboratorio.

d) Procedimiento de laboratorio

Filtrado: La muestra debe filtrarse dentro de las 24 horas.

Para la determinación del PSLC, previamente a la colecta, se deben secar los filtros a utilizar (65°C, 24 h) y pesar en balanza analítica. Se deben utilizar filtros de microfibras de vidrio que soporten las temperaturas de muflado. Los filtros deben individualizarse para luego conocer el peso previo al filtrado, para esto puede anotarse el peso en el sobre de aluminio en el que se guardan.

Se coloca un filtro de fibra de vidrio en un portafiltros adecuado, conectado a una bomba de vacío. Se filtra toda la muestra (el contenido completo del frasco color caramelo). Es importante agitar bien el contenido antes de volcarlo en el portafiltro para evitar que quede material en el fondo del envase.

Una vez que se ha filtrado todo el líquido, se remueve el filtro con cuidado, se dobla a la mitad con el contenido hacia adentro y se guarda en un sobre confeccionado con papel de aluminio correctamente rotulado. Los filtros pueden guardarse en el freezer hasta su análisis.

Determinación del Peso Seco Libre de Cenizas. Los filtros que contienen la muestra deben secarse en estufa por 24 horas a 65 °C o hasta peso constante (se pesa cada uno en balanza analítica para determinar el peso inicial (PI)). Luego, se quema el contenido orgánico en horno mufla a 405 °C, durante 4 horas. Una vez que el



Figura 2: a. Roca con el remanente de perifiton delimitado por el disco. b. Raspado de la muestra sobre la batea.

contenido se puede manipular, vuelven a pesarse en balanza analítica y, de esta forma, se obtiene el peso final (PF). La diferencia entre PI y PF corresponde al PSLC.

$$\text{PSLC} = \text{PI} - \text{PF}$$

Extracción de clorofila-a (Ver procedimiento de laboratorio) [Clorofila-a](#).

Con el peso seco libre de cenizas y clorofila-a se han construido índices como el de Lakatos (1989) que fue desarrollado para lagos eutróficos pero que ha sido aplicado en la Argentina, particularmente en la región pampeana (Pizarro y Alemanni, 2005). El índice de Lakatos sirve para detectar situaciones

de eutrofia a partir del estado de la comunidad perifítica, teniendo en cuenta el peso seco y el tipo de comunidad desarrollada de acuerdo a sus componentes autotróficas y heterotróficas.

En la Tabla 1 se detallan los parámetros empleados en el Índice de Lakatos.

Valores de referencia de biomasa perifítica. Teniendo en cuenta los valores de clorofila-a en ambientes patagónicos, se podrían categorizar los ríos según su concentración de clorofila perifítica (Tabla 1). Sin embargo, cabe aclarar que aún no están establecidos sistemáticamente los valores guías y solo se presenta una clasificación basada en datos publicados hasta el momento.

I	Biomasa elevada	> 4
II	Masa media	2-4
III	Masa Baja	< 2
Contenido de Cenizas		
I	Inorgánico	>75
II	Inorgánico - Orgánico	75-50
III	Orgánico - Inorgánico	50-25
IV	Orgánico	<25
Contenido de Clorofila-a		
I	Autotrófico	> 0,60
II	Autotrófico- Heterotrófico	0,60-0,25
III	Heterotrófico - Autotrófico	0,25-0,10
IV	Heterotrófico	<0,10

Tabla 1: Parámetros para el Índice de Lakatos (g/m²)

Índices no taxonómicos: rasgos morfológicos e Índice de Autotrofia (IA). Con los dos parámetros medidos anteriormente, se puede calcular el índice de autotrofia. Se utiliza para determinar el estado trófico de un ecosistema y distinguir la respuesta relativa del enriquecimiento orgánico e inorgánico (N y P). Se calcula como la relación entre el PSLC y la clorofila-a:

$$\text{IA} = \text{PSLC (mg/cm}^2\text{)} / \text{clorofila-a (mg/cm}^2\text{)}$$

Se ha observado que las muestras de perifiton que crecen en aguas relativamente libres de materia orgánica contienen aproximadamente entre 1-2% de clorofila-a. En cambio, aguas con alto contenido de materia orgánica pueden albergar grandes proporciones de ensamblajes de organismos heterótrofos y se obtienen IA más elevados.

De acuerdo a referencias bibliográficas de diferentes regiones del mundo, valores de IA entre 50 y 100 indican ausencia de contaminación. En el rango comprendido entre 100 y 200, se asume presencia de autótrofos. Los valores superiores a 200 son indicadores de que la comunidad está dominada por heterótrofos (Murdock *et al.*, 2013). Mientras que valores mayores a 400, indican que el detrito orgánico, junto con los heterótrofos, constituye la porción dominante de la comunidad (Wu 2017).

Si bien varían parcialmente los rangos propuestos por los autores en cada región, es claro que el índice es una medida rápida de aproximarse a la composición de la comunidad y que valores extremos indicarían contaminación orgánica o por nutrientes.

Rango	Descripción	Condición
≥5 µg/cm ²	Arroyos urbanos, alta carga de materia orgánica, nutrientes.	Mala condición
1 y 5 µg/cm ²	Prácticas agrícola-ganaderas semi-intensivas y extensivas. Urbanizaciones pequeñas.	Contaminación orgánica
0,4 y 1 µg/cm ²	Prácticas agropecuarias de menor intensidad, moderado incremento de nutrientes.	Bajo impacto
≤0,4 µg/cm ²	Arroyos oligotróficos, con bosque o vegetación ribereña en buen estado. Sin contaminación.	Condición de referencia

Tabla 1: Categorización aproximada de calidad del agua, de acuerdo a rangos de concentración de clorofila perifítica.

Bibliografía

Cibils Martina, L., R. E. Principe, J. A. Márquez, E. N. Gari, R. J. Albariño. 2015. Functional diversity of algal communities from headwater grassland streams: how does it change following afforestation? *Aquatic Ecology*, 49: 453-466.

Cibils-Martina L., R. E. Principe, J. A. Márquez, E. N. Gari, R. J. Albariño. 2017. Succession of algal communities in headwaters: a comparison of pine afforested and natural grassland streams. *Ecological Research*, 32: 423-434.

Gnesutta, L. 2018. *Evaluación de algas episámicas en el río Chocancharava: efectos de perturbaciones antrópicas*. Tesis de Grado. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. 67 pp.

Lucero, J. 2019. *Evaluación de la comunidad algal periférica de la Reserva Provincial de Uso Múltiple Corredor del Chocancharava*. Tesis de Grado. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. 69 pp.

Región NOA

APHA AWWA & WEF. 2005. *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 21. st. ed. Washington, DC: American Public Health Association.

Barbe J., E. Lavergne, G. Rofes, M. Lascombe, J. Rivas, C. H. Bornard. 1990. Diagnose rapide des plans d'eau. *Informations. Techniques du CEMA-GREF*, 79: 1-8.

Battarbee, E. W. 1986. Diatom Analysis. In: Berglund B. E. (ed.). *Handbook of Holocene Palaeoecology and Palaeohydrology*. New York: J. Wiley & Sons Ltd., pp. 527-570.

Domínguez, E., F. Romero, H. R. Fernández y M. G. Cuezco. 2020. Aplicación de Indicadores Biológicos en el Noroeste Argentino: El caso de la cuenca Salí-Dulce. En: Domínguez, E., A. N. Giorgi y N. Gomez (Comp.). *La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de La Argentina: Bases para el análisis de la integridad ecológica*. Buenos Aires: Eudeba, pp. 56-80.

González, J. A. 2005. *Los ambientes naturales en áreas montañosas del Noroeste Argentino (NOA), su interrelación con países limítrofes, y su necesidad de protección, recuperación y conservación*. Serie conservación de la Naturaleza 15. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina. 28 pp.

Graham, L. & L. Wilcox. 2009. *Algae*. Prentice Hall.

Licursi, M. y N. Gómez. 2003. Aplicación de índices bióticos en la evaluación de la calidad del agua en sistemas lóticos de la llanura pampeana Argentina a partir del empleo de diatomeas. *Biología Acuática*, 21: 31-49.

Morello J., S. D. Mateucci, A. F. Rodriguez y M. Silva. 2011. *Ecorregiones y complejos ecosistémicos argentinos*. Buenos Aires: Orientación Gráfica Editora S.R.L. 752 pp.

Nygaard G. 1949. Hydrobiological studies on some Danish ponds and lakes. II. The quotient hypothesis and some new or little known phytoplankton organisms. *Biol Skr Dan Vid Sel*, 7(1): 1-293.

Schworbel, J. 1975. *Métodos de Hidrobiología*. Madrid: H. Blume ediciones.

Taboada, M. de los A. 2017. *Estudio de la Ficoflora como Bioindicadora del Estado Ecológico en Sistemas Lóticos de Tucumán. Evaluación del Impacto Antrópico*. Tesis Doctoral. FCN e IML-Universidad Nacional de Tucumán. 272 pp.

Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommung der Quantitativen Phytoplankton Methodik. *Mitt. Int. Verein. Limnol.* 9: 1-38.

Región NEA

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. Huszar; E. Hernández, G. Beamud, M. Díaz, L. H. Silva & A. Segura. 2017. Classification of Reynolds phytoplankton functional groups using individual traits and machine learning techniques. *Freshwater Biology*, 62(10): 1681-1692.

Kruk C., M. Devercelli, V. L. Huszar. 2021. Reynolds Functional Groups: a trait-based pathway 3 from patterns to predictions. *Hydrobiologia*, 848:113-129.

Región Cuyo

Gómez, N & M. Licursi. 2001. The Pampean Diatom Index (IDP) for assessment of rivers and streams in Argentina. *Aquatic Ecology*, 35: 173-181.

Licursi, M. y N. Gómez. 2003. Aplicación de índices bióticos en la evaluación de la calidad del agua en sistemas lóticos de la llanura pampeana argentina a partir del empleo de diatomeas. *Biología Acuática*, 21: 31-49.

Vallania, E. A., P. A. Garellis, E. S. Tripole. y M. A. Gil. 1996. Un Índice Biótico para sierras de San Luis (Argentina). *Rev. UNRC*, 16(2): 129-136.

Región Centro

Biggs, B. J. F. y C. Kilroy. 2000. *Stream Periphyton monitoring manual*. Christchurch, New Zealand: Publishers NIWA for the New Zealand Ministry for the Environment.

Cibils, L., R. Principe, J. Márquez, N. Gari y R. Albariño. 2015. Functional diversity of algal communities from headwater grassland streams: How does it change following afforestation? *Aquatic Ecology*, 49: 453-466.

Coste, M. 1986. *Les methodes microfloristiques d'évaluation de la qualite des euux*. Bordeaux: Cemagref. 25 pp + annexe.

Descy, J. P. 1979. A new approach to water quality estimation using diatom. *Beih. Nova Hedwigia*, 64: 305-323.

Gómez, N., J. C. Donato, A. Giorgi, H. Guasch, P. Mateo y S. Sabater. 2009. La biota de los ríos: los microorganismos autótrofos. En: Elosegi, A., S. Sabater (Eds.). *Conceptos y técnicas en ecología fluvial*. España: Fundación BBVA, pp. 219-242.

Gómez, N. & M. Licursi. 2001. The Pampean Diatom Index (IDP) for assessment of river and streams in Argentina. *Aquat. Ecol.*, 35: 173-181.

Guiry, M. D. & G. M. Guiry. 2020. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>

Heino, J. 2005. Functional biodiversity of macroinvertebrate assemblages along major ecological gradients of boreal headwater streams. *Freshwater Biology*, 50: 1578-1587.

Komárek, J. 2013. Cyanoprokaryota 3. Teil: Heterocytous Genera. En: Büdel, B., G. Gärtner, L. Krienitz & M. Schagerl (Eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/3*, Springer-Verlag, Berlin: Heidelberg, 1130 pp., 1328 figs.

Komárek, J. & K. Anagnostidis. 1998. Cyanoprokaryota 1. Teil: Chroococcales. En: Ettl, H., G. Gärtner, H. Heynig & D. Mollenhauer (Eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/1*, Gustav Fischer, Jena-Stuttgart-Lübeck-Ulm, 548 pp.

Komárek, J. & K. Anagnostidis. 2005. Cyanoprokaryota 2. Teil: Oscillatoriales. En: Büdel, B., L. Krienitz,

G. Gärtner & M. Schagerl (Eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/2*, Elsevier GmbH, München. 757 pp.

Lange-Bertalot, H. 2001. Diatoms of Europe. *Diatoms of the european inland waters and comparable habitats. Vol 2. Navicula sensu stricto, 10 Genera separated from Navicula sensu lato, Frustulia*. Gantner Verlag K.G., Germany, 526 pp., 140 plates.

Metzeltin, D. y H. Lange-Bertalot. 1998. *Tropische Diatomeen in Südamerika I. 700 übermengen wenig bekannte oder neue Taxa repräsentativ als Elemente der neotropischen Flora*. Koeltz Scientific Books. 695 pp, 2515 figures on 220 plates..

Metzeltin, D., H. Lange-Bertalot & F. García-Rodríguez. 2005. Diatoms of Uruguay compared with other taxa from South America and elsewhere. A.R.G Gantner Verlag K.G. 736 pp, 3603 figures on 241 plates,

Passy, S. & C. A. Larson. 2011. Succession in stream biofilms is an environmentally driven gradient of stress tolerance. *Microb. Ecol.*, 62: 414-424.

Patrick, R. & C. W. Reimer. 1966. The Diatoms of the United States exclusive of Alaska and Hawaii. Vol. 1. Acad. Nat. Sci. Philadelphia. *Monog.*, 13: 1-688.

Patrick, R. & C. W. Reimer. 1975. The Diatoms of the United States exclusive of Alaska and Hawaii. Vol. 2. Acad. Nat. Sci. Philadelphia. *Monog.*, 13: 1-213.

Rimet, F. y A. Bouchez. 2012. Life-forms, cell-sizes and ecological guilds of diatoms in European rivers. *Knowl. Manag. Aquat. Ec.*, 406: 1-14.

Zelinka, M. y P. Marvan. 1961. Zur Prazisierng der biologischen Klassifikation des Reinheit fließender Gewässer. *Arch. Hydrobiol.* 57: 389-407.

Región Pampa

CEMAGREF 1982. *Etude des methods biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux*. Rapport Q.E. Lyon, Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse-Cemagref, Lyon, 218 pp.

Díaz C. y N. Maidana. 2004. *Diatomeas de los Salares de Atacama y Punta Negra, II Región, Chile*. Editor: Fernando Novoa, Manuel Contreras, Mario Parada & Andrés Camaño.

Gómez N. & M. Licursi. 2001. The Pampean Diatom Index (IDP) for assessment of rivers and streams in Argentina. *Aquatic Ecology*, 35: 173-181.

- Hustedt F. 1930. Bacillariophyta (Diatomeae). En: *Die Süßwasserflora Mitteleuropas*, vol 10. Jena: Ed. A. Pascher. 465 pp.
- Krammer K., 1992. *Pinnularia: eine Monographie der europäischen Taxa*. Berlin. Stuttgart: Bibliotheca Diatomologica, Band 26. 353 pp.
- Krammer K., 2000. *Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats*. Edited by Horst Lange-Bertalot. Volume 1: The genus Pinnularia. 2000. 217 plates of micrographs. Hardcover. 703 pp.
- Krammer K. & H. Lange-Bertalot. 1986. *Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bacillariophyceae 1: Naviculaceae*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag. 876 pp.
- Krammer K. & H. Lange-Bertalot. 1988. *Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bacillariophyceae 2: Bacillariaceae, Ephemiacae, Surirellaceae*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag. 596 pp.
- Krammer K. & H. Lange-Bertalot. 1991a. *Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bacillariophyceae 3: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag. 576 pp.
- Krammer K. & H. Lange-Bertalot. 1991b. *Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bacillariophyceae 4: Achnantheaceae, Literaturverzeichnis*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag. 437 pp.
- Lange-Bertalot H., 1993. *85 Neue Taxa*. Berlin. Stuttgart: Bibliotheca Diatomologica. Band 27. 454 pp.
- Lange-Bertalot H. & G. Moser. 1994. *Brachysira: Monographie der Gattung*. Berlin. Stuttgart: Bibliotheca Diatomologica. Band 29. 212 p.
- Lecointe, C., M. Coste & J. Prygiel 1993. "OMNIDIA": A software for taxonomy, calculation of diatom indices and inventories management. *Hydrobiologia* 269/270: 509-513.
- Licursi M. y N. Gómez. 2003. Aplicación de Índices bióticos en la evaluación de la calidad del agua en sistemas lóticos de la llanura pampeana a partir del empleo de diatomeas. *Biología Acuática*, 21: 31-49.
- Patrick R. & C. W. Reimer. 1966. *The Diatom of the United States, exclusive of Alaska & Hawaii*. Academy of Natural Sciences of Philadelphia, Vol I N°13. 668 pp.
- Patrick R. & C. W. Reimer. 1975. *The Diatom of the United States, exclusive of Alaska & Hawaii*. Academy of Natural Sciences of Philadelphia Vol II., N°13. 213 pp.
- Prygiel J. & M. Coste. 2000. *Guide Méthodologique pour la mise en oeuvre de L'Indice Biologique Diatomées*. Agence de l'Eau. Cemagref. France. 134 pp.
- Seeligman C. T., N. I. Maidana y E. Morales. 2018. Fragilariaceae (Bacillariophyta) en humedales de altura de catamarca (Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 53(4):507.
- Stevenson R. J. & L. Bahls. 1999. Periphyton Protocols. En: Barbour M. T., J. Gerritsen, B. D. Snyder & J. B. Stribling. 1999. *Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish*, Second Edition. EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency; Office of Water; Washington, D.C. 326 pp.
- Zalocar De Domitrovic, Y. & N. I. Maidana. 1997. Taxonomic and ecological studies of the Paraná River diatoms flora (Argentina). *Bibliot. Diatomol.*, 34: 2-122.

Región Patagonia

Barbour, M. T., J. Gerritsen, B. D. Snyder & J. B. Stribling. 1999. *Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, benthic macroinvertebrates and fish*, EPA 841-B. U.S. Environmental Protection Agency; Office of Water; Washington, D.C.

Gómez, N., J. C. Donato, A. Giorgi, H. Guasch, P. Mateo y S. Sabater. 2009. La Biota de los Ríos: los microorganismos autótrofos (cap. 12). En: Elosegui, A. & S. Sabater (Eds). *Conceptos y técnicas en ecología fluvial*. 1.ª Edición. Fundación BBVA, pp 219-242.

Lowe, R.L. & G. LaLiberte. 2007. Benthic Stream Algae: Distribution and Structure (ch. 16). En: Hauer, F. R. & G. A. Lamberti (Eds). *Methods in Stream Ecology*. 2.º Ed. Elsevier. Academic Press, pp 327-339.

Murdock, J. N., F. D. Shields & R. E. Lizotte. 2013. Periphyton responses to nutrient and atrazine mixtures introduced through agricultural runoff. *Ecotoxicology*, 22: 215-230.

Wu, Y. 2017. *Periphyton. Functions and application in Environmental Remediation*. Elsevier. 402 pp.

Clorofila-a fitoplanctónica

Lilen Yema

La clorofila-a es el principal pigmento fotosintético que utilizan los organismos fitoplanctónicos; esta molécula participa en la captación de energía solar con la que se sintetizan compuestos de carbono, utilizados como fuente de energía, al liberar agua y oxígeno. Los organismos fitoplanctónicos también cuentan con pigmentos accesorios a la clorofila, como los carotenoides, xantinas, las ficobilinas (cianobacterias).

La clorofila-a es ampliamente utilizada como una medida indirecta de la biomasa fitoplanctónica activa, ya que su análisis es relativamente sencillo y rápido. También puede utilizarse para el cálculo de índices, como el índice de eutrofización (OCDE,1992) y el índice de estado trófico (TSI, Carlson, 1977).

En el análisis de la clorofila se utilizan distintos solventes orgánicos para extraer el pigmento (por ej.: acetona y etanol) y su medición se realiza por métodos que tienen distinto grado de precisión y sensibilidad (por ej.: cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o fluorometría). Aquí se presentará la técnica espectrofotométrica debido a su fácil acceso y facilidad. Es importante que cualquiera sea el solvente empleado y la metodología elegida se utilicen siempre las mismas para poder comparar resultados.

Toma de muestras

- Colectar utilizando una botella de Van Dorn entre 500 mL y 1 litro de muestra en envase de vidrio o PET, oscuro o envuelto en papel de aluminio. Para más detalle ir a la sección Cianobacterias y Fitoplancton.
- Realizar el análisis de la clorofila lo más pronto posible desde su recolección y transporte, y conservar refrigerada la muestra (a 4 °C) hasta el momento de filtrado.

Materiales

- Solvente orgánico para extraer clorofila (Acetona 90% con 10% solución MgCO_3 saturada o Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) absoluto para análisis, saturado con MgCO_3 -alrededor 5mg L^{-1} , según método empleado).
- Solución carbonato de magnesio saturada: 1 g MgCO_3 en 100 mL agua destilada (para método con acetona) (Esta suspensión acuosa se añade para aumentar la eficacia de retención del filtro y evitar que la clorofila se degrade).
- Agua bidestilada o ultrapurificada
- Ácido clorhídrico HCl 0,1 N
- Filtros de fibra de vidrio tipo GF/C o GF/F de 47 mm de diámetro
- Tubos de centrifuga tipo Falcon, de plástico con tapa rosca, capacidad 15 mL
- Probetas graduadas
- Pipetas automáticas (capacidad 10 mL y 200 μ) o pipetas de vidrio graduadas
- Tips de plástico para pipetas
- Pinzas, papel de aluminio, papel tissue
- Cubetas para espectrofotómetro con tapa (se pueden tapar con parafilm)
- Jeringa y filtro de jeringa no estéril; membrana de nylon, politetrafluoroetileno (PTFE), polipropileno, celulosa regenerada; 25 mm de diámetro; tamaño de poro 0,45 μm

- Rotuladores, planillas
- Equipo de filtración por vacío con portafiltro (para filtros de 47 mm de diámetro)
- Centrífuga
- Agitador tipo vórtex
- Espectrofotómetro con rango de longitud de onda visible hasta 750 nm, resolución de 1 nm, ancho de banda de 2 nm o menos, definición igual o mayor a 0,001 unidades de absorbancia y capacidad para celdas con un trayecto óptico de 1 a 5 cm.
- Baño térmico de agua con termostato apropiado para 75 °C ± 1°C con porta tubos (etanol)

1° Etapa: filtración de muestra (Fig. 1a)

Esta etapa debe realizarse lo antes posible desde la toma de la muestra (dentro de las 24 h) en un ambiente con luz tenue para evitar la degradación de la clorofila-a.

Primero se debe filtrar la muestra de agua para obtener una fracción de fitoplancton concentrada para su análisis. El congelamiento del filtro colaborará en romper las células y liberar la clorofila.

1) Enjuagar con un poco de muestra y ensamblar un kit de filtración (previamente lavado con solución HCl 2% y enjuagado con agua miliQ) y conectar a una bomba de vacío.

2) Colocar el filtro en el kit filtrador utilizando unas pinzas limpias, encender la bomba, chequear que esté bien aislado y no haya pérdidas. La presión no debe superar los 310 milibar para no romper las células y perder el pigmento.

Mantener el equipo, especialmente la zona del filtro, tapado con papel de aluminio para evitar el contacto con la luz.

3) Homogeneizar la muestra (invirtiendo y rotando el frasco) y pasarla a través del filtro. El volumen de muestra filtrado dependerá de la cantidad de material suspendido presente en el agua; el filtro debe quedar cubierto y coloreado, pero no sobrecargado (Figura 1a). En general 500 mL son suficientes, pero puede ser menor o mayor según la densidad de la muestra; conviene ir filtrando progresivamente el volumen para evaluarlo. Registrar el volumen filtrado.

4) Con pinzas limpias, tomar el filtro por el borde y cuidadosamente plegar en cuartos (con el material filtrado hacia dentro). Continuar con la etapa de extracción, o en caso de no poder realizarla en el momento, colocar los filtros en sobres de papel de aluminio, rotular y llevar al freezer o termo de nitrógeno líquido a -20 °C o mantener en hielo.

En caso de filtrar más de una muestra, al cambiar de muestra enjuagar el kit de filtrado con un poco de la misma.

2° Etapa: extracción clorofila (Fig. 1b)

La extracción de la clorofila de las células aisladas se realiza a través de un compuesto orgánico como acetona o etanol.

Método acetona

1) Cortar al medio los filtros (recién filtrados o *freezados* al día siguiente del filtrado, pasada al menos una noche y no más de 7 días), colocar en tubos tipo Falcon de 15ml rodeados de papel de aluminio, agregar 2-3 mL de acetona 90% y moler con varilla de vidrio.

2) Completar en los tubos con acetona hasta 10ml.

3) Reposar en heladera (4 °C y oscuridad) durante mínimo 2 h y máximo 24 h.

4) **Centrifugar** las muestras durante 20 minutos a 1500rpm.

Método etanol caliente

1) Cortar al medio los filtros (recién filtrados o *freezados* al día siguiente del filtrado, pasada al menos una noche y no más de 7 días), y colocarlos en tubos Falcon de 15 mL rodeados de papel de aluminio.

2) Agregar 10 mL etanol en el tubo cubriendo completamente el filtro con el solvente. Tapar bien y agitar manualmente o con un vórtex para resuspender el material del filtro.

3) Colocar los tubos en el baño térmico a 75 °C ± 1 °C, y calentar por 10 minutos, agitando suavemente. No superar este tiempo para no degradar la clorofila.

4) Retirar los tubos y enfriar a temperatura ambiente y oscuridad durante 15 minutos (pueden enfriarse bajo el agua corriente para facilitarlos). Luego, el extracto puede ser mantenido en refrigerador y oscuridad hasta un máximo de 3 días, pero se recomienda que el tiempo entre la extracción y la medición en el espectrofotómetro sea mínimo.

5) **Centrifugar** las muestras durante 15 minutos a 3500 rpm

3° Etapa: determinación por espectrofotometría (Fig. 1c)

Se medirá la absorbancia de la muestra en dos longitudes de onda: 665 nm para medir la clorofila y 750 nm para medir la turbidez. Mantener las muestras al resguardo de la luz mientras se realizan las mediciones.

1) En el espectrofotómetro setear la línea de base con el solvente de extracción utilizado (acetona o etanol) a ambas longitudes de onda, llenando las cubetas hasta ¾ de su capacidad.

2) Pipetear 3 mL del sobrenadante de las muestras centrifugadas y colocar en las celdas de vidrio del espectrofotómetro. Medir la absorbancia a 665nm y 750 nm.

3) Si la medida de absorbancia de la muestra a 750 nm es menor a 0,005 unidades de absorbancia (UA), la muestra debe ser filtrada a través de filtro de jeringa y se debe medir nuevamente. Por otro lado, si la señal a la longitud de onda seleccionada es mayor a 0,8 UA, diluir y medir nuevamente

4) Acidificar la muestra en la celda del espectrofotómetro con 0,1 mL HCl 0,1 N. Mezclar y esperar 1 minuto. Con la acidificación la molécula de clorofila se degrada en feopigmentos, que presentan máximos de absorbancia en longitudes de onda similares a la clorofila-a. La diferencia entre la absorbancia de la muestra sin acidificar y la acidificada permitirá conocer el aporte de la clorofila-a sin productos de degradación.

5) Volver a medir la absorbancia a 665 y 750nm hasta obtener un valor estable.

Si se cambia de muestras, lavar el material con el solvente orgánico utilizado.

6) Calcular el cociente ácido:
 $(A_{665} - A_{750}) / (Aa_{665} - Aa_{750})$

Siendo Ax el valor de absorbancia en la longitud de onda indicada y Aax, el valor de la absorbancia acidificada para la longitud de onda indicada.

Los valores de este cociente para las aguas naturales suelen estar comprendidos entre 1,4 y 1,6. En caso de que la relación sea menor, añadir más ácido o prolongar el tiempo para completar la de-

gradación de la Chla. Si el valor supera 1,7, repetir toda la lectura agregando un volumen de ácido menor.

7) La concentración de Chla corregida por feofitina se calcula utilizando los datos de absorbancia según la siguiente ecuación (expresada en $\mu\text{g l}^{-1}$)

$$\text{Chla } (\mu\text{g l}^{-1}) = F * [(A_{665} - A_{750}) - (Aa_{665} - Aa_{750})] * (Vs/Vm) \text{ L}$$

(modificada de APHA (2012), corregida por turbidez)

F: factor de corrección de absorbancia, 26,7 para acetona y 28,44 para etanol

A_{665} y A_{750} : absorbancias del extracto (sin acidificar)

Aa_{665} y Aa_{750} : absorbancias luego de la acidificación

Vs: Volumen del solvente de extracción (acetona o etanol) (mL)

Vm: volumen de la muestra filtrada (L)

L: longitud del camino óptico de la cubeta (cm)

En caso de no contar con posibilidades de análisis, se puede enviar la muestra de agua colectada refrigerada y en oscuridad inmediatamente después del muestreo, o los filtros congelados obtenidos en la primera etapa descrita en este protocolo preservados en nitrógeno líquido o congelados y con silicagel.

Medición de pigmentos por fluorimetría

El método de fluorimetría es más sensible que el método por espectrofotometría previamente descrito, por lo que puede realizarse con menor cantidad de muestra. Además, puede realizarse *in vivo* utilizando las células completas de los organismos fitoplanctónicos, e incluso en el sitio de muestreo en caso de contar con un fluorómetro de campo. Esto permite obtener resultados de manera rápida, lo que es de particular importancia en casos de monitoreos de floraciones nocivas.

Los fluorómetros miden la intensidad y la longitud de onda de la luz emitida como fluorescencia por las moléculas excitadas a longitudes de onda específicas. Pueden utilizarse para medirse las concentraciones de clorofila-a y de otros pigmentos, como las ficocianinas en cianobacterias, y la turbidez (Tabla 1). Es importante

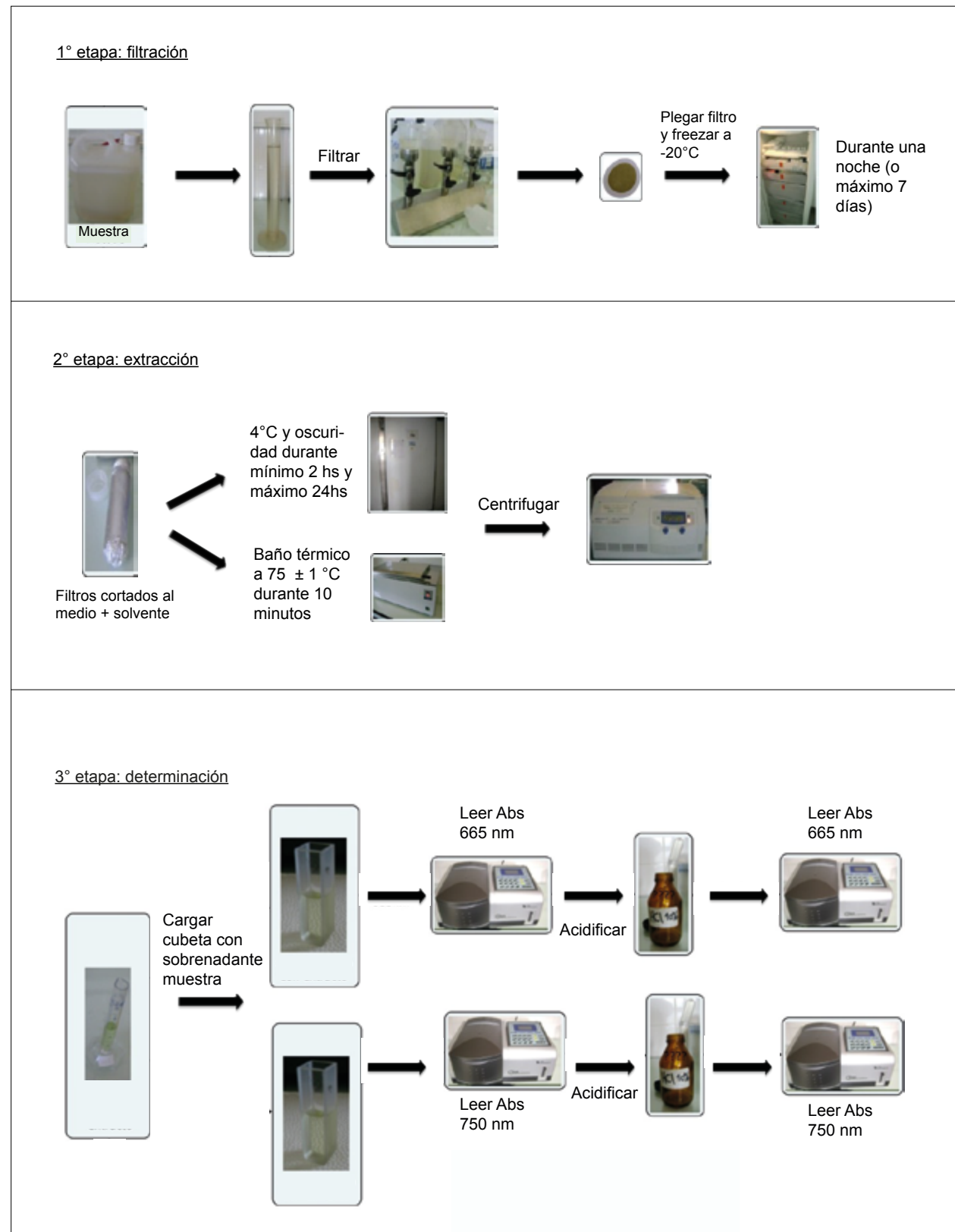


Figura 1: Procedimiento de a) la filtración de muestras, b) la extracción de la clorofila-a y c) la determinación espectrofotométrica de la clorofila-a. (Adaptado de González, 2015).

destacar que puede haber interferencia por otros compuestos que emitan fluorescencia a la misma longitud de onda.

Es recomendable calibrar periódicamente el fluorómetro con un análisis espectrofotométrico de la misma muestra para obtener mejores resultados.

Parámetro	Biomasa algal total	Cianobacteria	Turbidez
Pigmento/turbidez	Clorofila-a	Ficocianina	Partículas
Longitud de onda de excitación (nm) *	470 (30)	590 (30)	470 (30)
Longitud de onda de emisión (nm) *	685 (30)	645 (35)	470 (30)
Rango de concentración	0,03-100 µg L ⁻¹	0,03-100 µg L ⁻¹	0,04-100 UTF

*los valores de longitud de onda se expresan como longitud central y ancho de banda
 UTF: unidades de turbidez fluorimétricas
 (Adaptada de Bellinger & Sigee, 2015)

Tabla 1: Detección fluorimétrica de pigmentos fitoplanctónicos y turbidez del agua

Bibliografía

American Public Health Association (APHA). 2012. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 22.nd edition. Washington, DC: APHA, AWWA, WEF.

Bellinger, E. G., & D. C Sigee. 2015. *Freshwater algae: identification, enumeration and use as bioindicators*. John Wiley & Sons.

González, C. 2015. Estrategias colaborativas para el estudio del fitoplancton en un escenario de cambio. Congreso de AAF, Salta.

Meriluoto, J., L. Spoof & G. A. Codd (Eds.). 2017. *Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis*. John Wiley & Sons.

Bonilla S. (Ed.). 2009. *Cianobacterias Planctónicas del Uruguay. Manual para la identificación y medidas de gestión*. UNESCO, Documento Técnico PHILAC, N° 16.

U.S EPA. 1997. *Method 446.0. In Vitro determination of Chlorophylls a, b, c1+c2 and pheopigments in marine and freshwater algae by visible spectrophotometry. Revisión 1.2*. National Exposure Research Laboratory. Office of Research and Development. Cincinnati, Ohio.

Floraciones de cianobacterias

Inés O'Farrell

Las cianobacterias son organismos procariontes fotosintéticos que presentan un abanico de rasgos morfo-funcionales que les permiten dominar el fitoplancton bajo distintos escenarios. Varias especies de este grupo presentan eventos de multiplicación y acumulación denominados floraciones (Fig. 1). Estos incrementos marcados de la biomasa en cortos períodos se asocian con temperaturas elevadas, enriquecimiento de nitrógeno y fósforo y condiciones hidrológicas asociadas a una disminución de la velocidad de la corriente de los ríos (por ej., períodos de aguas bajas y remansos). Muchas especies de cianobacterias producen toxinas y ocasionan perjuicios diversos que afectan los distintos usos del recurso hídrico. También ocasionan cambios en las tramas tróficas y la biodiversidad.

Identificación del peligro

¿Cuáles son las especies de cianobacterias presentes en el río?

¿Cuál es la concentración de células de cianobacterias en el agua?

¿Alguna de estas especies es potencialmente tóxica?

En tal caso, ¿están produciendo toxinas y cuál es el nivel de toxinas totales en el agua?

Este paso involucra la determinación del potencial de las cianobacterias para producir efectos adversos en la salud integral del ecosistema (y del ser humano) y de los niveles de células y toxinas presentes en el agua. Se deben tomar muestras de agua para identificar las especies presentes y enumerar las células, estimar la biomasa y la concentración de toxinas en el agua del río (y en la

tratada cuando fuera apropiado). Se deberá diseñar un plan de muestreo en colaboración con un laboratorio analítico, si esto fuera necesario.

Muestreo

Inspección visual del ambiente

La inspección visual del curso de agua es esencial para detectar tempranamente el inicio de la proliferación de cianobacterias. Se deben registrar cambios en la coloración del agua, acumulaciones superficiales o cúmulos. Es necesario identificar las áreas de importancia para la cría y alimentación de la fauna silvestre, de recreación y de tomas de agua para bebida de animales y del hombre. Se puede realizar una inspección visual sencilla del agua con un envase transparente que revela la presencia de colonias y filamentos, o grupos de ellos, que suben a la superficie del recipiente luego de una hora de tomada la muestra (Fig. 2). Los relevamientos visuales pueden realizarse con una frecuencia quincenal durante las estaciones cálidas; en caso de incrementos marcados de la temperatura, la frecuencia puede intensificarse a dos veces por semana.

Además, se deben registrar las variables ambientales/abióticas que afectan al desarrollo de las floraciones de cianobacterias (temperatura, intensidad y dirección del viento, lluvia, caudal, velocidad de la corriente, transparencia, nutrientes-PT-NT-N:P). Si se dispone de un sensor fluorimétrico de campo para clorofila o ficocianina, se recomienda su uso para complementar el monitoreo visual. Ante eventos como los registrados en la Fig. 1, se deberá proceder a realizar muestreos adicionales a los pautados por la frecuencia indicada en el monitoreo de rutina.

Los indicadores visuales requieren de demandas mínimas de equipamiento y habilidades para el personal local. Es posible entrenar al personal para ins-

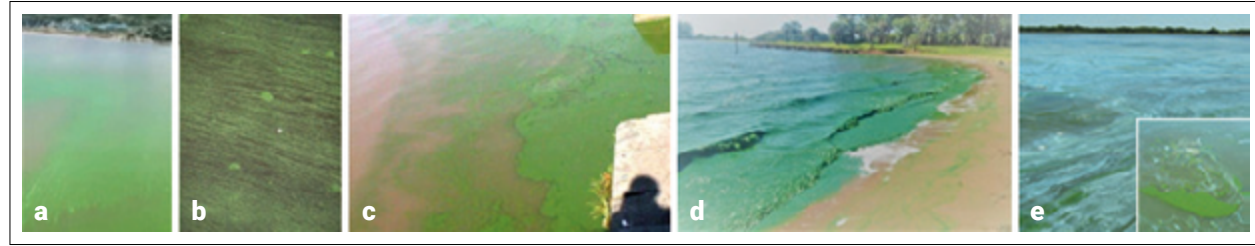


Figura 1: a) Río de la Plata, b) río Paraná, c) puerto de Santa Fe, d) playa en el río Uruguay (Salto Grande) y e) cauce principal del tramo inferior del río Uruguay.

peccionar los sitios de forma regular con registros de transparencia (profundidad del disco de Secchi), decoloración y formación de cúmulos entre otros aspectos. El Ciano Semáforo confeccionado por el Ministerio de Salud de la Nación, adaptado y utilizado por la Comisión Administradora del Río Uruguay (CARU) sirve como ejemplo de un indicador visual sencillo utilizado en los balnearios del Río Uruguay.

Materiales necesarios

Los materiales para el muestreo se detallan en el ítem Metodología de campo y conservación de muestras.

Temas de seguridad: La exposición a las toxinas durante la toma de muestras, incluso a dosis muy bajas, puede presentar riesgos potenciales a la salud como erupciones en la piel, irritación de las vías respiratorias superiores y otros efectos derivados de una exposición crónica. Se deben seguir los protocolos de seguridad a nivel nacional, cuando existen: uso de guantes largos que cubran el brazo y botas de vadeo, evitar las salpicaduras en la piel, cubrirse los ojos y enjuagar todos los elementos de muestreo con agua limpia. En el laboratorio se debe usar delantal, guantes, protectores de ojos y tomar las precauciones necesarias para evitar salpicaduras y derrames, y lavar todos los elementos de la mesada.

Selección del sitio de muestro en el río

La frecuencia de muestreo, definida según el objetivo, debe intensificarse en las estaciones cálidas, (cada 15 días) y complementarse con una inspección visual regular del río que permitirá tomar decisiones del diseño de muestreo. La distribución de las poblaciones de cianobacterias tiene una naturaleza heterogénea y dinámica que implicará una respuesta flexible en el momento de la selección del sitio de muestreo. Un muestreo adecuado debe considerar la localización de las floraciones en la dimensión transversal del río, considerando especialmente las zonas protegidas de la corriente del cauce principal, y en la columna de agua (profundidad). Entonces, en cursos chicos se deberá muestrear aguas arriba de zonas de turbulencia y, en ríos medianos y grandes, se recomienda tomar

muestras en el cauce principal en sitios prefijados (ver MF) y en sitios de orilla en donde se verifique la acumulación de cianobacterias (puertos, balnearios, remansos, etc.). En cuanto a la distribución vertical, se recomienda tomar la muestra a unos 20 cm de la superficie. Así, se priorizará en el programa de muestreo la representatividad de los máximos de abundancia en estratos subsuperficiales, característicos de las especies reguladoras de la flotabilidad con capacidad de formar cúmulos en superficie (ej., *Microcystis* y *Dolichospermum*). Con este diseño de muestreo, también podrán ser colectadas de forma eficiente las especies con estrategia dispersivas (ej. *Planktothrix* y *Raphidiopsis*) y las formadoras de cúmulos en ambientes muy turbulentos.

Obtención de muestra para análisis cuantitativo

El volumen de la muestra deberá ser mayor en sistemas menos productivos o con mucha turbidez inorgánica (300 mL) mientras que, en ríos más productivos y con escasa turbidez inorgánica, serán suficientes entre 100 y 200 mL. En ambientes someros y en aguas subsuperficiales usar muestreadores de mano (por ej., baldes con un peso) mientras que, si la columna de agua estuviera estratificada, se deberá emplear un muestreador tipo botella Van Dorn para integrar las diferencias verticales (ver MF). Cuando sea posible, la muestra subsuperficial se puede tomar directamente en el envase de boca ancha donde se preservará, sosteniéndolo con la mano o con una vara larga y rígida. Homogeneizar el agua en el muestreador (balde) y luego llenar el envase de boca ancha de plástico de alta densidad de tapa a rosca (100 mL a 300 mL según corresponda). Rotular el envase especificando en la etiqueta: sitio, fecha, profundidad, muestra para análisis cuantitativo. Fijar la muestra con lugol o lugol acético en una dilución 1% y almacenar en frío y oscuridad en el laboratorio hasta su recuento; mantener el fijador en un frasco de vidrio color caramelo y protegida de la luz y renovarla periódicamente (ver MF). Del agua colectada y homogeneizada en el muestreador, tomar, además, una muestra entre 500 y 1000 mL para clorofila en un envase de plástico de alta densidad y una muestra entre 500

y 2000 mL (según requerimientos del operador) en envase color caramelo para la determinación de toxinas. Ambas muestras deben refrigerarse y almacenarse a resguardo de la luz para su transporte al laboratorio en el día (pocas horas). Ver protocolo: CLOROFILA y CIANOTOXINAS.

Obtención de muestra para análisis cualitativo

Estas muestras son necesarias para clasificar las especies o géneros, tomar mediciones u obtener individuos para cultivos. Siempre que sea posible, tomar una muestra con red de fitoplancton de 10 a 30 μm de poro (NO USAR PARA ANÁLISIS CUANTITATIVO) (Fig. 2). Si el río tiene una velocidad de corriente tal que mantiene la red suspendida subsuperficialmente, filtrar por 2 ó 3 minutos; caso contrario, realizar 10 lances o hasta que se colmate. Si no se dispone de red, tomar una muestra del lugar más "verde". Rotular el envase especificando sitio, fecha, profundidad, análisis cualitativo, fijada o viva. Fijar la mitad del volumen colectado con formalina en una dilución 3% y la otra mitad mantenerla viva, en frío y oscuridad. Las muestras vivas se pueden preservar por varios días a 15-20 °C y luz tenue (Ver Fijadores).

Análisis de las muestras en el laboratorio

Análisis de muestras cualitativas

La identificación de las especies o géneros se realiza bajo microscopio óptico a 10x, 40x y 100x de aumento, equipado con retícula y reglilla para medir las dimensiones de las células (vegetativas y especializadas) y de los individuos. Dado que las dimensiones de los organismos de cada una de las especies varían en tiempo y espacio, se recomienda medir un mínimo de 20-30 individuos por especie en cada muestra. Estas observaciones son

necesarias para identificar las especies y estimar la biomasa de las cianobacterias. Las estimaciones de biomasa y densidad de células son necesarias para obtener indicadores de alerta en comparación a los resultados obtenidos con los niveles guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

La estimación de la biomasa fresca se realiza en base a cálculos de biovolumen de los organismos pertenecientes a cada especie, asimilándolos a formas geométricas sencillas (Hillebrand *et al.* 1999, Sun y Dongyan 2003, y se expresa en μm^3 . Para los filamentos se deberá medir su largo, ancho y estimar número de células por filamento, mientras que para las colonias se deberá estimar el número de células considerando sus tres dimensiones (largo, ancho y espesor). Se recomienda observar en altura (espesor) la colonia para contar las células de sus diferentes planos regulando la observación con el tornillo micro y el macrométrico del microscopio; proceder de esta forma en un sector delimitado de la colonia para luego extrapolar a la totalidad del organismo y finalmente a la colonia de tamaño promedio estimada anteriormente.

Para asignar los individuos observados y medidos a una especie, se utilizará la siguiente bibliografía:

Komárek y Anagnostidis (1999, 2005) y Komárek (2013). Para acceder a una descripción breve y sencilla de los géneros se puede utilizar Aguilera y Echenique (2017). Se recomienda siempre tener en cuenta la base de datos CyanoDB especializada en cianobacterias que provee referencias del estado actual de la taxonomía:

En la Tabla 1 se detallan las especies de cianobacterias planctónicas formadoras de floraciones frecuen-



Figura 2: Red de fitoplancton (Foto: Zalocar), frasco transparente

temente registradas en la Argentina y cuáles de ellas son potencialmente tóxicas (O'Farrell et al., 2019).

En la Fig. 3 se presentan fotografías de las especies más abundantes que ilustran las eco-estrategias de vida típicas de distintos ambientes: *Microcystis aeruginosa* y *Dolichospermum spiroides* son formadoras de cúmulos en la superficie mientras

que *Raphidiopsis mediterranea*, *R. raciborskii* y *Planktothrix agardhii* se dispersan de forma homogénea en la columna de agua.

Análisis de muestras cuantitativas

El análisis cuantitativo de las poblaciones de cianobacterias se realiza sobre las muestras fijadas

Order Chroococcales	Order Nostocales (sig.)
<i>Coelosphaerium kuetzingianum</i> *	<i>Aphanizomenon platense</i>
<i>Microcystis aeruginosa</i> *	<i>Aphanizomenon schindleri</i>
<i>Microcystis flos-aquae</i> *	<i>Cuspidothrix issatschenkoi</i> *
<i>Microcystis natans</i>	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> *
<i>Microcystis novacekii</i> *	<i>Dolichospermum affine</i> *
<i>Microcystis wesenbergii</i> *	<i>Dolichospermum cf. bituri</i> *
<i>Snowella lacustris</i> *	<i>Dolichospermum circinale</i> *
Order Oscillatoriales	<i>Dolichospermum flos-aquae</i> *
<i>Arthrospira maxima</i>	
<i>Arthrospira platensis</i> *	<i>Dolichospermum helicoideum</i>
<i>Planktothrix agardhii</i> *	<i>Dolichospermum lemmermannii</i> *
Order Nostocales	<i>Dolichospermum planctonicum</i> *
<i>Anabaenopsis circularis</i>	<i>Dolichospermum pseudocompactum</i>
<i>Anabaenopsis cunningtonii</i>	<i>Dolichospermum spiroides</i> *
<i>Anabaenopsis elenkinii</i>	<i>Dolichospermum viguieri</i> *
<i>Anabaenopsis milleri</i> *	<i>Nodularia spumigena</i> *
<i>Anabaenopsis nadsonii</i>	<i>Raphidiopsis curvata</i> *
<i>Anabaenopsis tanganykae</i>	<i>Raphidiopsis mediterranea</i> *
<i>Aphanizomenon aff. flos-aquae</i> *	<i>Sphaerospermopsis aphanizonemoides</i> *
<i>Aphanizomenon favaloroi</i>	<i>Sphaerospermopsis torques-reginae</i> *
<i>Aphanizomenon gracile</i> *	

Tabla 1: Especies planctónicas formadoras de floraciones y potencialmente tóxicas registradas en la Argentina según el metanálisis de O'Farrell et al. (2019).

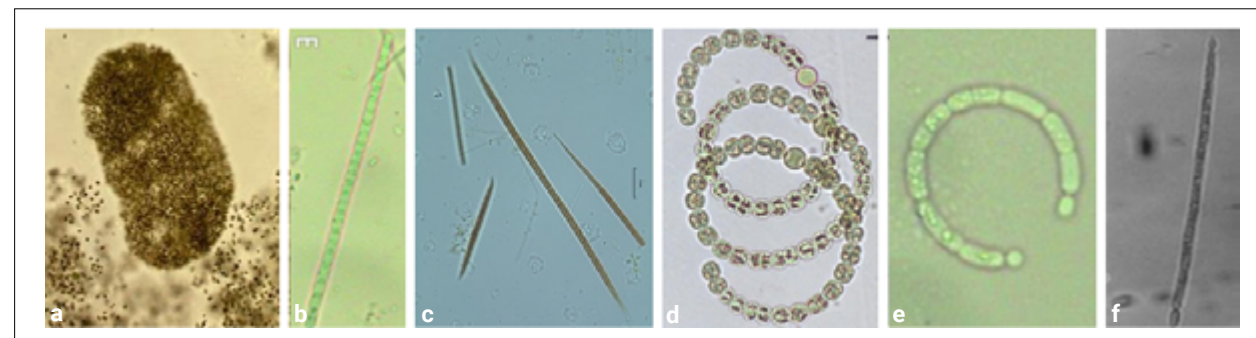


Figura 3: Algunas especies de cianobacterias frecuentes: a) *Microcystis aeruginosa*, b) *Planktothrix agardhii*, c) *Raphidiopsis mediterranea*, d) *Dolichospermum spiroides*, e) *Anabaenopsis cf. circularis*, f) *R. raciborskii*.

con solución de lugol y se utiliza un microscopio invertido según el método de Utermöhl (1958). Los organismos de la muestra se sedimentan en cámaras con columnas de sedimentación de volumen conocido, seleccionadas según la abundancia de individuos. Para el recuento de cianobacterias se suele utilizar las cámaras de menor volumen (2, 5 ó 10 mL); se requiere un tiempo de sedimentación de 3 horas por cada centímetro de altura de la cámara, en un ambiente húmedo para evitar la evaporación. Si bien los recuentos se realizan en campos al azar o en transectas a 400X, se pueden contar a un aumento menor (100-200X) la totalidad de los individuos de aquellas especies de grandes dimensiones presentes en la cámara (ej., *Microcystis*). El recuento de floraciones intensas se puede realizar en cámaras de un volumen aún menor, Sedwick-Rafter (1 mL), bajo microscopio óptico convencional luego de una sedimentación de más de 30 minutos. En el caso que no sea posible realizar el recuento por los métodos anteriores porque la densidad de organismos en la muestra sea extremadamente alta o haya mucho material en suspensión, se pueden realizar diluciones de la muestra original con agua destilada y considerar el volumen del procedimiento de la dilución para el cálculo de la densidad final.

Con el recuento de organismos (colonias, filamentos, células) obtenido para cada especie por unidad de volumen, se puede estimar tanto la densidad de cada especie y la densidad total de cianobacterias en la muestra (individuo/ml). Los resultados se pueden expresar como células/ml, dividiendo la densidad de cada una de las especies por el número estimado de células promedio de cada una de ellas, calculado en el apartado de "Análisis de muestra cuantitativa". Además, se deberá estimar el biovolumen de cada especie en la muestra, multiplicando la densidad de organismos por especie obtenida en el recuento por el volumen específico promedio de esta especie, según se indicara en el apartado anterior. El biovolumen total de cianobacterias de la muestra se obtiene al sumar el de todas las especies y se expresa como $\mu\text{m}^3/\text{ml}$ (o mm^3/L). Tanto el biovolumen (estimador de biomasa) como la densidad de células se utilizarán para comparar con los niveles de alerta de la OMS y eventualmente con valores nacionales.

NOTA: una estrategia que puede facilitar el recuento del número de células de la totalidad de colonias grandes y densas (sin discriminar por especie) es la eliminación del mucílago por medio de la hidrólisis alcalina con hidróxido de potasio (KOH) o de sodio (NaOH) en caliente, teniendo en cuenta para el cálculo del resultado final de células/ml la dilución utilizada. En este caso, la estimación de la biomasa se debe hacer para las células.

Interpretación de resultado

A partir de los resultados de densidad y biomasa de cianobacterias y concentración de toxinas se construyen los indicadores del estado de la calidad de agua para ser contrastados con niveles guía nacionales y de la OMS. Es importante aclarar que en la Argentina no hay hasta el momento estándares ni niveles de alerta para cianobacterias o sus toxinas y, entonces, se recomienda utilizar los valores de la OMS (Tabla 2) de acceso abierto en <https://www.who.int/publications/m/item/toxic-cyanobacteria-in-water--second-edition>

Un caso interesante en nuestro país es el de la Comisión Administradora de Río Uruguay que emplea una tabla de valores adaptados de las regulaciones de distintos países del hemisferio sur y de la OMS:

<http://www.caru.org.uy/web/2017/12/programa-de-vigilancia-de-playas-del-rio-uruguay/>

La caracterización del riesgo se basa en la biomasa o concentración de células y/o de toxinas, la extensión en el curso de agua (tiempo y espacio) de la floración y de su potencial tóxico, el tipo de actividades que se llevan a cabo en el mismo y el nivel de contacto que el público o la fauna (silvestre y ganado) tienen con el sistema acuático. La densidad y la biomasa de cianobacterias ponen de manifiesto parámetros de toxicidad estimados a partir de las concentraciones de toxinas. Es importante destacar que la biomasa incluye valores inespecíficos de los efectos de las floraciones de cianobacteria (ej., metabolitos desconocidos y patógenos asociados) y que el análisis microscópico de biovolumen de las cianobacterias o de pigmentos por espectrofotometría, sensores fluorimétricos *in situ* o remotos es más sencillo y barato que el análisis de las distintas toxinas presentes en el cuerpo de agua. Para expresar el potencial tóxico de una floración se usan distintas alternativas:

1) concentración de distintas toxinas (ej., microcistina - MC).

2) relación entre concentración de toxina y la abundancia de cianobacterias según su número de células (MC/cel), biovolumen (MC/BV) o clorofila-a (MC/Chl-a).

En la Fig. 4 se sintetiza la aproximación para realizar una evaluación y manejo del riesgo sugerida por la OMS.

(http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/dwq_guidelines/en/).

	Cianotoxina o cianobacteria	Nivel guía (ng), valor guía provisional (vgp)	Acciones
Niveles guía para agua de bebida			
OMS	Microcistina-LR	VGP: 1 µg/L (idem para suma de microcistinas)	Evaluación de riesgo
	Cilindrospermopsina	VGP: 0,7 µg/L	
	Cianobacteria	0,3 mm ³ /L	Nivel Alerta 1
	Cianobacteria	4 mm ³ /L	Nivel Alerta 2
Niveles guía para el manejo de cuerpos de agua usados para recreación			
WHO	Microcistina	VGP: 24 µg/L	
	Cilindrospermopsina	VGP: 6 µg/L	
	Anatoxina	VGP: 60 µg/L	
	Saxitoxina	VGP: 30 µg/L (15 µg/L para niños)	
	Cianobacteria	NA1: 20.000 cel/mló 10 µg/L Chl-a	
		NA2: 100.000 cel/mló 50 µg/L Chl-a, 8 mm ³ /L	Informar a las autoridades. Monitorear, restringir baño
	Grumos o cúmulos	Presencia	Informar a las autoridades. Prevenir contacto, prohibir natación

Tabla 2: Valores guía para distintos usos del agua propuestos por la OMS para cianobacterias y cianotoxinas con exposición crónica.

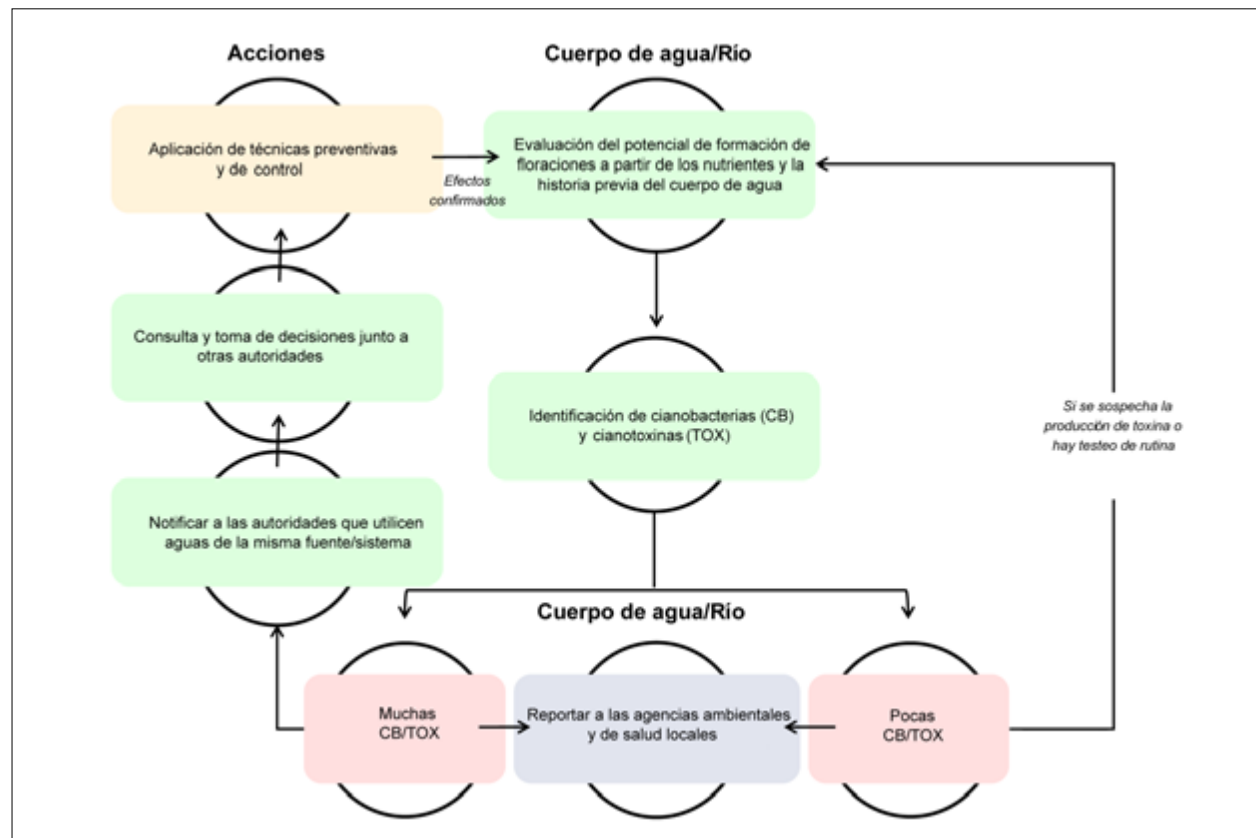


Figura 4: Gráfico de flujo del manejo de cianobacterias en el agua adaptado de la OMS.

Para evaluar el potencial del cuerpo de agua/río que alberga floraciones de cianobacterias, se deben conocer cuáles son las condiciones que promueven estos eventos masivos de crecimiento. En este sentido, si bien es fundamental conocer la concentración de fósforo total en el sistema debido a que este limita la cantidad de biomasa posible, existen variables adicionales tales como la temperatura, la estratificación térmica, la condición lumínica, la concentración de clorofila-a fitoplanctónica y la concentración de nitrógeno que proveen de información necesaria para realizar una evaluación adecuada. En la Fig. 5 se ejemplifica la interacción de algunos fac-

tores determinantes para que el cuerpo de agua sea vulnerable a la ocurrencia de floraciones.

Además, es necesario establecer el tipo y grado de exposición: recreacional: ¿para qué actividades se usa el curso de agua?, doméstica: ¿el agua se usa para bebida, baño, cocina? ¿existe un tratamiento de agua capaz de remover las células de cianobacterias y las toxinas? vida silvestre y ganado doméstico: ¿cuál es el tiempo de exposición? ¿existe forma de evitar la exposición a las floraciones? En base a la identificación de la exposición, se procederá a informar a las autoridades pertinentes.

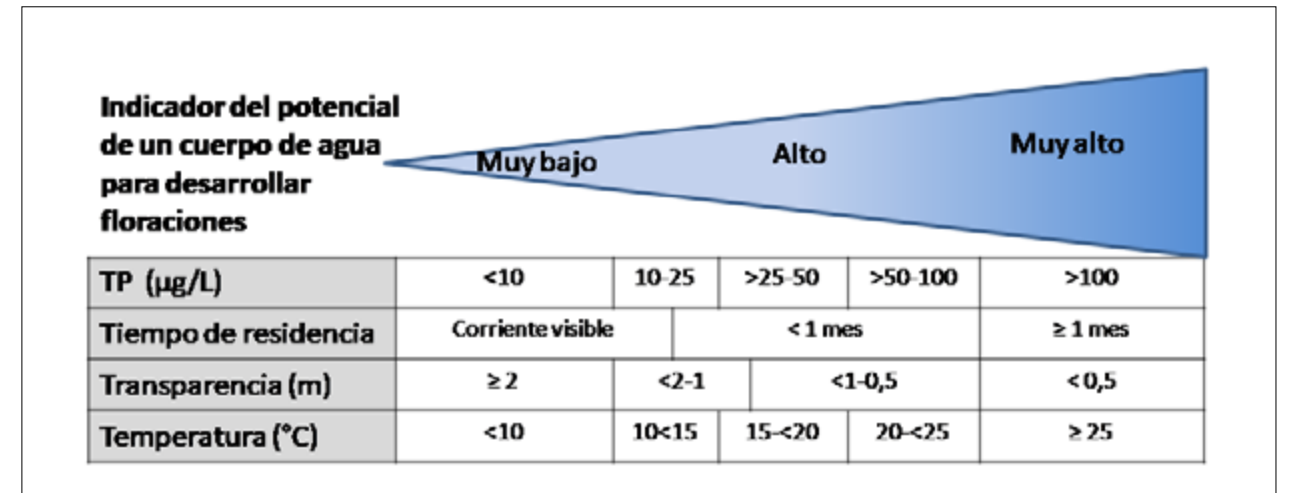


Figura 5: Indicadores ambientales del potencial de un cuerpo de agua para formar floraciones. Adaptado de http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/dwq_guidelines/en/

Bibliografía

Floraciones de cianobacterias

Aguilera A. y R. O. Echenique. 2017. Cyanobacteria nocivas de ambientes acuáticos continentales: taxonomía y ecología (pp. 27-48). En: Giannuzzi L., T. Petcheneshsky y M. Hansen (Eds.). *Cyanobacterias como determinantes ambientales de la salud*. Buenos Aires: Ministerio de Salud de la Nación. Dirección Nacional de Determinantes de la Salud e Investigación, Libro digital.

Hauer, T. y J. Komárek. 2020. *CyanoDB 2.0 - Online database of cyanobacterial genera. - World-wide electronic publication*, Univ. of South Bohemia & Inst. of Botany AS CR, <http://www.cyanodb.cz>.

Komárek J. y K. Anagnostidis. 1999. *Cyanoprokaryota -2. Teil: Chroococcales*. In: Ettl H, G. Gärtner, H. Hyenig, D, Mollenhauer (Eds). *Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/1*. 548 pp.

Komárek, J. y K. Anagnostidis. 2005. *Cyanoprokaryota -2. Teil: Oscillatoriales*. In: Büdel B, L Krienitz, G. Gärtner, M. Schagerl (Eds). *Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/2*. 759 pp.

Komárek J. 2013. *Cyanoprokaryota -3. Teil: Heterocytous Genera*. In: Büdel B, G Gärtner, L Krienitz, M Schagerl (eds). *Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/3*. 1130 pp.

O'Farrell I., C. Motta, M. Forastier, W. Polla, S. Otaño, N. Meichtry, M. Devercelli, R. Lombardo. 2019. Ecological meta-analysis of the bloom-forming planktonic Cyanobacteria in Argentina. *Harmful Algae*, 83: 1-13.

Evaluación de la concentración de cianotoxinas

Carolina González e Inés O'Farrell

Las cianotoxinas son potentes metabolitos de origen cianobacteriano. Estas moléculas presentan una amplia diversidad estructural y son detectables mediante análisis químicos, moleculares, inmunoensayos y bioensayos. Estos metabolitos están implicados en las floraciones de cianobacterias y tienen potencial para provocar intoxicaciones masivas y causar diversos impactos sobre la salud y el medioambiente. La exposición puede ocurrir por vía oral, mediante la ingesta de agua, peces o moluscos, por vía dérmica a través de la piel y mucosas, por inha-

lación de aerosoles presentes en una floración, o por hemodiálisis.

En la Tabla 1 se presentan las características generales de los principales tipos de cianotoxinas, sus efectos y las cianobacterias productoras: microcistinas, saxitoxinas, cilindrospermopsinas y anatoxinas. Entre la amplia variedad de cianotoxinas descritas están, además, las nodularinas, lyngbyotoxinas, BMAA y lipopolisacáridos, cuyas características no serán abordadas aquí por haber hasta la fecha menos registros en nuestro país.

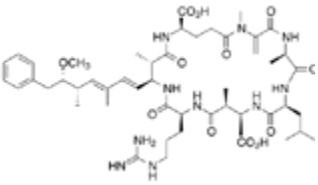
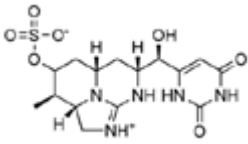
Tipo de toxina y consecuencia	Principales géneros productores de toxinas	
<p>Microcistinas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hepatotoxinas • Heptapéptidos • Daño hepático; gastroenteritis 		<p><i>Oscillatoria</i> <i>Anabaenopsis</i> <i>Phormidium</i> <i>Synechococcus</i></p>
<p>Saxitoxinas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Neurotoxinas • Alcaloides • Parálisis muscular 		<p><i>Aphanizomenon</i> <i>Dolichospermum</i> <i>Anabaena</i></p>
<p>Cilindrospermopsinas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hepatotoxinas • Alcaloides tricíclicos • Necrosis de órganos 		<p><i>Oscillatoria</i> <i>Raphidiopsis</i> <i>Aphanizomenon</i></p>
<p>Anatoxina-a</p> <ul style="list-style-type: none"> • Neurotoxinas • Alcaloides bicíclicos • Bloqueo neurológico 		<p><i>Dolichospermum</i> <i>Anabaena</i> <i>Aphanizomenon</i></p>

Tabla 1: Características principales de las cianotoxinas, sus efectos sobre la salud y los organismos que las producen.

Extracción de muestras y conservación para el análisis cuantitativo de toxinas

La extracción de muestras debe realizarse de modo que sea representativa de las características del cuerpo de agua y a la profundidad definida en función de los objetivos del estudio (ver apartados de fitoplancton y de cianobacterias). Se deben emplear envases de boca ancha o botella tipo Van Dorn y alcanzar un volumen de 0,5 a 1 L de muestra, dependiendo de la densidad de organismos presentes. Colectar mayor volumen cuanto más transparente sea el cuerpo de agua. Para agua de red es importante extraer un volumen de 2 L ya que generalmente la concentración de toxinas en esta matriz es muy baja. Para la recolección de muestras superficiales, sumergir directamente el recipiente con la mano o sostenido con una vara larga rígida en forma horizontal, o de forma vertical cuando se realiza un muestreo integrado de distintas profundidades. Para asegurar la estabilidad de las toxinas presentes en las muestras debe transferirse inmediatamente un volumen mínimo de 500 mL a recipientes plásticos opacos con tapa y mantenerse en oscuridad refrigeradas a 4 °C hasta su llegada al laboratorio dentro de las 8 horas. Colocar inmediatamente en freezer (-20 °C), en la oscuridad y de forma inclinada, teniendo especial cuidado de no llenarlas completamente con la muestra para que el líquido al expandirse no haga estallar el recipiente que lo contiene y se pierda o contamine la muestra; se debe evitar la fotodegradación y la adsorción de las toxinas al envase. El análisis deberá realizarse lo antes posible o conservarse en estas condiciones durante un plazo máximo de 4 semanas posteriores al muestreo.

NOTA: los volúmenes a extraer pueden variar en función de la densidad de cianobacterias y el cromatógrafo que se utilice; los volúmenes que aquí figuran son orientativos.

Metodologías disponibles para el análisis de cianotoxinas

Dado que las cianotoxinas pueden estar presentes en la muestra en forma soluble (libres o extracelulares) o dentro de las células cianobacterianas (intracelulares), los procedimientos analíticos deben ser capaces de determinar ambas fracciones o el total de las cianotoxinas presentes. La proporción relativa de ambas fracciones depende de numerosos factores tales como la especie productora, la etapa de crecimiento de la población, o el tipo de toxina. La mayor parte de los métodos disponibles detectan solo la toxina en su forma soluble, por eso es necesario realizar un tratamiento de ruptura celular que permita luego determinar la fracción intracelular de toxinas. La ruptura se logra por congelado y descongelado, liofilización o sonicación. Luego, se realiza la extracción de cianotoxinas presentes en la muestra según el tipo de molécula para proceder, finalmente, a la etapa analítica.

Existe una amplia gama de técnicas disponibles para la detección y cuantificación de cianotoxinas; éstas se aplican según los objetivos del estudio, la matriz en la cual se encuentren las cianobacterias y tipo de toxina, los costos, y el equipamiento disponibles. En la Tabla 2 se presentan las características salientes de los inmunoensayos y la cromatografía, dos técnicas ampliamente utilizadas para la detección y cuantificación de cianotoxinas.

Método	Ventajas	Desventajas
Enzimoinmunoensayo <ul style="list-style-type: none"> • Screening 	-Alta especificidad -Alta sensibilidad -Bajo costo -Tratamiento de muestra escaso o nulo -Fácil uso <i>in situ</i> y en laboratorio -Posibilidad de procesar gran cantidad de muestras en simultáneo	-Inespecífico para diferentes variedades de igual toxina -Subestimaciones por efecto matriz -Vulnerable a falsos positivos -Disponibilidad de kits variable según la toxina
Cromatografía <ul style="list-style-type: none"> • Detección • Confirmación 	-Alta sensibilidad (variable para Anatoxina-a) -Determinación unívoca de la identidad -Muchas muestras en simultáneo	-Alto costo en equipamiento -Requiere pretratamiento -Posibles interferencias en Saxitona y Anatoxina-a

Tabla 2: Principales características de los inmunoensayos y la cromatografía. Esta comparación está orientada a facilitar una aproximación acerca de cuál técnica resulta más adecuada para distintos estudios de las cianotoxinas. Existen además otras técnicas disponibles, tales como inhibición de proteínas fosfatasa (PP1) y bioensayos con ratón, que no se abordan en este capítulo.

Enzimoinmunoensayos y cromatografía en la detección de cianotoxinas

Los inmunoensayos son técnicas que se basan en el principio que los anticuerpos reconocen de manera específica una estructura química determinada. La técnica ELISA (EnzymeLinkedImmunoassay) es capaz de detectar un antígeno en un soporte sólido, mediante anticuerpos que reaccionan dando un producto coloreado que se puede medir espectrofotométricamente. Son aplicables al análisis de gran cantidad de muestras en laboratorios que cuenten con equipamiento básico y son útiles para realizar ensayos preliminares o de *screening*. Los resultados deben ser confirmados por métodos cromatográficos, ya que el método es vulnerable a los falsos positivos. Existen distintos tipos y formatos de test ELISA aptos para análisis de cianotoxinas. Esta variedad también se ve reflejada en la simplicidad, el costo y la sensibilidad de la técnica que varía, a su vez, para cada toxina que se desee analizar. Representan una buena alternativa de uso para la microcistina como ensayos rápidos, dado que permiten estimar la concentración de microcistinas por debajo del límite recomendado por la WHO (1 µg.L⁻¹).

La cromatografía es un método basado en principios físico-químicos para separar componentes de una muestra en una fase estacionaria y otra móvil. En el caso del análisis de cianotoxinas, la metodología más empleada es la cromatografía líquida (LC), pero también puede emplearse cromatografía gaseosa (GC). En ambos casos, la sensibilidad de la técnica es alta y es muy versátil dependiendo del equipo con que se cuente. Tanto la cromatografía líquida como la gaseosa admiten distintos

tipos de detectores según las características de la toxina que se desee determinar. Los espectrómetros de masas (MS) acoplados a cromatógrafos permiten determinar cuáles son las sustancias que componen una muestra midiendo la relación masa/carga de iones (m/z) de cualquier compuesto ionizable. El espectro de masas resultante es un gráfico de la abundancia relativa de los iones medidos en función de su relación m/z. De esta manera, es posible cuantificar la concentración del analito disuelto integrando el área del pico obtenido en la corrida. Cada pico correctamente resuelto en un cromatograma indica la presencia de una sustancia y su área está directamente relacionada con la concentración de dicha sustancia. A su vez, el tiempo de retención (tr) es característico y, por lo tanto, si es coincidente con el tiempo de retención del patrón de referencia inyectado en el equipo en iguales condiciones, se infiere que se trata de la misma sustancia. Estos equipos son muy recomendables para lograr alta especificidad y sensibilidad en el análisis, en algunos casos del orden de 10⁻³ µg.L⁻¹. En la Fig. 1 se presentan, a modo de ejemplo, dos salidas de cromatógrafos con detector Ultravioleta (UV) y de Masas (MS).

Selección de metodologías cromatográficas para el análisis de cianotoxinas

En este apartado se hace referencia a los tratamientos más comúnmente empleados para detectar y cuantificar cianotoxinas totales, con el objetivo de comparar los resultados con los niveles guía sugeridos por la OMS. La estimación de las toxinas totales presentes en una muestra se expresa en unidades de concentración de masa de

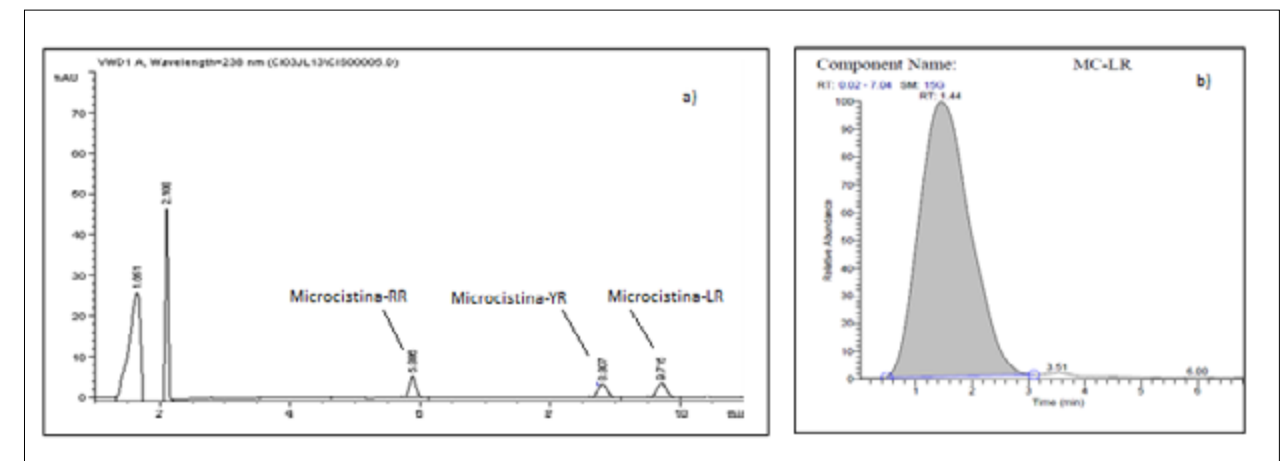


Figura 1: Cromatogramas obtenidos con cromatografía líquida de alta resolución. a) salida obtenida con un detector Ultravioleta (UV) en la cual se observan los picos correctamente resueltos correspondientes a los congéneres de microcistina-LR, YR y RR, según el tiempo de retención de cada uno. b) salida obtenida con detector de Masas (MS) únicamente para microcistina-LR, según su tiempo de retención y la detección de los iones característicos m/z.

toxina en función del volumen. La concentración de toxina total se calcula como la suma de las toxinas disueltas más las toxinas intracelulares, que se incorporan a la fase líquida mediante diferentes tratamientos que dependen de la molécula.

A continuación, se indica el tratamiento general empleado para obtener toxinas totales presentes en la muestra, que luego se cuantificarán utilizando las metodologías correspondientes.

Selección de metodologías cromatográficas para el análisis de cianotoxinas

En este apartado se hace referencia a los tratamientos más comúnmente empleados para detectar y cuantificar cianotoxinas totales, con el objetivo de comparar los resultados con los niveles guía sugeridos por la OMS. La estimación de las toxinas totales presentes en una muestra se expresa en unidades de concentración, como masa de toxina en función del volumen. La concentración de toxina total se calcula como la suma de las toxinas disueltas más las toxinas intracelulares, que se incorporan a la fase líquida mediante diferentes tratamientos que dependen de la molécula.

A continuación, se indica el tratamiento general empleado para obtener toxinas totales presentes en la muestra, que luego se cuantificarán utilizando las metodologías correspondientes.

Pretratamiento general para cianotoxinas Materiales, reactivos y soluciones

- Freezer y/o equipo sonicador
- Centrífuga
- Filtros tipo Whatman de 10µm de poro, 10 cm de diámetro
- Cartuchos de material empaquetado (tipo Sep-Pak)

Procedimiento:

a. Lisis celular: someter a la muestra a 3 ciclos de congelado-descongelado, o bien someterla a ciclos de 10 minutos de sonicado. Se pueden combinar ambas técnicas.

b. Separación de los restos celulares: centrifugar la muestra a 3500 rpm durante 15 minutos.

c. Filtrar el sobrenadante obtenido.

d. Para evitar interferencias en la cromatografía: hacer pasar las muestras a través de cartuchos tipo Sep-Pak, especialmente si presentan una coloración intensa.

e. El filtrado recolectado será analizado para determinar toxinas totales. Se inyectará directamente o luego de realizar tratamientos posteriores, según se indica a continuación.

Nota: Si solo se desea determinar el contenido de cianotoxinas intracelulares, no se aplicarán ciclos de congelado-descongelado, sino que se deberán utilizar soluciones de extracción sobre las células retenidas en un filtro sin provocar su ruptura y liberación de la toxina.

Sin embargo, muy frecuentemente para analizar toxinas totales es conveniente realizar ambos procedimientos, tanto las extracciones por congelamiento-descongelamiento como el empleo de soluciones de extracción, para aumentar la eficiencia del método.

Metodologías específicas para Microcistinas, Saxitoxinas, Cilindrospermopsinas y Anatoxinas para la cuantificación de toxinas totales

Microcistinas - Protocolos para la detección y cuantificación de Microcistinas totales

1) HPLC-UV (adaptado de Standard ISO 20179:2005)

Para la determinación de microcistinas totales se deberá recolectar el volumen filtrado en el pretratamiento general (A) e inyectarlo en el cromatógrafo.

Se presenta a continuación la extracción con solventes, que podrá adicionarse a A.

◆ Extracción con solventes

Materiales, reactivos y soluciones

- Vaso de precipitado de 200mL
- Equipo sonicador
- Centrífuga
- Balón con cuello esmerilado
- Rotavapor o baño termostático
- Solución de extracción: Butanol: Metanol: Agua (5:20:75, V:V:V)

- Guantes y mascarilla protectora o sistema de extracción de gases

Procedimiento:

*Colocar los filtros con el contenido celular provenientes de la filtración anterior en un vaso de precipitado.

*Agregar 5-10 mL de la solución de extracción por cada filtro

*Agitar durante 1 hora o sonicar durante 10 minutos

*Retirar los filtros

*Centrifugar el extracto a 3500 rpm durante 15 minutos.

*Separar el sobrenadante

*Realizar una segunda extracción sobre el precipitado obtenido en la centrifugación, repitiendo el procedimiento anterior.

*Trasvasar el sobrenadante resultante de ambas extracciones a un balón con cuello esmerilado

*Descartar el precipitado.

*Evaporar la fracción alcohólica en rotavapor o baño termostático. La temperatura del baño calefactor no deberá superar los 40°C. El Metanol y el Butanol deben evaporarse completamente, teniendo precaución de no llevar a sequedad. Tener precaución con la emanación de gases tóxicos provenientes del metanol o el butanol.

*El extracto aquí obtenido y el filtrado en el pretratamiento general A, se inyectarán en el equipo de manera conjunta para el análisis y detección de toxinas totales.

◆ Detección

Materiales, equipos y soluciones

- Equipo HPLC con bombas binarias, inyector, detector UV con arreglo de diodos (DAD).
- Estándar cromatográfico de referencia Microcistina para realizar curva de calibración.

- Computadora con software compatible con el equipo cromatográfico

- Columna: Columna C18 de 150 X 4,6 mm de 5 µm de poro.

- Fase móvil: componente A: Agua deionizada 0,05% de TFA; componente B: Acetonitrilo 0,05% de TFA.

- Equilibrio de la columna: solución 65% A + 35 % B.

- Velocidad de Flujo: 1mL min⁻¹.

- Condiciones de trabajo: isocráticas

- Longitud de onda de detección UV: 238 nm

◆ Identificación y Cuantificación

Para la identificación de las toxinas presentes en la muestra, se deberá comparar el tiempo de retención del estándar analítico de referencia con el tiempo de retención de la sustancia presente en dicha muestra, en las mismas condiciones de análisis. Si los tiempos coinciden, se podrá inferir con alta probabilidad que se trata de la cianotoxina en cuestión, ya que el análisis confirmatorio es el realizado con espectrometría de masas (MS). La concentración que arroje el software será en función de la integración correspondiente al área bajo el pico. Se recomienda tener especial cuidado en contemplar las diluciones realizadas para corregir los cálculos en función de estas. Los resultados se expresan en unidades de concentración, en general en µg.L⁻¹.

2) UHPLC/MS (adaptado de Zhang et al. 2016)

Para realizar la detección y cuantificación de microcistinas totales, se utilizará el extracto obtenido en el pretratamiento general (A), que se inyectará directamente en el cromatógrafo

◆ Detección

Materiales, equipos y soluciones

- Equipo UHPLC acoplado a MS, con ionizador por electrospray modo positivo HESI (+).
- Estándar cromatográfico de referencia Microcistina para realizar curva de calibración

- Computadora con software compatible con el equipo cromatográfico
- Columna C18 150 x 2,1mm x 3µm;
- Fase móvil: componente A: agua-ácido fórmico al 0,1%; componente B: acetonitrilo-ácido fórmico al 0,1%;
- Temperatura de la columna: 40°C;
- Volumen de inyección de muestra: 50 µL;
- Flujo: 0,15 mL.min⁻¹.

◆ Identificación y cuantificación

La detección e identificación de los compuestos de interés se realiza en base a los tiempos de retención, a las transiciones de los iones precursor-productos, y a las proporciones en las que se detectan estos iones. Estos son característicos de cada sustancia, y por lo tanto debe coincidir con lo detectado al analizar el estándar de referencia, para poder afirmar que se trata de la misma sustancia. La cuantificación del compuesto se realiza en base a las áreas de los iones cuantificadores. Considerar las diluciones realizadas para corregir los cálculos en función de éstas. Los resultados se expresan en unidades de concentración, en general µg.L⁻¹.

Saxitoxinas - Protocolos para la determinación y cuantificación de saxitoxinas totales

1) * HPLC/Fluorescencia con derivatización (adaptado de Oshima,1995; Giannuzzi et al 2009)

Para la determinación de saxitoxinas totales se deberá recolectar el volumen filtrado en el pretratamiento general (A) e inyectarlo al cromatógrafo.

Se presenta a continuación la extracción con solventes, que podrá adicionarse a A.

Extracción con solventes

*En cada filtro conteniendo 0,5 a 1g de células, realizar una extracción empleando 1 mL de HCl 0,01 N frío y 2mL de una solución cloroformo/metanol (1:1, v:v) agitando en vortex por un lapso de 30 segundos y luego realizar dos ciclos de sonicación por 30 segundos cada uno e intervalos de 30 segundos entre ciclos.

*Centrifugar a 2000 rpm durante 5 minutos.

*Reservar en hielo la fase acuosa conteniendo las toxinas.

*Repetir el procedimiento anterior, realizando una segunda extracción sobre la fase orgánica: utilizar 0,5 ml de HCl 0,01 N.

*Unificar las fases acuosas y evaporar el cloroformo/metanol en baño de María a una temperatura de 50°C bajo corriente de nitrógeno.

*Llevar a volumen de 2 mL con agua desionizada.

*Pasar el extracto a través de un filtro de nylon de 0,45 µm,

*El extracto aquí obtenido y el filtrado en el pretratamiento general, se inyectarán en el equipo de manera conjunta para el análisis y detección de toxinas totales.

◆ Detección

Materiales, equipos y soluciones

- Equipo HPLC con bomba de pistón de alta presión. Inyector. Bomba de dos cabezales
- Estándar cromatográfico de referencia Saxitoxina para realizar curva de calibración
- Computadora con software compatible con el equipo cromatográfico
- Condiciones de trabajo: isocráticas
- Columna: Sílica C8 (150 x 4,6 mm, 5 µm.) Fase reversa
- Fase Móvil: 2 mM 1-heptasulfonato de sodio en 30 mM de fosfato de amonio, pH=7,1 en 5% de acetonitrilo. Flujo: 0,7 mL.min⁻¹.
- Para derivatización:
 - Agente Oxidante: Ácido peryódico 7mM en buffer fosfato de potasio 50mM, pH 9. Flujo: 0,4 mL.min⁻¹.
 - Cámara de reacción post-columna: coil de 10 m (0,5 mm i.d.). Baño termostático (65°C).

- Agente acidificante: Ácido acético 500 mM. Flujo: 0,3 mL.min⁻¹

- Detector: Fluorescencia, λ Ex: 330 nm. , λ Em: 390 nm.

◆ Identificación y Cuantificación

Para la identificación de las toxinas presentes en la muestra, se deberá comparar el tiempo de retención del estándar analítico de referencia con el tiempo de retención de la sustancia presente en dicha muestra, en las mismas condiciones de análisis. Si los tiempos coinciden, se podrá inferir con alta probabilidad que se trata de la cianotoxina en cuestión, ya que el análisis confirmatorio se realiza con espectrometría de masas (MS). La concentración que arroje el software será en función de la integración correspondiente al área bajo el pico. Se recomienda tener especial cuidado en contemplar las diluciones realizadas para corregir los cálculos en función de éstas. Los resultados se expresan en unidades de concentración, generalmente µg.L⁻¹.

2) UHPLC-MS (adaptado de Choi, 2016; adaptado de Harada et al 1988)

Para realizar la detección y cuantificación de saxitoxinas totales, se utilizará el extracto obtenido en el pretratamiento general (A), que se inyectará directamente en el cromatógrafo

◆ Detección

Materiales, equipos y soluciones

- UHPLC acoplado a TSQ Quantis. Modo de ionización HESI (+)
- Estándar cromatográfico de referencia Saxitoxina para realizar curva de calibración
- Computadora con software compatible con el equipo cromatográfico.
- Columna C18 de 50 x 2,1mm x 3µm.
- Fase móvil: componente A: 50% ácido fórmico-agua; y componente B: 50% acetonitrilo-metanol 1/1;
- Volumen de inyección de muestra: 50 µL;
- Tasa de flujo: 0,5 mL. min⁻¹.

◆ Identificación y Cuantificación

La detección e identificación de los compuestos de interés se realiza en base a los tiempos de retención, a las transiciones de los iones precursor-productos, y a las proporciones en las que se detectan estos iones. Todo esto es característico de cada sustancia, y por lo tanto debe coincidir con lo detectado al analizar el estándar de referencia, para poder afirmar que se trata de la misma sustancia. La cuantificación del compuesto se realiza en base a las áreas de los iones cuantificadores. Considerar las diluciones realizadas para corregir los cálculos en función de éstas. Los resultados se expresan en unidades de concentración, en general µg.L⁻¹.

Cilindrospermopsinas - Protocolos para la determinación y cuantificación de cilindrospermopsinas totales

1) HPLC UV (adaptado de Harada et al. 1994, Giannuzzi et al 2009 Cap. 7)

Para la determinación de cilindrospermopsinas totales se deberá recolectar el volumen filtrado en el apartado general (A) y luego aplicar el tratamiento que se indica a continuación

◆ Extracción

*Colocar ácido acético al 5% sobre los filtros conteniendo las células.

*Agitar durante 1 hora.

*Centrifugar a aproximadamente 6000 rpm durante 10 minutos.

*Concentrar el extracto utilizando cartuchos SPE.

*El extracto aquí obtenido y el filtrado en el pretratamiento general, se inyectarán en el equipo de manera conjunta para el análisis y detección de toxinas totales.

◆ Detección

Materiales, equipos y soluciones

- Equipo de HPLC con detección UV con arreglo de diodos (DAD).
- Estándar cromatográfico de referencia de Cilindrospermopsina para realizar curva de calibración

- Computadora con software compatible con el equipo cromatográfico
- Columna: compatible con Allsphere ODS-2 μm , 250 x 4.6mm d.i (Altech)
- Fase móvil: 0-10 minutos: gradiente de 0 a 5% de metanol, 10-20 minutos régimen isocrático con metanol al 5%.
- Detección UV: 262 nm.

◆ Identificación y Cuantificación

Para la identificación de las toxinas presentes en la muestra, se deberá comparar el tiempo de retención del estándar analítico de referencia con el tiempo de retención de la sustancia presente en dicha muestra, en las mismas condiciones de análisis. Si los tiempos coinciden, se podrá inferir con alta probabilidad que se trata de la cianotoxina en cuestión, ya que el análisis confirmatorio se realiza con espectrometría de masas (MS). La concentración que arroje el software será en función de la integración correspondiente al área bajo el pico. Se recomienda tener especial cuidado en contemplar las diluciones realizadas para corregir los cálculos en función de estas. Los resultados se expresan en unidades de concentración, en general en $\mu\text{g.L}^{-1}$.

2) HPLC-MS/MS con SPE (adaptado de Triantis et al 2017, en Meriluotto et al 2017)

Para realizar la detección y cuantificación de cilindrospermopsinas totales, se realizará una extracción en fase sólida y luego se analizará el extracto en cromatógrafo

◆ Extracción

*Filtrar las muestras a través de filtros de fibra de vidrio (47mm diametro)

*Agregar 0,5g NaCl y 5mL de HCOOH a 500mL de la muestra filtrada.

*Acondicionar SPE (Cartuchos: GC 250mg, 3 o 6mL) pasando 10mL de Etanol seguidos de 10mL de agua ultrapura a un flujo aproximado de 5mL.min^{-1}

*Prender el vacío y pasar la muestra a través de los cartuchos SPE a una tasa de flujo de 10mL.min^{-1}

*Lavar el cartucho con 10mL de agua y dejar secar bajo vacío durante 5 minutos

*Eluir el cartucho seco usando 10mL de una solución Metanol:Diclorometano 20:80% (v/v) conteniendo 5% HCOOH a una tasa de flujo de 5mL.min^{-1} y recolectar el eluato en tubo de ensayo

*Evaporar el eluato a sequedad bajo corriente de nitrógeno a 50°C en una unidad de evaporación

*Reconstituir el eluato con 500 μL de agua y sonicar en baño durante 10 minutos.

*Centrifugar 10 minutos a 10000G.

*Filtrar y transferir a los viales para ser analizados en LC-MS/MS inmediatamente. *En caso de no ser posible su inmediato análisis, conservar a -20°C .

◆ Detección

Materiales, equipos y soluciones

- HPLC con triple cuadrupolo, bomba de gradiente, detector espectrométrico de masas con sistema de ionización electrospray ESI Tandem
- Estándar cromatográfico de referencia de Cilindrospermopsina para realizar curva de calibración
- Computadora con software compatible con el equipo cromatográfico
- Columna C18 de 100 x 2,1mm x $3\mu\text{m}$. Temp columna: 35°C
- Fase móvil: componente A: agua-0.50% HCOOH; componente B: acetonitrilo-0.5%HCOOH; Elución isocrática A:B (95:5% v/v)
- Volumen de inyección de muestra: 20 μL ;
- Tasa de flujo: $0,2\text{mL.min}^{-1}$.

◆ Identificación y cuantificación

La detección e identificación de los compuestos de interés se realiza en base a los tiempos de retención, a las transiciones de los iones precursor-productos, y a las proporciones en las que se detectan estos iones. Todo esto es característico de cada sustancia, y por lo tanto debe coincidir con lo detectado al analizar el estándar de referencia,

para poder afirmar que se trata de la misma sustancia. La cuantificación del compuesto se realiza en base a las áreas de los iones cuantificadores. Considerar las diluciones realizadas para corregir los cálculos en función de éstas. Los resultados se expresan en unidades de concentración, en general $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Anatoxina-a

1) HPLC-MS/MS con SPE (adaptado de Triantis et al 2017, en Meriluotto et al 2017)

Para la detección y cuantificación de Anatoxina-a totales, se realizará una extracción en fase sólida y luego se analizará el extracto en cromatógrafo

Extracción

- Filtrar las muestras a través de filtros de fibra de vidrio (47mm diam.)
- Agregar 200mL de solución de Fenilalanina (Phed5 en agua, $0,6\text{mg.L}^{-1}$) a 200mL de muestra.
- Ajustar pH a 10,5 usando 2mol.L^{-1} de solución de NaOH
- Acondicionar SPE (Cartuchos: GC 250mg, 3 o 6mL) pasando 6mL de metanol seguidos de 6mL de agua ultrapura a un flujo aproximado de 5mL.min^{-1}
- Prender el vacío y pasar la muestra a través de los cartuchos SPE a una tasa de flujo de 10mL.min^{-1}
- Luego de que la muestra haya pasado por el cartucho, dejar secar al aire bajo vacío durante 15 minutos
- Eluir el cartucho seco usando 3mL de metanol con 0,1% HCOOH a una tasa de flujo de 5mL.min^{-1} y recolectar el eluato en tubo de ensayo
- Evaporar el eluato a sequedad bajo corriente de nitrógeno a 40°C en una unidad de evaporación
- Reconstituir el eluato con 200 μL de agua.
- Centrifugar 10 minutos a aproximadamente 8000 rpm.
- Filtrar y transferir a los viales para ser analizados en LC-MS/MS inmediatamente

te. En caso de no ser posible su inmediato análisis, conservar a -20°C .

◆ Detección

Materiales, equipos y soluciones

- HPLC con triple cuadrupolo, bomba de gradiente, detector espectrométrico de masa con sistema de ionización electrospray ESI(+) Tandem
- Estándar cromatográfico de referencia Anatoxina-a para realizar curva de calibración
- Estándar interno de Fenilalanina
- Computadora con software compatible con el equipo cromatográfico
- Columna C18 de 50 x 2,1mm x $3\mu\text{m}$. Temp columna: 35°C
- Fase móvil: componente A: metanol-0,1% HCOOH; y componente B: agua-0,1%HCOOH; Elución isocrática (7,93% v/v)
- Volumen de inyección de muestra: 10 μL ;
- Tasa de flujo: $0,2\text{mL.min}^{-1}$.

◆ Identificación y cuantificación

La detección e identificación de los compuestos de interés se realiza en base a los tiempos de retención, a las transiciones de los iones precursor-productos, y a las proporciones en las que se detectan estos iones. Todo esto es característico de cada sustancia, y por lo tanto debe coincidir con lo detectado al analizar el estándar de referencia, para poder afirmar que se trata de la misma sustancia. La cuantificación del compuesto se realiza en base a las áreas de los iones cuantificadores. Considerar las diluciones realizadas para corregir los cálculos en función de éstas. Los resultados se expresan en unidades de concentración, en general $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Bibliografía

Evaluación de la concentración de cianotoxinas

Bonilla, S. et al. 2009. *Cianobacterias planctónicas del Uruguay: Manual para la identificación y medidas de gestión*. Montevideo, Uruguay: UNESCO. 96 pp. ISBN 978-92-9089-138-3

Choi J., J. Jang, J. Massi. 2016. *Fast and acute determination of algal toxins in water using online preconcentration and UHPLC-Orbitrap Mass Spectrometry*. Application note 606, ThermoFisher. www.thermofisher.com

Chorus, I. & J. Bartram. 1999. *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*. London: Chapman & Hall. ISBN 0-419-23930-8

Giannuzzi, L. et al. 2011. *Cianobacterias como determinantes ambientales de la salud*. Buenos Aires, Argentina: Ministerio de Salud de la Nación. 160 pp. ISBN 978-950-38-0118-5

Giannuzzi, L. et al. 2009. *Cianobacterias y cianotoxinas: identificación, toxicología, monitoreo y evaluación de riesgo*. Cap.6: Oliver y Rasile; Cap.7: Andrinolo, Etchenique, Sedán. Corrientes, Argentina: Moglia eds. 238 pp. ISBN 978-987-05-5749-4

Harada K., K. Matsuura, M. Suzuki. 1988. Analysis and purification of toxic peptides from cyanobacteria by reversed-phase High-performance liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A.*, 448: 275-283.

Harada K. I., I. Ohtani, K. Iwamoto, M. Suzuki, M. F. Watanabe, M. Watanabe & K. Terao. 1994. Isolation of cylindrospermopsin from a cyanobacterium Umezakianatans and its screening method. *Toxicon* 32(1): 73–84.

ISO 20179:2005. *Determination of microcystins-Method using solid phase extraction (SPE) and High performance liquid chromatography (HPLC) with ultraviolet (UV) detection*. International standards organization, Geneva.

Meriluotto, J., L. Spoof, G. Cood. 2017. *Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis*. Ltd. West Sussex, UK: John Wiley&Sons. 576 pp. ISBN 978-1-119-06868-6

Oshima, Y 1995. Postcolumn derivatization liquid chromatographic method for paralytic shellfish toxins. *Journal of AOAC International*, 78: 528-532

Zhang et al. 2016. *Identification and quantitation of Microcystins by targeted full-scan LC-MS/MS*. Application note 569, ThermoFisher. www.thermofisher.com

Limpieza de frústulos de diatomeas

Nora Gómez y Magdalena Licursi

Lista de elementos necesarios para el trabajo:

- Vasos de precipitado, de cristal
- Rotuladores indelebles
- Pipetas Pasteur
- Gradilla metálica para colocar los tubos
- Mechero
- Agua oxigenada (H_2O_2) al 30%.
- Agua destilada
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Resina Naphrax® (i. r. = 1.74)
- Microscopio óptico
- Aceite de inmersión
- Claves básicas de identificación de diatomeas
- Lápiz, hojas, planillas de registro
- Microscopio óptico

Conservación y almacenaje de las muestras:

Las muestras se pueden conservar en frío (4 °C) y a oscuras si el procesamiento se realizará a las

pocas horas de su extracción. En caso contrario, es necesario añadir un conservante para detener la división celular y la descomposición de la materia orgánica. Se recomienda el uso de una solución tamponada de formaldehído (CH_2O) al 4% v/v¹. Con este fijador, las muestras se conservan por tiempos prolongados. Una alternativa es utilizar alcohol etílico 70% (C_2H_5OH); en este caso, es necesario un control más frecuente de las muestras para evaluar el estado de conservación. Otra posibilidad es conservar las muestras ultracongeladas.

Todas las muestras y preparaciones deben estar correctamente rotuladas, con un código de su procedencia (localización), fecha de recolección, fijador utilizado y persona o entidad a cargo de la recolección e identificación. El código de la muestra servirá para la confección de la base de datos.

Todas las muestras fijadas se conservarán protegidas de la luz y en lugar fresco y deben ser controladas periódicamente para añadir conservante en caso de ser necesario.

Preparación y recuento de muestras de diatomeas

A continuación, se detallará la metodología para el procesamiento de las muestras que permita el análisis de la taxocenosis de diatomeas mediante su observación al microscopio y recuento de frústulos, requisito necesario para el cálculo de los índices de calidad de agua (Fig. 1).

Como fue mencionado, en un río puede haber distintos ensambles o comunidades de algas. Las

¹ Solución tamponada de formaldehído (CH_2O) al 4% v/v: diluir una solución stock de formaldehído al 4% en una solución tamponada de pH 7 (esto evita la disolución de los frústulos de las diatomeas) (ej. de tampones: borato o hexametileno-tetramina). Se recomienda una solución final entre el 1% y el 4% (v/v) en función de la cantidad de materia orgánica presente en la muestra.



Figura 1: Procesamiento de muestras para la realización de preparados fijos.

especies presentes en cada una de ellas no son siempre las mismas, por lo que en los casos de monitoreo es recomendable realizar un seguimiento de los cambios que se producen en una de esas comunidades cuyas muestras puedan ser obtenidas en cualquier época del año.

En el caso de las muestras de epipelon, episammon y epifiton destinadas al análisis de diatomeas es necesario que las microalgas se desprendan del sustrato (sedimentos/superficie de la planta) y queden en suspensión en el agua. Esto se puede conseguir mediante sonicación de la muestra en un baño de ultrasonico o, en caso de no contar con este equipamiento, mediante una agitación energética de las muestras. En el caso del epifiton también se puede recurrir al cepillado de la superficie del fragmento de planta agitando posteriormente el cepillo o pincel en el agua de la muestra para transferir el material extraído.

Para poder realizar la identificación de las especies de diatomeas es necesario efectuar un procesamiento de la muestra con el fin de eliminar toda la materia orgánica presente y así poder observar los detalles de la estructura de los frústulos (esqueleto de sílice) necesarios para su identificación a partir de claves e iconografías regionales. Existen varios métodos para oxidar la materia orgánica, pero en este protocolo se presenta el de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por ser efectivo y el más adecuado en

relación a las condiciones de seguridad de manipulación requeridas. En aguas ricas en carbonato de calcio o con alto contenido de hierro, se recomienda un tratamiento adicional con HCl diluido.

Materiales y equipamiento necesarios:

- Campana extractora.
- Material de protección personal: guantes, guardapolvo, antiparras.
- Estufa, baño de arena o de agua.
- Centrífuga (opcional)².
- Solución de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 30% (100 volúmenes).
- Ácido clorhídrico diluido (1 M) (HCl).
- Piceta con agua destilada.
- Tubos de centrífuga graduados de 15 mL.
- Gradilla metálica para tubos de centrífuga.
- Propipeta y pipeta de vidrio de 10 mL.
- Cubreobjetos y portaobjetos.
- Pipetas Pasteur o pipeta automática y tips.

² Nota: Si no se dispone de centrífuga se puede dejar sedimentar el material durante la noche y luego eliminar el sobrenadante cuidadosamente y proseguir con el proceso.

- Resina artificial de alto índice de refracción (>1.6) – Se recomienda Naphrax®.
- Varilla de vidrio con punta redondeada.

Oxidación de la materia orgánica

- Homogenizar la muestra por agitación y transferir entre 5 mL y 10 mL de muestra a un tubo de centrífuga (el volumen a tratar dependerá de la concentración de diatomeas en la muestra, generalmente 5 mL son suficientes).
- En muestras que tienen fijador, es necesario realizar lavados sucesivos mediante centrifugación con agua destilada. Al menos 2 lavados.
- Concentrar la muestra por centrifugación de manera que el volumen final sea de 2 mL.
- Agregar (utilizando pipeta y propipeta) peróxido de hidrógeno en una relación de 1 parte de peróxido de hidrógeno en 2 partes de muestra.
- Colocar en una gradilla metálica los tubos conteniendo las muestras. IMPORTANTE: las tapas de los tubos deben estar flojas para permitir la salida de vapores y a la vez evitar derrame y contaminación de las muestras.
- Oxidación (3 posibilidades): en estufa a 60 °C durante 10 hs / en baño térmico de arena o de agua (baño María) a 90 °C durante 3 hs.
- Si las muestras provienen de un sitio con carbonatos cálcicos añadir unas cuantas gotas de ácido clorhídrico para eliminarlos.
- Realizar lavados sucesivos mediante centrifugación. Para ello, completar los tubos con agua destilada y centrifugar³ (15 minutos a 1500 rpm suele ser suficiente para la sedimentación de todas las diatomeas). Descartar el sobrenadante y resuspender el pellet con agua destilada repitiendo el procedimiento. Realizar al menos 3 lavados.
- Resuspender el pellet obtenido en 2-3 mL de agua destilada de manera de obtener una suspensión lechosa ligeramente turbia y traspararlo a un vial rotulado. Utilizar para prepara-

ciones permanentes, fijar con unas gotitas de formol y almacenar.

Preparaciones permanentes

- Agitar el vial que contiene la muestra. Con una pipeta Pasteur limpia (o pipeta automática con tips) extraer un pequeño volumen y depositarlo en un cubreobjetos cubriendo toda su superficie procurando una distribución homogénea del material.
- Dejar evaporar el líquido a temperatura ambiente o en una placa calefactora a muy baja temperatura.
- Con una varilla de vidrio colocar la resina sobre el portaobjetos (rotulado) distribuyéndola por el área aproximada equivalente al tamaño del cubreobjetos. Con una pinza tomar cuidadosamente el cubreobjetos por un extremo e invertirlo sobre la parte cubierta por resina. Presionar suavemente para favorecer su distribución en toda la superficie del cubreobjetos.
- Aplicar calor suave hasta que se produzca la formación de burbujas (evaporación del solvente - tolueno) y luego disminuya significativamente (realizar bajo campana).
- Retirar el preparado de la placa caliente y presionar el cubreobjetos para formar una capa delgada y uniforme de Naphrax® debajo de todo el cubreobjeto.
- Dejar enfriar. Almacenar los preparados fijos en una caja de preparados rotulada.

Identificación y recuento de diatomeas del biofilm

A partir de las preparaciones permanentes, se realiza la identificación, recuento y obtención de la frecuencia relativa de las especies de diatomeas presentes. Estos resultados permiten calcular diversos índices para valorar la calidad del agua de ríos y arroyos.

³ La velocidad y tiempo necesarios para completar la sedimentación de todas las diatomeas dependerá de las características particulares de la centrífuga empleada. Es necesario realizar pruebas preliminares para asegurar que no quedan diatomeas en el sobrenadante con el tiempo y la velocidad elegidos.

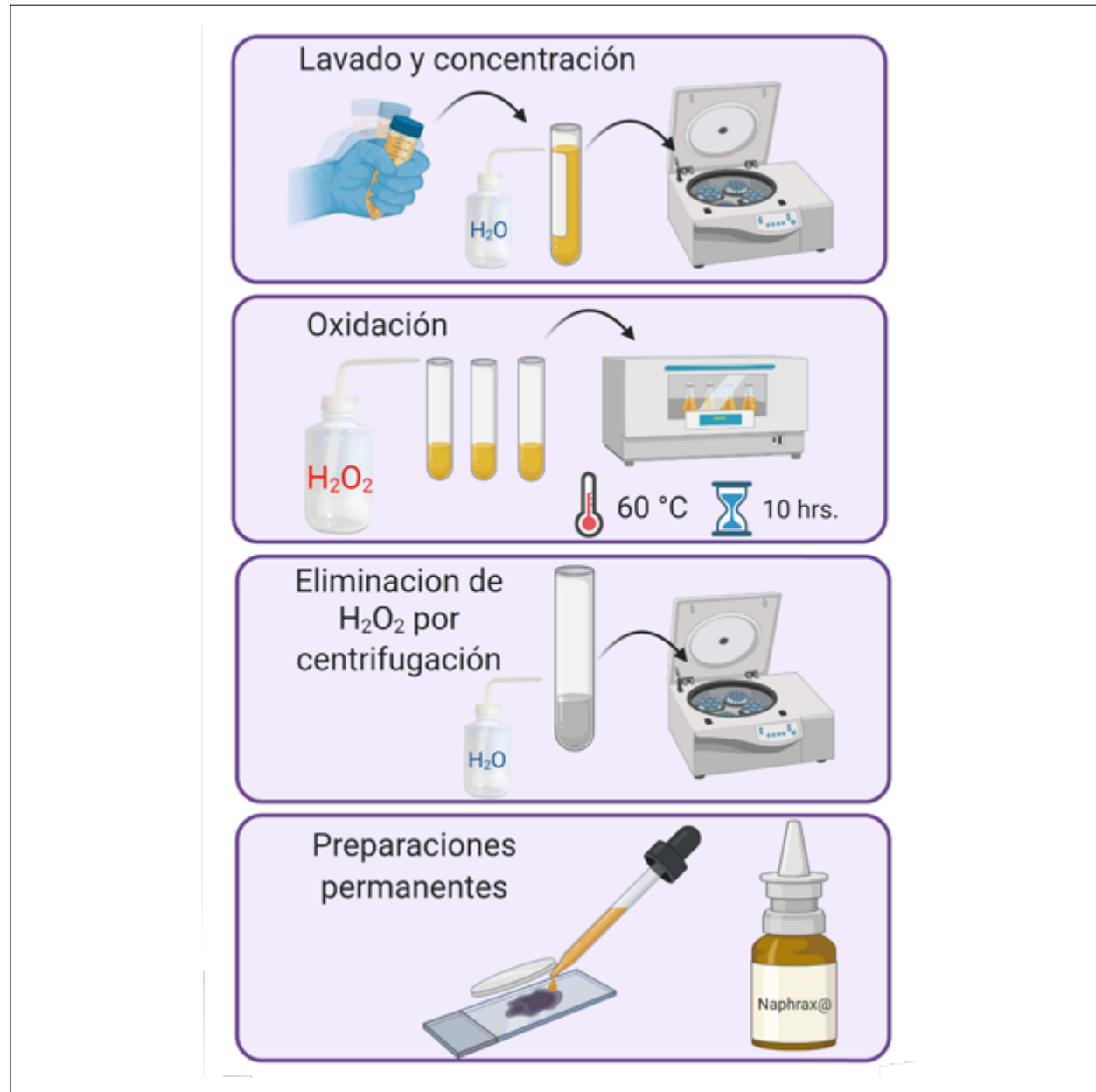


Figura 2: Resumen de los pasos necesarios para realizar preparaciones permanentes de diatomeas. Fuente: Magdalena Licursi, Paulra Huber

Materiales y equipamiento necesarios:

- Microscopio óptico con objetivo de inmersión de alta apertura numérica (≥ 1.3), con platina mecánica y preferentemente con contraste de fases o interferencial (Nomarski). Se requiere ocular micrométrico o sistema de captura de imagen y software que permita realizar mediciones en los especímenes.
- Aceite de inmersión.

- Planilla de recuento.
- Guías de identificación e iconografías regionales⁴.

Procedimiento

Es importante comprobar que las valvas de diatomeas estén distribuidas de manera homogénea en el preparado. Si se observan agregaciones de valvas

⁴ Algunas recomendaciones: Hustedt (1930), Patrick & Reimer (1966, 1975), Krammer K. & H. Lange-Bertalot (1986, 1988, 1991a, 1991b), Lange-Bertalot (1993), Krammer (1992, 2000), Lange-Bertalot & Moser (1994), Prygiel & Coste (2000), Zalocar de Domitrovic & Maidana (1997), Díaz & Maidana (2004), Seeligman et al. (2018).

en algunos sectores, se debe rehacer el preparado. Contar entre 400-600 valvas con una magnificación de 1000X, de ser posible utilizando contraste de fases o interferencial. Realizar el recuento en transectas horizontales o verticales a través del cubreobjetos, evitando la zona de los márgenes. Registrar las especies identificadas y su abundancia en una planilla de recuento en la que se debe detallar el rótulo de la muestra (sitio, fecha, tipo de muestra) y el nombre del analista, así como cualquier observación que se considere necesaria. Las valvas fragmentadas solo se deben contar si el fragmento corresponde a $\frac{3}{4}$ parte de la valva y si es posible la identificación de la especie a partir del fragmento hallado. Los especímenes localizados en el borde del campo visual se incluyen en el recuento solo si, al menos, el 50% de la valva se observa dentro del campo. La utilización de las guías de identificación e iconografías regionales y del ocular micrométrico (o del *software* asociado al equipo de captura de imágenes) permitirán la identificación de las distintas especies presentes en la muestra.

A partir de los recuentos se establece la abundancia relativa de las diferentes especies identificadas. Esta información permite el cálculo de diversos índices de calidad del agua.

Identificación y recuento de algas del bentos

Luciana Cibils Martina y Julieta del Rosario Lucero

Para la identificación de las especies algales, utilizar microscopio y bibliografía acorde para cada grupo taxonómico, en particular Patrick y Reimer (1966, 1975), Komárek y Anagnostidis (1998, 2005), Lange-Bertalot (2001), Metzeltin *et al.* (2005), Metzeltin y Lange-Bertalot (2007) y Komárek (2013). Los nombres asignados en el proceso de identificación deben ser actualizados, teniendo en cuenta a Guiry y Guiry (2020).

Protocolo de identificación

- Una vez realizados los preparados, tanto permanentes como no permanentes, y según el objeto de estudio, se realiza la determinación taxonómica, que implica conocimientos disciplinares previos (por lo cual se recomienda consultar a los especialistas en ficología para minimizar errores en la clasificación).
- La realización de las distintas determinaciones se realiza mediante el uso de claves dicotómicas, catálogos y bibliografía específica. Es importante comprobar las descripciones de las especies, no solamente comparar con fotos o dibujos, sino considerar toda la información ecológica (distribución, hábitat, entre otros).
- Se recomienda realizar dibujos (lo más precisos posible) o tomar microfotografías de los taxones encontrados con las medidas y escala correspondiente que será útil como una guía para estudios posteriores de esas zonas.
- Una correcta o más precisa determinación de los taxones es necesaria para los análisis cuantitativos posteriores, como así también para la aplicación de los índices de calidad.

- Es importante saber que existen diversos sistemas de clasificación, por lo cual hay que establecer desde un principio la nomenclatura que se utilizará.
- Se recomienda buscar trabajos ficológicos nacionales y regionales. En caso de que surjan diferencias se aconseja consultar a los expertos.
- Con el listado de taxones se procede a realizar los recuentos.
- Es aconsejable que el trabajo de identificación y recuento lo lleve a cabo personal especializado (con entrenamiento y experiencia en la disciplina).

Muestras cuantitativas

- Al elegir la metodología se debe tener en cuenta el tipo de taxocenosis algal. Por ejemplo, para los recuentos del epilíton, se puede emplear la metodología propuesta por Villafañe y Reid (1995) dado que la densidad estará referida a una superficie. Para el fitoplancton, es recomendable la técnica propuesta por Uthermöl (1958).
- Proceso de recuento: se puede realizar por conteo de campos ópticos del microscopio tomados al azar o sobre transectas.
- Se sugiere disponer del listado de taxones previamente vistos en las muestras cualitativas.
- Tener en cuenta de seguir criterios estándar en relación a los organismos: por ejemplo, contar los individuos que no se encuentren en la parte superior y arriba de la cuadrícula, pero no abajo o a la inversa.

- Una técnica para estandarizar consiste en contar campos al azar hasta completar un total de 400-500 algas, considerando al menos 100 campos.
- Recuento de la cámara completa: este método se utiliza cuando se trabaja con bajas densidades. En este caso, uno de los oculares contará con una cuadrícula que irá desplazándose en la cámara de arriba hacia abajo y de izquierda a derecha, y viceversa, de manera que se cuentan los individuos que queden en la intersección de las líneas de la cuadrícula.
- Biovolumen: Esta técnica permite una mejor comparación con la concentración de clorofila-a, la abundancia se expresa como biovolumen (mm³/L). Se emplea el método de Rott que consiste en medir como mínimo 20 individuos de cada especie, la cual se asimila a una forma geométrica que responda a su forma. Entonces, se calcula el volumen de cada especie según la fórmula de la figura geométrica seleccionada y finalmente se multiplica el volumen por el número de células/ml obtenido en el recuento.

Recuentos de diatomeas

- La unidad de recuento recomendada en este grupo de algas corresponde a las valvas (un frústulo entero=2 unidades de recuento).
- Para la aplicación de los índices basados en diatomeas se requieren recuentos de 400 valvas (mínimo), dado que valores menores podrían carecer del rigor estadístico necesario para algunas aplicaciones.
- Antes de iniciar el proceso de recuento es necesario definir un criterio en relación a los fragmentos de valvas: se podría incluir un individuo roto si presenta $\frac{3}{4}$ partes de la valva, incluir al individuo roto si tiene como mínimo uno de los extremos y la parte central o excluir a todos los individuos rotos. El criterio seleccionado debe cumplirse en todos los recuentos.
- Puede suceder que alguna o varias diatomeas no puedan ser identificadas, por diversas situaciones (se la observó solamente en vista cingular, tiene residuos encima o son muy pequeñas). En este caso, se les asigna el nivel taxonómico más detallado que se pueda como género sin llegar a la especie; por ejemplo: Gomphonema sp. En caso de que tampoco se pueda determinar el género, se puede denominar como diatomea pennada 1, diatomea cen-

tral 1 o alguna referencia que permita la diferenciación. Este mismo criterio debe aplicarse a cualquier otra valva que no pueda ser identificada. Se recomienda que los individuos que no se identifiquen a nivel específico no sean más del 12% del total contado.

- Para el recuento de diatomeas se trabaja con los preparados permanentes, lo ideal es contar a un aumento de 1000X utilizando aceite de inmersión para no dañar objetivo.
- Seleccionar un margen y desplazarse horizontal o verticalmente hasta un nuevo campo de visión e ir contando las valvas en cada campo. El recuento finaliza cuando se contaron mínimo de 400 valvas.

Alternativa: método del conteo utilizando micropipetas

Para realizar los conteos de algas en general:

- Colocar 0,3 mL (usando una pipeta de 1 mL o una micropipeta de ese volumen) de cada muestra en un portaobjetos.
- Cubrir con un cubreobjetos (24 x 50 mm) colocando suavemente desde un extremo de manera oblicua para que no se derrame ni se formen burbujas. Esto será una cámara.
- Recorrer transectas de superficie conocida en cada cámara a 400 aumentos. Se puede contar todo lo observado en 3 transectas a lo largo del cubreobjetos, 2 en los bordes y 1 en el centro. Para calcular la superficie recorrida multiplicar el largo del cubreobjetos por el ancho del campo de visión.
- Repetir este procedimiento hasta no registrar nuevas especies (3 cámaras para cada muestra).
- Promediar el total de organismos contados en las 3 cámaras y estimar la densidad algal (número de individuos/cm²) considerando el área recorrida en el cubreobjetos y extrapolar a la superficie raspada.

Densidad algal (n.º individuos/cm²) = (N/ Vb) (V/S)

Donde: n.º individuos es el total de individuos contado en cada muestra (promedio de 3 cámaras); Vb es el volumen barrido con las 3 cámaras (ml); V es el volumen total de la muestra (ml); S es la superficie raspada (cm²).

Estimación de la biomasa del bentos

Cecilia Brand y Yanina Assef

Son dos medidas estándar que permiten estimar la biomasa de las comunidades y calcular índices como el de autotrofia. La técnica de estimación de clorofila-a es similar a la descripta previamente para fitoplancton, solo que en este caso se debe procurar desprender las algas y otros organismos de los sustratos a los que se encuentren adheridos y expresar los resultados en unidades de clorofila o peso por superficie de ese sustrato. Eventualmente, pueden expresarse por peso seco de sustrato.

Clorofila-a: brinda una indicación de la cantidad total de organismos autótrofos en la muestra.

Peso seco libre de cenizas (PSLC): es una medida de la cantidad total de materia orgánica en la muestra.

Materiales necesarios:

Filtros de fibra de vidrio GF/F (1.2 μ) de 25 o 45 mm de diámetro

Fascos de vidrio de 30 mL o tubo Falcon

Sobres de aluminio identificados

Jeringas de 60 mL: al menos 1 por tratamiento

Portafiltro

Probeta de 50 mL para extracto

Vaso de precipitado

Pipeta de 10 mL para acetona

Pipeta de 1 mL

Pinzas de punta fina

Acetona 90%

Cubetas para espectrofotómetro

Equipos

Mufla

Estufa

Espectrofotómetro

Balanza de precisión 0.0001 g

Baño de ultrasonidos (opcional)

Procedimiento:

- Previo al muestreo preparar filtros de fibra de vidrio GF/F: secar en estufa a 60°C por 48 h en sobres de aluminio identificados. Luego pesar los filtros en balanza de precisión 0.0001 g. Volver a colocar en los sobres. (tener filtros de más por si se rompen en el filtrado).
- El día del muestreo: Transportar las muestras del campo al laboratorio refrigeradas y en oscuridad. En el caso de sustratos finos o macrófitas, se pueden trasladar al laboratorio y sonicar 2 minutos para desprender todos los organismos.
- Poner el filtro GF/C en el portafiltro. Colocar la jeringa en el portafiltro.
- Homogeneizar la muestra y trasvasar a una probeta adecuada. Anotar volumen.
- Tomar una submuestra (alícuota) de la probeta con una pipeta para el filtrado. Mover la pipeta hacia arriba y hacia abajo para tomar una alícuota más homogénea. Si la muestra está muy concentrada tomar 10 mL, si está muy diluida tomar 40 mL o más.
- Trasvasar a la jeringa y filtrar.
- Anotar el volumen de la alícuota filtrada.

NOTA: Enjuagar bien portafiltro, probeta, jeringa antes de pasar a otra muestra.

- Colocar el filtro en un frasco de vidrio de 30 mL o en un tubo Falcon.
- Añadir 10 mL de acetona 90% en cada frasco, cubriendo totalmente el filtro.
- Guardar las muestras en heladera 12 horas. El disolvente orgánico extraerá la clorofila de las muestras.
- Al día siguiente, colocar el extracto en una cubeta para espectrofotómetro
- Para la medición de clorofila-a, leer las absorbancias del extracto a 430, 665 y 750 nm, mediante un espectrofotómetro. Leer blanco con acetona para cada longitud de onda. La clorofila-a absorbe principalmente a los 665 nm. El valor en 750 nm se utiliza para descontar la turbidez de la muestra, que no debería ser mayor a 0,015. El valor de la absorbancia a 430 indica concentración de carotenoides y otros pigmentos accesorios.
- Estimar las concentraciones de clorofila mediante la expresión empírica siguiente:

$$Cl\ a = 11,4 (A_{665} - A_{750}) * V / (L * S)$$
 donde Cl a: clorofila-a (mg/m²), A_x: absorbancia a x nm, V: volumen del extracto (mL), L: longitud de la cubeta del espectrofotómetro (cm), y S: superficie de sustrato muestreado (cm²).
- Los filtros se pueden guardar en freezer si no son procesados en el momento.
- Para la medición de PSLC, secar los filtros en estufa a 60 °C por 48 h. Pesar en balanza para obtener peso seco.
- Colocar el filtro nuevamente en su sobre de aluminio, llevar a mufla y quemar a 400 °C por 4 h. Pesar los filtros con cenizas. Es importante considerar que las marcas de fibrón indeleble se borran de los sobres en la mufla, así que se deben marcar con lapicera sobre base blanda para que la etiqueta quede en subrelieve sobre el papel de aluminio. También se puede hacer un diagrama de su ubicación en la mufla para distinguirlos.
- Estimar PSLC= Peso Seco Libre de Cenizas (peso de cenizas=peso después de mufla - peso filtro). Expresar en mg/m² extrapolando a la superficie de sustrato muestreado.

- Calcular índice autotrófico (IA), que es un indicador de la proporción de la comunidad compuesta por organismos heterótrofos y autótrofos. PSLC representa la masa autotrófica y heterotrófica combinadas (y detrito orgánico), y Cl a refleja el componente autótrofo.

$$IA = PSLC / cl\ a, \text{ ambos en mg/m}^2$$

Determinación del ADN ambiental

Paula Huber, Melina Devercelli, Sebastian Metz, Victoria Accattatis, Fernando Unrein

Fundamentos de la técnica

El ADN ambiental (ADNa, más conocido por sus siglas en inglés como *eDNA: environmental DNA*) es una mezcla compleja de ADN genómico de diferentes organismos presente en agua, sedimentos o aire. Puede encontrarse como ADN celular o extracelular (ADN liberado). El ADN celular proviene de organismos vivos (por ejemplo, bacterias, algas, invertebrados, peces) o partes de ellos (por ejemplo, piel, mucosas, saliva, esperma, secreciones, huevos, heces, orina, sangre, raíces, hojas, frutos, polen). El ADN extracelular se encuentra libre en el ambiente y, en el caso particular de los ecosistemas acuáticos, puede persistir entre 7 y 21 días dependiendo de las condiciones ambientales (Dejean *et al.* 2011), ya que la exposición a la radiación UVB, la acidez, el calor y las endo y exonucleasas pueden degradarlo.

El análisis del ADNa tiene como objetivo principal detectar y clasificar los organismos presentes en el ambiente. En las últimas décadas, el desarrollo de nuevas técnicas moleculares y computacionales, particularmente de secuenciación masiva (*high throughput sequencing* o *HTS*), permitió estudiar en mayor profundidad la estructura de las comunidades microbianas a partir de muestras de ADN ambiental. La principal ventaja de estas técnicas por sobre las tradicionales (por ejemplo, bibliotecas genómicas, DGGE, ARISA) es el gran número de secuencias que se obtienen, lo cual permite captar un elevado número de especies y detectar no sólo los organismos dominantes sino también aquellos que se encuentran en baja abundancia y constituyen la biósfera rara (Sogin *et al.* 2006; Huse *et al.* 2008; Pedrós-Alió 2006, 2012).

El contenido de una muestra de ADNa generalmente se analiza mediante la amplificación del material genético, utilizando la técnica de reacción

en cadena de la polimerasa (PCR) y la posterior secuenciación. Dependiendo del objetivo de la investigación, el análisis puede enfocarse en una sola especie o en múltiples especies. Así, en estudios que tienen como objetivo realizar una estimación general de la biodiversidad presente en un ecosistema determinado, se utilizan cebadores (*primers*) generales que amplifican regiones compartidas entre varias especies, y que permiten su identificación taxonómica. Los cebadores generales más utilizados son el gen 16S ARNr para organismos procariontes o 18S ARNr para eucariotas. Por otro lado, si el estudio se focaliza en la búsqueda o identificación de una especie en particular, se utilizan cebadores específicos que posibiliten la discriminación de los fragmentos objetivo que estén presentes en la muestra analizada.

La técnica de ADNa se desarrolló en 1987 aunque comenzó a utilizarse en forma más extendida cuando los primeros equipos de secuenciación masiva comenzaron a comercializarse a mediados de 2005. Como resultado, esta herramienta se ha convertido en una parte muy importante para el monitoreo de ecosistemas acuáticos.

Metodología

1. Muestreo y procesamiento de la muestra

La muestra de ADNa se puede obtener tanto de la columna de agua para el estudio de organismos planctónicos como del biofilm o sedimento para el estudio de organismos adheridos a sustratos o bentónicos de los ambientes acuáticos. Hasta el momento, no hay un único protocolo sobre la forma de tomar la muestra por lo que debe efectuarse esa decisión en función de los objetivos, tipo de ambiente, tipo de organismos cuyo ADN se quiera analizar, forma de vida y abundancia de los mismos en el ambiente. Por ejemplo, para el estu-

dio de macroinvertebrados bentónicos, la muestra a analizar puede consistir en sedimento obtenido con draga, el primer centímetro del sedimento (\approx biofilm) o de la columna de agua a una profundidad localizada en la interfase con el fondo del ambiente acuático. Una vez obtenida la muestra, debe ser conservada en oscuridad y refrigerada hasta su procesamiento en laboratorio, que no debe superar las 24 horas desde su recolección.

Organismos planctónicos

La muestra se toma de la columna de agua con un recipiente estéril preferentemente de vidrio. El volumen de la muestra depende de la concentración de organismos y de las características limnológicas del sistema, principalmente las relacionadas con la cantidad de materia orgánica y materiales en suspensión que pueden interferir en el procesamiento. Así, para ambientes más oligotróficos, de aguas claras con bajo contenido de materiales disueltos, se recomienda tomar entre 5 y 10 L de agua. En cambio, en sistemas eutróficos, de aguas turbias con alto contenido de material en suspensión, se recomienda tomar entre 1 y 2 L de agua.

El procesamiento de la muestra de agua consiste en el filtrado de la misma y almacenamiento del filtro en Eppendorf o criovial estéril a -80°C hasta que se realice la extracción del ADN (Fig. 1). Durante el procesamiento, deben utilizarse guantes

y barbijo, evitando al máximo el contacto con los materiales o que los mismos entren en contacto con otras superficies.

En primer lugar, se debe esterilizar la mesada con alcohol, al igual que todos los materiales que se vayan a utilizar. Los kitsatos y portafiltros deben autoclavarse, y las pinzas deben esterilizarse con alcohol y enjuagarse con agua autoclavada o libre de organismos (filtrada por $0,2\ \mu\text{m}$). Luego, se procede a homogeneizar la muestra de agua y filtrar por filtros estériles de $0,2\ \mu\text{m}$ de policarbonato o de celulosa hasta que se colmaten. Con la ayuda de una pinza, se enrollan o doblan los filtros con el material filtrado hacia adentro y se colocan en Eppendorfs autoclavados (preferentemente de 1,5 mL) o crioviales estériles (1,8-4 mL). Se cierran con Parafilm y se almacenan a -80°C hasta su posterior procesamiento (extracción del ADN).

Previo al filtrado, puede realizarse un pre-filtrado por una malla cuyo diámetro de poro dependerá del objetivo del análisis de ADN. Por ejemplo, si el objetivo es realizar un análisis de la comunidad bacteriana o del ensamble de microalgas o protistas, puede realizarse un pre-filtrado por una malla de 50 o $60\ \mu\text{m}$ de diámetro de poro para remover parte del zooplankton y otros organismos de mayor tamaño, lo que permitirá disminuir el ADN procedente de metazoos.

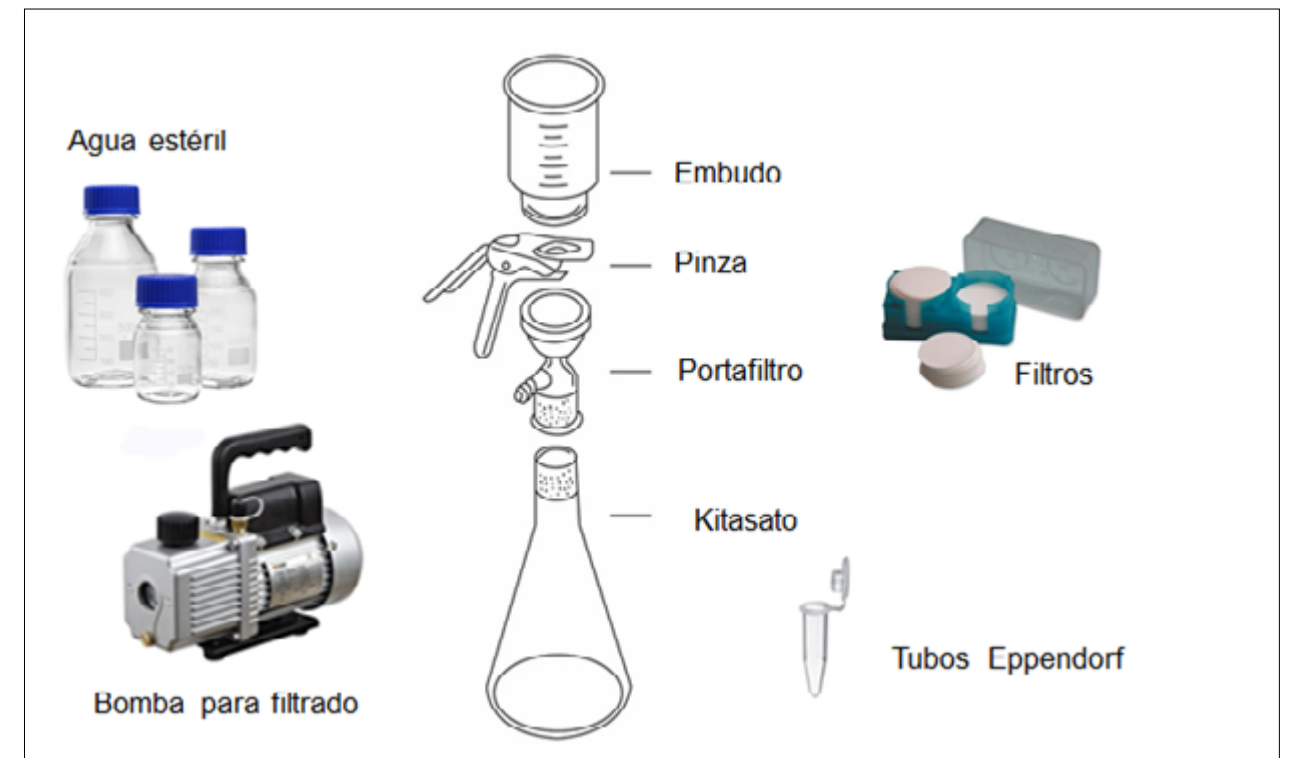


Figura 1: Materiales necesarios para el proceso de filtración de la muestra de agua en laboratorio.

Asimismo, en el agua puede encontrarse ADN proveniente de macroorganismos como animales y plantas proveniente de restos de células y tejidos, heces, mucus, organelas, gametas, polen, etc., y que puede ser detectados utilizando *primers* adecuados (ver más abajo).

Organismos del biofilm y bentónicos

La muestra se toma como se indica en los capítulos **Algas y macroinvertebrados**, según el ADN de la comunidad que se quiera estudiar. Puede consistir en una muestra de sedimento o el raspado del ensamblaje de organismos adheridos a algún sustrato.

La muestra debe homogeneizarse y luego se fracciona una alícuota de volumen variable (entre 2 y 10 mL de sedimento o biofilm) que se coloca en tubos Falcon o Eppendorf estériles, y se centrifuga a 14.000 rpm durante 5 a 10 minutos. Si no se cuenta con una centrífuga que alcance esas revoluciones, puede centrifugarse a 5000 durante 30 minutos. Luego, se elimina el sobrenadante y se congela el pellet resultante a -80 °C hasta el momento de proceder a la extracción del ADN.

NOTA: Para poder validar los resultados obtenidos y detectar posible contaminación, es aconsejable, además, procesar un control negativo (Salter et al. 2014). Existen varias formas de efectuarlo y en distintas etapas del trabajo (desde la toma de

muestra hasta su secuenciación). Un control negativo recomendable consiste en procesar agua libre de organismos siguiendo la misma metodología empleada en el procesamiento de las muestras (por ejemplo, filtración en caso de muestras de columna de agua) y continuar con los análisis posteriores (extracción y purificación, cuantificación, PCR, secuenciación).

2. Extracción y purificación del ADN

Para extraer los ácidos nucleicos purificados de la muestra de ADN es necesario provocar una lisis celular, inactivar las nucleasas celulares y separar los ácidos nucleicos de los restos de células.

Existen distintas estrategias de extracción y purificación de ADN que van desde kits comerciales hasta métodos de extracción con solventes orgánicos. Los kits comerciales más utilizados son Qiagen DNeasy PowerSoil y PowerMax (Lear et al. 2018). Dentro de los métodos de extracción con solventes orgánicos, el método del **bromuro de cetil-trimetil amonio** conocido como **CTAB** (Fernandez Zenoff et al. 2006) es uno de los más utilizados y es el que se detalla en este protocolo el cual requiere de un buffer de lisis (Tabla 1) y distintos reactivos (Tabla 2) que pueden prepararse en laboratorio.

El método del CTAB se basa en la lisis celular utilizando el detergente CTAB, que forma un complejo insoluble con los ácidos nucleicos en me-

Reactivos	Cantidad (50 mL)	Preparación (100 mL de solución)
Tris-Cl 1M pH 7,4	5 mL	Pesar 12,11 g de Tris (PM 121.14) y disolver en 70 mL de agua MQ con agitación. Llevar a pH 7,4 con HCl diluido 1:2 (aprox. 5 M), se requieren unos 16 mL. Al usarlo a 65 °C el pH va a aumentar a 8,66 (el pH del Tris disminuye 0,028 unidades por °C de disminución de temperatura). Llevar a volumen en probeta. Esterilizar por autoclave en 2 alícuotas. Guardar a 4 °C. Permanece estable hasta que se contamine.
NaCl 5M	14 mL	Pesar 29,22 g de NaCl (PM 58.44) y disolver en volumen necesario de agua MQ para llevar a 100 mL. Esterilizar por autoclave en 2 alícuotas. Guardar a temperatura ambiente. Permanece estable hasta que se contamine.
EDTA 0,5M pH 8	10 mL	Colocar 10 mL de EDTA 0,5M pH 8 (ii), con lo cual la concentración final en la solución de buffer de CTAB es de EDTA 0,1M.
CTAB	1 g	
H2O estéril	19,9 mL	
Beta-mercaptoetanol*	0,1 mL	

La solución se guarda a temperatura ambiente. Estable varios años.
*El beta-mercaptoetanol se agrega en el momento en que se va a realizar la extracción y se calienta todo a 65°C.

Tabla 1: Reactivos y protocolo de preparación de buffer de lisis CTAB.

Reactivos	Preparación
Cloroformo isoamílico (100 mL)	Colocar 96 mL de cloroformo + 4 mL de isoamílico. Preparar bajo campana y taponar el recipiente con papel aluminio. Refrigerar a 4 °C o a temperatura ambiente.
Buffer TE (100 mL)	(i) Tris-Cl 1M pH 8: 1 mL (ii) EDTA 0,5M pH 8: 0,2 mL H2O MQ: 98 mL Esterilizar por autoclave en 2 alícuotas. Almacenar a 4 °C.
Isopropanol	Separar una alícuota (aproximadamente 100 mL) y cubrir el frasco con papel aluminio. Refrigerar a 4 °C o a temperatura ambiente.
Etanol 80%	Almacenar a -20 °C antes de su utilización
(i) Tris-Cl 1M pH 8 (100 mL)	Mismo procedimiento que el señalado en Tabla 2, pero llevar la solución a pH 8. Una vez preparado, esterilizar por autoclave.
(ii) EDTA 0.5M pH 8 (100 mL)	Pesar 18,61 g de Na2EDTA·2H2O y disolver en 70 mL de agua MiliQ. No se disuelve hasta que se lleva a pH 8 con NaOH 10M (aprox. 5 mL) (iii). Esterilizar por autoclave en 2 alícuotas. Guardar a 4 °C. Permanece estable hasta que se contamine.
(iii) NaOH 5M (100 mL)	Pesar 40 g (aprox.) de NaOH y disolver en 100 mL de agua MiliQ. Guardar en frasco plástico a temperatura ambiente.

Tabla 2: Reactivos y preparaciones para la purificación de ADN.

dio hiposalino. Como consecuencia, compuestos orgánicos tales como proteínas, polisacáridos y compuestos fenólicos, permanecen en el sobrenadante y son eliminados por lavado permitiendo así limpiar el ADN. Por otro lado, el ADN se solubiliza aumentando la concentración salina y se precipita con etanol o isopropanol.

Los pasos de la extracción y purificación del ADN mediante el método de CTAB son los siguientes:

- Agregar al filtro descongelado o al pellet 0,75 mL de buffer de lisis CTAB (Tabla 1). Esta solución debe estar precalentada a 60 °C.
- Incubar en estufa a 60 °C durante 30 minutos.
- Agregar 0,7 mL cloroformo isoamílico y homogeneizar bien por inversión provocando la emulsión de las dos soluciones.
- Centrifugar 10 minutos a 14000 rpm.
- Quedarán separadas dos fases. Transferir la superior (fase acuosa) a otro Eppendorf.
- Repetir dos veces el lavado de la fase acuosa con cloroformo, es decir, repetir los pasos c) al e).
- Agregar isopropanol en un volumen similar al de la muestra (~ 0,60 mL igual volumen de isopropanol (0,6 mL).

h) Incubar 1 h a 4 °C.

i) Centrifugar 30 minutos a 14000 rpm.

j) Eliminar el sobrenadante y lavar el pellet con etanol 80% frío (-20 °C).

k) Secar el pellet.

l) Resuspender en 40 µL de buffer TE.

m) Congelar el extracto a -80 °C hasta el momento de proceder a la amplificación del ADN.

3. Cuantificación y calidad del ADN

La concentración y pureza del ADN extraído se miden mediante espectrofotómetro con placa de lectura para micro-volúmenes. La medición de la pureza permite evaluar la presencia de otras sustancias que podrían haber quedado en el extracto junto con el ADN como proteínas, polisacáridos, ARN, etc. Este proceso se realiza a partir de la medición de la absorbancia del ADN a diversas longitudes de onda del espectro ultravioleta luego del proceso de extracción. Algunos espectrofotómetros para micro-volúmenes cuentan con una placa de pocillos múltiples (placa *multiwell*) que permiten realizar varias mediciones a la vez, mientras que otros cuentan con un solo pocillo. Los volúmenes que se colocan son muy pequeños (en general 2 µl) y siempre debe testearse la calibración con un blanco que consiste en el mismo líquido en el

que fue resuspendido el ADN. En este protocolo el blanco es el buffer TE (ya que es la solución utilizada para hidratar el ADN - paso i) de Extracción y purificación del ADN). La concentración de ADN se mide en nanogramos por microlitro (ng/μL) en cada una de las muestras.

La calidad del ADN se determina mediante el cálculo de la relación de distintos valores de absorbancia:

- 260 nm: permite cuantificar la concentración de ácidos nucleicos;
- 230 nm: permite cuantificar la concentración de fenol y polisacáridos;
- 280 nm: permite cuantificar la concentración de proteínas.

La relación entre la absorbancia a 260 nm y la determinada a otras longitudes de onda (230 nm y 280 nm) permite determinar la pureza relativa del extracto de ADN. Los valores adecuados de calidad para la relación 260/280 tienen que oscilar entre 1,8 y 2,2. Valores por encima de 2,2 indican contaminación por ARN lo cual hace aconsejable la inclusión de la lisis de este ARN utilizando ARNasa en el proceso de extracción. Valores por debajo de 1,8 indican la contaminación con proteínas, lo que exigiría un mayor cuidado en la eliminación de éstas durante el proceso de extracción o una posterior purificación.

Por otra parte, los valores esperados para la relación 260/230 se encuentran comúnmente en el rango de 2,0-2,2. Si la relación es apreciablemente más baja de lo esperado, puede indicar la presencia de contaminantes en la muestra, que se absorben a 230 nm, como fenoles o proteínas.

4. Amplificación

La amplificación del material genético de la muestra de ADN se realiza mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La PCR es una reacción enzimática *in vitro* que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanco es copiada fielmente. Para ello, la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar naturalmente el ADN en las células. En este paso, el ADN de toda una comunidad extraído de las muestras de ADN y se amplifica selectivamente mediante el uso de cebadores (*primers*) que se seleccionan en función al grupo taxonómico que se pretenda estudiar. Los cebadores son secuencias de oligonucleótidos que flanquean y delimitan la

secuencia blanco que se desea amplificar y son complementarios a esta en sus extremos 3'-5' (cebador directo: *primer forward* o *primer F*; cebador reverso: *primer reverse* o *primer R*).

Los materiales necesarios incluyen termociclador, material de plástico (tubos Eppendorf) y reactivos (Tabla 3). Generalmente, los reactivos se adquieren ya preparados y las cantidades a usar dependen de las especificaciones del fabricante.

El procedimiento de la PCR se basa en la repetición de un ciclo (ejemplo en Tabla 4) formado por tres etapas: a) desnaturalización del ADN doble cadena; b) hibridación de los cebadores a la zona 3' específica de cada una de las hebras; c) extensión del cebador por actuación de la ADN polimerasa.

Es importante tener en cuenta que este paso se realiza con el fin de corroborar la calidad del ADN extraído, así como el correcto funcionamiento de los cebadores. El producto de PCR debe ser evaluado mediante una corrida electroforética en gel de agarosa, la cual permitirá realizar una caracterización del producto obtenido en cada muestra, e inferir tanto la calidad de ADN, así como el correcto de funcionamiento de los cebadores (Ver apartado *Cuantificación del producto de PCR*).

Reacción de PCR

- Preparar el *master-mix* (Tabla 3) y multiplicar los volúmenes por la cantidad de muestras a procesar. Prepararlo en hielo y siguiendo el orden indicado. Adicionar la ADN-Taq polimerasa al final y volver a guardarla inmediatamente a -20°C.
- Dispensar 49 μL del mix en cada tubo de PCR.
- Agregar 1 μL ADNa. Preferentemente 2 ng (entre 1 y 10 ng funciona bien).
- Colocar los tubos en el termociclador y comenzar con el programa de PCR.

Los programas del termociclador (tiempos y temperaturas) pueden variar de acuerdo al set de *primers* a utilizar y la longitud del amplicón (Tabla 4).

Cuantificación del producto de PCR

- Cargar 4 μL de producto de PCR + 2 μL de colorante en un gel de agarosa 1% y realizar una electroforesis a 120v por 30 minutos. El colorante que se utilice dependerá del transiluminador que se emplee para su observación.

Reactivos*	Función	Volumen*	Concentración final
Buffer PCR 10x	Mantiene el pH adecuado para el funcionamiento de la enzima ADN polimerasa	5 μl	1x
MgCl ₂	Actúa como cofactor de la ADN polimerasa	3 μL	1,5 mM Mg ²⁺
<i>Primer forward</i> (i)	Complementario a una de las dos hebras del ADN	2,5 μL	0,5 μM
<i>Primer reverse</i> (i)	Complementario a una de las dos hebras de ADN	2,5 μL	0,5 μM
Mix de dNTPs (ii)	Los cuatro desoxirribonucleótidos trifosfato (adenina, guanina, citosina, timina) que permiten sintetizar la nueva cadena de ADN	1 μL	200 μM
Taq ADN polimerasa	Enzima que sintetiza la nueva cadena de ADN	0,25 μL	1,25 U (0,025 U μL ⁻¹)
ADN	ADN molde, contiene la región de ADN que se va a amplificar		
Agua esterilizada	Medio en donde se produce la reacción	34,75μL	

(i) Preparación de primers (10μM)
Centrifugar brevemente los tubos stock, disolver el pellet a una concentración de 100 μM con agua MQ estéril (ej.: 50 nmoles de <i>primers</i> con 500 μl) y hacer vortex durante 15 segundos. Esperar 2 minutos para permitir la rehidratación. Para preparar la solución de trabajo diluir 1:10 (ej.: 20μl en 180μl de agua MQ estéril) y alicuotar en varios tubos Eppendorf (10 μM = 10 pmol μL ⁻¹). Mantener el stock y las soluciones de trabajo diluidas a -20°C, usar solo una solución de trabajo por vez.
(ii) Preparación de Mix de dNTPs (10 mM c/u)
Mezclar 10 μL de cada dNTP (dATP, dCTP, dGTP y dTTP, a 100 mM) con 60 μL de agua esterilizada. Preparar varios tubos Eppendorf y usar un tubo por vez.

Tabla 3: Reactivos necesarios para realizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), volúmenes para preparar una *master Mix* de 50 μL y preparación de *primers* y *dNTPs*. *Los reactivos, así como los volúmenes a utilizar, pueden variar dependiendo la marca de la Taq polimerasa por lo que es necesario consultar las especificaciones señaladas en su ficha técnica.

Ciclo inicial	Desnaturalización a 94 °C por 3 minutos.
25-30 ciclos	Desnaturalización a 94 °C por 1 minuto.
	<i>Annealing</i> a 55 °C por 2 minutos.
	Extensión a 72 °C por 3 minutos.
Ciclo final	Extensión a 72 °C por 7 minutos, mantener a 4 °C hasta su traslado a freezer.

Tabla 4: Ejemplo de un programa estándar de tiempos y temperaturas para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

- b) Cuantificar el producto de PCR usando *Low DNA Mass Ladder* (5 µL + 2 µL de colorante, para productos de entre 100 - 2000 pb).
- c) Mantener el producto de PCR a -20°C (a 4°C si se va a usar inmediatamente).

La visualización de las bandas del tamaño (pb) esperado y su intensidad indica un correcto funcionamiento de los cebadores, así como buena calidad del ADN.

5. Secuenciación

Una vez extraído el ADN, comprobada su calidad y cuantificado, se debe enviar una alícuota del mismo (i.e. ADN genómico) a secuenciar a algún servicio de secuenciación. Dentro de las plataformas comerciales de secuenciación masiva, la plataforma MiSeq Illumina es la más utilizada para estudiar muestras de ADN. Esta técnica permite generar secuencias de aproximadamente 550 pb (pares de bases). Se ha demostrado que la información molecular contenida en fragmentos de este tamaño resulta suficiente para una caracterización taxonómica de las comunidades microbianas (Liu *et al.* 2008; Huse *et al.* 2008). El tamaño de las secuencias es un aspecto fundamental a tener en cuenta en estos estudios, principalmente en los que se utilizan genes ribosomales como el 16S ARNr o 18S ARNr como marcadores moleculares. Estos genes son un mosaico de regiones conservadas y variables. Estas últimas exhiben diferentes grados de variación entre grupos de microorganismos ya que presentan diferentes tasas de evolución (Hillis & Dixon 1991), por lo tanto, la elección de la región a estudiar exige una cuidadosa consideración. Las regiones más utilizadas en los estudios en los que se pretende una caracterización de la comunidad de organismos procariontes son V4-V5 y comunidades eucariotas V3-V4.

6. Análisis de la información

Existen diversos programas y secuencias de pasos (*pipelines*) para el procesamiento bioinformático de los resultados de la secuenciación masiva del ADN. Estos van a depender del método utilizado para la secuenciación y el objetivo del análisis. En el caso de la secuenciación por la plataforma MiSeq Illumina, generalmente, se obtiene uno o dos archivos con formato FASTQ, según si se ha secuenciado una sola dirección o ambas (*single-end* o *pair-end sequencing*, respectivamente). Los archivos FASTQ son archivos de texto donde se encuentran las lecturas (*reads*) y la calidad para cada nucleótido. Los pasos a seguir para el procesamiento pueden realizarse con programas específicos (Tabla 5) y se resumen en los siguientes:

- a) Eliminación de las secuencias de los cebadores (*primers*).
- b) Filtración de las lecturas por calidad: es recomendable obtener lecturas con valores de calidad mayores o iguales a Q30, lo que equivale a una precisión de lectura del 99,9%.
- c) Unión de las lecturas de los cebadores (solo si se ha secuenciado en ambas direcciones).
- d) Obtención de secuencias únicas (secuencias 100% similares).
- e) Generación de Unidades Taxonómicas Operativas (OTU, del inglés *Operational Taxonomic Units*) o Variantes de Secuencia del Amplicón (ASV, del inglés *Amplicon Sequence Variant*), como aproximación a especies de organismos. La principal diferencia reside en que en las OTU las secuencias son agrupadas a un valor fijo de similitud (generalmente, 97% de similitud) y en ASV las secuencias son agrupadas de tal manera que entre una ASV y otra haya al menos una diferencia en composición nucleotídica. Cabe aclarar que hoy en día la aproximación dada por ASV es la más utilizada ya que se puede obtener una representación más aproximada de la diversidad (Callahan *et al.* 2016).
- f) Eliminación de quimeras y filtración por abundancia: si bien previamente se han realizado varios chequeos de calidad y filtración, existen otros tipos de errores que pueden persistir e influir en los análisis posteriores, tales como las quimeras, *singletons*, *doubletons* y contaminación cruzada de la secuenciación, que deben ser eliminados. La mayoría de los *pipelines* incluyen algoritmos para la eliminación de quimeras, *singletons*, *doubletons* y la contaminación cruzada puede eliminarse mediante filtración por abundancia. Para esto no existe un criterio único, por lo que va a depender del análisis a realizar.
- g) Asignación taxonómica de las secuencias de cada OTU o ASV: existen diversos métodos que se basan en la similitud de las secuencias de OTUs o ASVs con secuencias de bases de datos de referencia. Las bases de datos de referencia son una colección de secuencias provenientes de organismos de interés cuya taxonomía ha sido manualmente revisada. Las principales bases de datos disponibles son RDP para procariontes (16S ARNr) (Cole *et al.* 2003), SILVA para procariontes (16S SSU y LSU ARNr, y eucariotas (18S SSU y LSU) (Quast *et al.* 2012) y PR² para eucariotas (18S ARNr y 16S Cloroplastos) (Guillou *et al.* 2012).

Paso del análisis	Programa	Referencia
Eliminación de cebadores	Cutadapt Trimmomatic	Martin, 2011 Bolger <i>et al.</i> 2014
Control de calidad	FastQC MultiQC	https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/ Ewels <i>et al.</i> 2016
Filtración por calidad	USEARCH VSEARCH DADA2 QIIME Mothur	Edgard 2010 Rognes <i>et al.</i> 2016 Callahan <i>et al.</i> 2016 Bolyen <i>et al.</i> 2018 Schloss <i>et al.</i> 2009
Ensamblado de secuencias (<i>Forward</i> y <i>Reverse</i>)	Pear USEARCH VSEARCH DADA2 QIIME Mothur	Zhang <i>et al.</i> 2014 Edgard 2010 Rognes <i>et al.</i> 2016 Callahan <i>et al.</i> 2016 Bolyen <i>et al.</i> 2018 Schloss <i>et al.</i> 2009
Obtención de ASVs u OTUs	USEARCH VSEARCH DADA2 QIIME Mothur MED	Edgard, 2010 Rognes <i>et al.</i> 2016 Callahan <i>et al.</i> 2016 Bolyen <i>et al.</i> 2018 Schloss <i>et al.</i> 2009 Eren <i>et al.</i> 2015
Eliminación de quimeras	UCHIME DADA2 DECIPHER	Edgard <i>et al.</i> 2011 Callahan <i>et al.</i> 2016 Wright <i>et al.</i> 2012
Asignación taxonómica	BLAST+ IDTAXA SINTAX DADA2	Camacho <i>et al.</i> 2009 Murali <i>et al.</i> 2018 Edgar, 2016 Callahan <i>et al.</i> 2016

Tabla 5: Principales programas para realizar el procesamiento de cada uno de los pasos bioinformáticos necesarios para el análisis de los resultados de la secuenciación masiva del ADN ambiental.

Aplicaciones del ADN ambiental

La información obtenida a partir de los análisis de ADN puede servir para responder preguntas que involucran diferentes áreas de estudio como la ecología, la biología de la conservación, la detección de especies invasoras y el biomonitorio. Una de las ventajas que presentan los análisis de ADN mediante secuenciación masiva es que permiten estudiar la biodiversidad tanto de microorganismos como de macroorganismos pertenecientes a grupos taxonómicos diferentes, a diferencia de los métodos clásicos que centran su estudio en unas pocas especies o en un grupo taxonómico determinado.

El estudio del ADN posibilita hacer un diagnóstico del estado del ambiente, establecer líneas de base que sirvan de punto de partida para evaluar impactos sobre los ecosistemas, monitorear

cambios en la composición de especies debida a efectos antrópicos, analizar la presencia/ausencia de especies tolerantes o sensibles, y determinar la distribución de especies vulnerables utilizando un método no invasivo.

Mediante el ADN es posible determinar no solo la presencia y abundancia de especies muy representadas, sino que también consigue detectar especies raras que se encuentran en baja abundancia. En este sentido, puede aplicarse como método de determinación temprana de especies acuáticas invasoras, especialmente aquellas que son difíciles de detectar en las primeras etapas del ciclo de vida o que sus características morfológicas resultan insuficientes para poder ser determinadas taxonómicamente. La detección temprana de estas especies en un ecosistema se considera crucial para la gestión y el control de la bioinvasión.

Bibliografía

Bohmann, K., A. Evans, M. T. P. Gilbert, G. R. Carvalho, S. Creer, M. Knapp & M. De Bruyn. 2014. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology & Evolution*, 29(6): 358-367.

Bolger, A. M., M. Lohse & B. Usadel. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15): 2114-2120.

Bolyen, E., J. R. Rideout, M. R. Dillon, N. A. Bokulich, C. Abnet, G. A. Al-Ghalith & J. G. Caporaso. 2018. QIIME 2: Reproducible, interactive, scalable, and extensible microbiome data science (No. e27295v1). PeerJ Preprints.

Callahan, B. J., P. J. Mc Murdie, M. J. Rosen, A. W. Han, A. J. A. Johnson & S. P. Holmes. 2016. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature methods*, 13(7): 581-583.

Camacho, C., G. Coulouris, V. Avagyan, N. Ma, J. Papadopoulos, K. Bealer & T. L. Madden. 2009. BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics*, 10(1): 1-9.

Cole, J. R., B. Chai, T. L. Marsh, R. J. Farris, Q. Wang, S. A. Kulam & J. M. Tiedje. 2003. The Ribosomal Database Project (RDP-II): previewing a new autoaligner that allows regular updates and the new prokaryotic taxonomy. *Nucleic Acids Research*, 31(1): 442-443.

Dejean, T., A. Valentini, A. Duparc, S. Pellier-Cuit, F. Pompanon, P. Taberlet & C. Miaud. 2011. Persistence of environmental DNA in freshwater ecosystems. *PLoS One*, 6(8): e23398.

Edgar, R. C. 2010. *Usearch*. Lawrence Berkeley National Lab. (LBNL), Berkeley, CA (United States).

Edgar, R. C. 2016. *SINTAX: a simple non-Bayesian taxonomy classifier for 16S and ITS sequences*. Biorxiv 074161.

Edgar, R. C., B. J. Haas, J. C. Clemente, C. Quince & R. Knight. 2011. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*, 27(16): 2194-2200.

Eren, A. M., H. G. Morrison, P. J. Lescault, J. Reveillaud, J. H. Vineis & M. L. Sogin. 2015. Minimum entropy decomposition: unsupervised oligotyping for sensitive partitioning of high-throughput marker gene sequences. *The ISME Journal*, 9(4): 968-979.

Ewels, P., M. Magnusson, S. Lundin, & M. Käller. 2016. MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinformatics*, 32(19): 3047-3048.

Fernández Zenoff, V., F. Siñeriz & M. E. Farias. 2006. Diverse responses to UV-B radiation and repair mechanisms of bacteria isolated from high-altitude aquatic environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12): 7857-7863.

Guillou, L., D. Bachar, S. Audic, D. Bass, C. Berney, L. Bittner & R. Christen. 2012. The Protist Ribosomal Reference database (PR2): a catalog of unicellular eukaryote small sub-unit rRNA sequences with curated taxonomy. *Nucleic acids research* 41(D1): D597-D604.

Hillis, D. M. & M. T. Dixon. 1991. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly review of biology*, 66(4): 411-453.

Huse S. M, L. Dethlefsen, J. A. Huber, D. Mark Welch, D. A. Relman, M. L. Sogin. 2008. Exploring microbial diversity and taxonomy using SSU rRNA hypervariable tag sequencing. *PLoS Genetics*, 4:e1000255

Lear, G., I. Dickie, J. Banks, S. Boyer, H. L. Buckley, T. R. Buckley & R. Holdaway. 2018. Methods for the extraction, storage, amplification and sequencing of DNA from environmental samples. *New Zealand Journal of Ecology*, 42(1): 10-50A.

Liu Z., T. Z. DeSantis, G. L. Andersen, R. Knight. 2008. *Accurate taxonomy assignments from 16S rRNA sequences produced by highly parallel pyrosequencers*. *Nucleic Acids Research* e120, <https://doi.org/10.1093/nar/gkn491>

Martin, M. 2011. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet. Journal*, 17(1): 10-12.

Murali, A., A. Bhargava & E. S. Wright. 2018. IDTAXA: a novel approach for accurate taxonomic classification of microbiome sequences. *Microbiome*, 6(1): 1-14.

Pedros-Alio C. 2006. Marine microbial diversity: Can it be determined? *Trends Microbiol*, 14:257-63.

Pedrós-Alió, C. 2012. The rare bacterial biosphere. *Annual review of marine science*, 4: 449-466.

Quast, C., E. Pruesse, P. Yilmaz, J. Gerken, T. Schweer, P. Yarza & F. O. Glöckner. 2012. The SILVA

ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic acids research*, 41(D1): D590-D596.

Rognes, T., T. Flouri, B. Nichols, C. Quince & F. Mahé. 2016. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4: e2584.

Salter, S. J., M. J. Cox, E. M. Turek, S. T. Calus, W. O. Cookson, M. F. Moffatt & A. W. Walker. 2014. Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses. *BMC Biology*, 12(1): 87. <https://doi.org/10.1186/s12915-014-0087-z>

Schloss, P. D., S. L. Westcott, T. Ryabin, J. R. Hall, M. Hartmann, E. B. Hollister & C. F. Weber. 2009. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and environmental microbiology*, 75(23): 7537-7541.

Sogin, M. L., H. G. Morrison, J. A. Huber, W. D. Mark, S. M. Huse, P. R. Neal, J. M. Arrieta & G. J. Herndl. 2006. Microbial diversity in the deep sea and the underexplored "rare biosphere", *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*, 103: 12115-12120

Wright, E. S., L. S. Yilmaz & D. R. Noguera. 2012. DECIPHER, a search-based approach to chimera identification for 16S rRNA sequences. *Applied and environmental microbiology*, 78(3): 717-725.

Zhang, J., K. Kobert, T. Flouri & A. Stamatakis. 2014. PEAR: a fast and accurate Illumina Paired-End reAd mergeR. *Bioinformatics*, 30(5): 614-620.

Índices de calidad de hábitat y de ribera

Protocolos para índices de hábitat y ribera

Región NOA

Edgardo Pero

Protocolo de calidad de la vegetación de ribera

Ecorregiones y tipos de ríos

Para evaluar la calidad ecológica de la vegetación de ribera, es recomendable seguir un enfoque ecorregional. Uno de los índices más utilizados y difundidos para evaluar la calidad de los bosques de ribera es el denominado **Índice de Calidad del bosque de ribera** por sus siglas de origen catalán *Qualitat del Bosc de Ribera* (QBR). Este índice fue diseñado para evaluar la calidad ecológica del bosque de ribera en ríos de la península Ibérica en España (Munné *et al.* 1998, Prat *et al.* 1999, Munné *et al.* 2003). Su uso se ha extendido, en mayor medida, por su practicidad y fácil aplicación en campo. Integra aspectos biológicos y geomorfológicos del río (Sirombra 2012) y no demanda un conocimiento altamente especializado en términos de identificación de especies.

En la región NOA se aplica una adaptación del índice QBR, la cual ha sido adaptada para los bosques de montaña de la ecorregión de Yungas (QBRy, Sirombra y Mesa 2012). Para los ríos ubicados en serranías de Chaco Serrano no existe una adaptación del QBR en la actualidad. Sin embargo, se conocen sitios de referencia para el área (Pero y Quiroga 2019, Sirombra y Ceccotti 2016) y se estima poder desarrollar una adaptación en un futuro próximo (Sirombra y Ceccotti 2016). Se ha aplicado el índice QRBy para evaluar la ribera de sitios de Chaco Seco y los resultados fueron coherentes con los impactos y disturbios observados en aquellos sitios (Fernández *et al.* 2016, Leiva 2019). Sin embargo, es importante ajustar el índice QBR al contexto de los bosques de Chaco Seco, considerando las diferencias composicionales y estructurales observadas en-

tre los bosques de ribera de esta ecorregión y la de Yungas (Pero y Quiroga 2019).

Para el caso de las ecorregiones de Monte de Valles y Bolsones, Puna y Altos Andes no se han desarrollado hasta el momento índices para evaluar la calidad de los ecosistemas ribereños.

Para Monte, Puna y Altos Andes. Aplicación del índice QBRy (Qualitat del Bosc de Ribera yungas)

Debido a su difundida aplicación y al ser el único índice adaptado a una ecorregión local recomendamos el uso del índice QBRy para evaluar las riberas de ríos y arroyos del área montañosa del NOA que incluye a ríos de Yungas y Chaco Serrano.

El índice se aplica generalmente a tramos de río de entre 50 y 100 m de longitud entre aguas arriba y abajo. Para evaluaciones a nivel de cuenca o de segmentos largos de ríos (km) se pueden evaluar varios tramos. La calificación de cada tramo debe ser aplicada a toda la zona ribereña (orilla y ribera) que puede incluir llanuras de inundación y terrazas fluviales (Naiman *et al.* 2005) (Fig. 1). Ambos márgenes del río se consideran en forma conjunta.

La cuantificación de la valoración del estado ecológico del bosque ribera según el índice QBR se basa en cuatro bloques de puntuación independientes, cada bloque valora diferentes componentes y atributos del ecosistema ribereño. Cada bloque recibe una puntuación de entre 0 y 25 puntos (anexo, planilla de campo). La suma de los cuatro bloques establece la puntuación final que podrá variar entre 0 y 100 puntos. De esa forma se permite expresar el nivel de calidad ecológica del tramo de ribera que se desea evaluar (Tabla 1). En la puntuación del índice QBR suman puntos todas aquellas características que aportan calidad al ecosistema de ribera (opciones principales en la planilla de campo) y restan puntos (opciones de la planilla de campo) todos aquellos

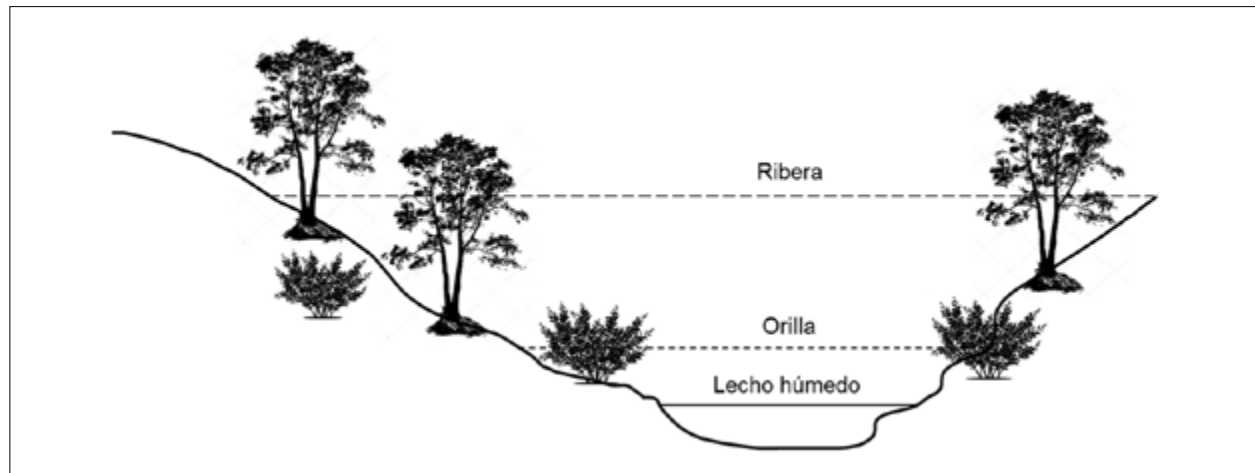


Figura 1: Esquema de la zona de ribera de un río o arroyo en el cual se delimita el lecho húmedo, la línea de orilla y la línea de ribera.



Figura 2: Identificación del talud, caudal dominante o "bankfull" (flecha amarilla) y del bosque de ribera (flecha blanca). Foto: Río Pueblo Viejo, provincia de Tucumán.

Rango de puntuación del QBRy: (Qualitat del Bosc de Ribera yungas)	Nivel de calidad
≥ 0 = 95	Ribera sin alteraciones. Calidad muy buena
75-90	Ribera ligeramente perturbada. Calidad buena
55-70	Inicio de alteración importante. Calidad aceptable
30-50	Alteración fuerte. Calidad mala
≤ 0 = 25	Degradación extrema. Calidad pésima

Tabla 1: Rangos de calidad ecológica de la vegetación de ribera propuestos para el índice QBR: (Qualitat del Bosc de Ribera yungas) (modificado de Sirombra & Mesa, 2012).

aspectos que suponen un distanciamiento de las condiciones de referencia (Sirombra 2012). En la planilla de campo se debe registrar la localidad donde se mide el QBR, preferentemente las coordenadas geográficas del sitio, y la fecha del muestreo.

Bloques que conforman el índice QBRy (Qualitat del Bosc de Ribera yungas)

A continuación, se describen los cuatro bloques que conforman la evaluación del índice QBRy: (Qualitat del Bosc de Ribera yungas) (Sirombra 2012, Sirombra y Mesa 2010).

1. Cobertura vegetal ribereña total

Determina qué porcentaje de la ribera tiene cobertura vegetal. Incluye todas las especies, salvo las de ciclo anual. En este bloque, también se valoriza la conectividad entre las riberas y los sistemas forestales adyacentes. Se considera que la conectividad es total cuando entre el bosque de ribera y el bosque adyacente de los dos márgenes del río no existe ninguna alternación de origen humano, longitudinal y paralela al río.

2. Estructura de la cubierta vegetal ribereña

En este bloque se evalúa la estructuración de la vegetación de ribera que proporciona una idea de la estratificación vertical de la ribera (estrato arbustivo y arbóreo). Para la puntuación, se tiene en cuenta el porcentaje de árboles y arbustos, la discontinuidad entre las manchas de vegetación, la existencia de sotobosque y la modificación por plantaciones. La presencia de especies de lianas y enredaderas aumenta la complejidad de la zona de ribera y, en consecuencia, su biodiversidad. Por ese motivo, se considera un elemento positivo adicional. Para el caso de riberas con plantaciones de árboles no autóctonos, su puntuación disminuye debido a la disminución de la complejidad del estrato arbóreo (que se considera una menor calidad ecológica). El sotobosque en estas situaciones puede ser más o menos abundante en función de la edad y de las especies de la plantación. Cuando el sotobosque cubre más del 50% de la plantación, la penalización es menor.

3. Calidad de la cobertura vegetal

En este apartado se evalúa la complejidad y naturalidad de la cobertura vegetal de la ribera. La naturalidad aquí está relacionada con las especies arbóreas autóctonas que se tendrían que encontrar en una situación sin alteración de la ribera. La calidad de la cobertura vegetal se estima teniendo en cuenta el porcentaje de especies nativas y exóticas de árboles y arbustos.

4. Grado de naturalidad del canal fluvial

El canal fluvial está en íntima relación con la ri-

bera y este puede ser modificado de distintas maneras por actividades humanas. El grado de alteración se evalúa en función de la intensidad de la modificación. Se diferencian tres situaciones básicas: la modificación de las terrazas adyacentes al lecho del río, con una disminución del cauce, pero sin infraestructura humana sobre el cauce; la presencia de infraestructuras rígidas discontinuas y paralelas al lecho del río que modifican el canal; y por último, la canalización total del tramo modificando las orillas o toda la ribera. A pesar de que el canal no presente modificaciones de su anchura, puede alterarse por la presencia de estructuras sólidas en el lecho del río o transversales a este (presas). Se debe distinguir si los tipos de impacto mencionados ocurren sobre una o sobre las dos terrazas o márgenes fluviales. También, se debe contemplar la diferente intensidad de extracción de áridos, si existiese, y la existencia de vertidos de residuos sólidos urbanos.

Niveles de calidad de ribera

Una vez evaluados cada uno de los cuatro bloques se deberá indicar, en el margen izquierdo de la planilla de campo, cuál o cuáles son las opciones escogidas. Se deberá calcular la puntuación de cada uno de los bloques, la cual se anotará en el margen derecho de la planilla. Se debe sumar cada bloque para obtener la puntuación total. La suma de cada bloque no debe ser negativa ni superar los 25 puntos.

Se distinguen 5 niveles de calidad de ribera (Tabla 1): muy buena, buena, aceptable, mala, pésima. Cada nivel se representa con un color característico. Los colores pueden ser utilizados para la interpretación visual de los resultados a través de diferentes gráficos y en mapas de calidad del hábitat fluvial.

La planilla de campo que utiliza el QBRy con el detalle del puntaje asignado a los bloques o secciones se presenta en la Tabla 2.

Region NEA

Son aplicables los Protocolos desarrollados para la región Centro (Hábitat fluvial para ríos de llanura de centro) y región Pampa (ICR), cambiando la lista de árboles en el caso de la calidad de ribera.

Región de Cuyo

Pueden aplicarse los índices de hábitat fluvial para ríos de llanura de centro y hábitat fluvial para ríos de montaña de Patagonia

Sitio:	Fecha:
Coordenadas:	

SECCIÓN 1: Cobertura vegetal total en el tramo evaluado (sentido horizontal)

Puntuación		Puntuación
25	>80 % de cobertura vegetal de la zona de ribera (no plantas anuales)	
10	50-80 % de cobertura vegetal de la ribera de la zona	
5	10-50 % de cobertura vegetal de la ribera de la zona	
0	< 10 % de cobertura vegetal de la ribera de la zona	
+10	Si la conectividad entre el bosque de ribera y el ecosistema forestal adyacente es total	
+5	Si la conectividad entre el bosque de ribera y el ecosistema forestal adyacente es superior al 50%	
-5	Si la conectividad entre el bosque de ribera y el ecosistema forestal adyacente es total es entre 25 y 50%	
-10	Si la conectividad entre el bosque de ribera y el ecosistema forestal adyacente es menor al 50%	

SECCIÓN 2: Estructura de la cobertura vegetal del tramo evaluado (sentido vertical)

Puntuación		Puntuación
25	Cobertura de árboles en la ribera superior al 70%	
10	Cobertura de árboles entre un 50 – 75% o 25 – 50% de árboles + cobertura de arbustos superior al 25%	
5	Cobertura de árboles inferior a 50% pero con cobertura de arbusto al menos entre 10 – 25%	
0	Ambas coberturas (árboles y arbustos) con valor inferior al 10%	
+10	Al menos el 50% del canal fluvial tiene en su orilla (borde) arbustos y/o lianas	
+5	Si el 25 al 50 % del canal fluvial tiene en su orilla (borde) arbustos y/o lianas	
+5	Si los arbustos y/o árboles se encuentran espacialmente entremezclados	
-5	Arboles con distribución regular (linealidad), cobertura de arbustos mayor a 50%	
-5	Si los árboles y arbustos se distribuyen en marchas sin continuidad	
-10	Arboles con distribución regular (linealidad), cobertura de arbustos menor a 50%	

SECCIÓN 3: Calidad de la cobertura vegetal en el tramo evaluado

Puntuación		Puntuación
25	Todos los árboles de la zona de ribera son autóctonos	
10	Como máximo un 25% de la cobertura es de especies de árboles exóticas aisladas	
5	25 – 50% de los árboles de la ribera son especies introducidas aisladas (de 25 – 50% nativas)	
0	Más del 50% de los árboles de la ribera son especies introducidas aisladas (- 50% nativas)	
+10	>75% de la cobertura de los arbustos es de especies autóctonas	
+5	50 – 75% de la cobertura de los arbustos es de especies autóctonas (hasta 25% exóticas)	
-5	25 – 50 % de la cobertura de los arbustos es de especies autóctonas (25 – 50% exóticas)	
-10	Menos del 25% de la cobertura de arbustos es de especies autóctonas (75 % exóticas)	
-10	Presencia de especies exóticas formando comunidades puras (árboles o arbustos)	

SECCIÓN 4: Grado de naturalidad del canal fluvial del tramo evaluado

Puntuación		Puntuación
25	El canal del río no ha sido modificado	
15	Modificaciones en una sola terraza, adyacente al lecho del río, con reducción del canal (no rígidas)	
10	Modificaciones en ambas terrazas, adyacente al lecho del río, con reducción del canal (no rígidas)	
10	Canal modificado por estructuras rígidas en un solo margen	
5	Canal modificado por estructuras rígidas en ambos márgenes	
0	Río canalizado en la totalidad del tramo	
-10	Si existe una estructura sólida dentro del lecho del río (toma de agua)	
-10	Si existe alguna presa u otra infraestructura transversal al lecho del río (vertederos o cruces de río)	
-10	Si existen vertidos de residuos sólidos urbanos	
-10	Si se observa extracción intensa de áridos, grava o arena, en ríperas	
-5	Si se observa extracción leve de áridos, grava o arena (uso doméstico)	

Tabla 2: Planilla de campo Índice QBRy (Calidad de bosque ribereño, Sirombra 2012)

La puntuación para cada bloque no puede ser negativa ni superar los 25 puntos

Region Centro

Romina Elizabeth Príncipe, Javier Andrés Márquez, Luciana Cibils Martina, Julieta del Rosario Lucero y Victoria Montilla

Registro de hábitat fluvial. Tabla 1.

Para evaluar la calidad de hábitat en ríos de llanura se utiliza el Índice de Integridad de Hábitat (IIH) modificado de Petersen *et al.* (1992), Nessimian *et al.* (2008) y Monteiro *et al.* (2014). El IIH involucra la evaluación de características morfológicas de los cuerpos de agua y sus márgenes, de la composición de la vegetación acuática y ribereña, y del grado de intervención humana.

Procedimiento para la aplicación de IIH en ríos de llanura

- 1) Identificar el sitio a evaluar con coordenadas geográficas y colocar un código de referencia.
- 2) Tomar la planilla IIH (Tabla 6.1) y completar el encabezado de la misma.
- 3) Identificar los límites de la ribera. La ribera comprende la zona de los márgenes del arroyo que se inundan durante crecidas periódicas y máximas.
- 4) Para asignar los puntajes, considerar 10 m a cada lado del lugar donde se sitúa el operador

y considerar las dos riberas a la vez. Para ello, el operador deberá asignar los puntajes situados en una de las riberas y luego deberá visitar la otra ribera para ajustar los puntajes asignados en caso de ser necesario. Este procedimiento se recomienda dado que el ancho húmedo de los ríos de llanura supera siempre los 70 m, lo que dificulta realizar la evaluación de las dos riberas a la vez.

- 5) Seleccionar un solo puntaje para cada variable de la planilla IIH (1 a 14) de acuerdo a las condiciones del sitio que está siendo evaluado.
- 6) Calcular el puntaje ponderado de cada variable. Cada una de estas variables (1 a 14) contribuye al IIH con un puntaje ponderado calculado como:
- 7) Puntaje de la variable (pv) = a_0/am donde pv es el valor ponderado de cada variable, a_0 es el puntaje obtenido para esa variable y am es el puntaje máximo que presenta esa variable.
- 8) Para obtener el valor total del índice, se realiza una sumatoria de todos los pv y se obtiene como resultado un número entre 0 y 1, siendo 0 el ambiente más degradado y 1 el más preservado.
- 9) De acuerdo con el puntaje total obtenido se les asigna un juicio de valor a los sitios entre degradado ($pv \text{ IIH} \leq 0,33$), moderadamente degradado ($0,33 < pv \text{ IIH} \leq 0,66$) y preservado ($pv \text{ IIH} > 0,66$).

Protocolo. Registro del hábitat fluvial: región centro		
Sitio:		
Fecha:		
Características	Condiciones	Puntaje
1 Acceso	Camino pavimentado	0
	Camino no pavimentado	1
	Senda	2
	Sendero	3
2 Ancho del bosque ribereño	Vegetación costera sin leñosas	0
	Sin bosque costero, pero con algunos arbustos	1
	Bosque costero de 1-5 m de anchura	2
	Bosque costero de 5-30 m de anchura	3
	Bosque costero de más de 50 m de anchura	4
3 Preservación del bosque ribereño	Bosque costero intacto	5
	Brechas frecuentes con algunos rebrotes	0
	Brechas a intervalos de 25 m-50 m	1
	Brechas a intervalos de más de 50 m	2
	Bosque costero intacto	3

Protocolo. Registro del hábitat fluvial: región centro			
Sitio: Fecha:			
Características	Condiciones	Puntaje	
4	Condición del bosque ribereño dentro de los 10 metros del cuerpo de agua	Pasto con algunos arbustos	0
		Pasto mezclado con algunos árboles y arbustos exóticos	1
		Pasto mezclado con algunos árboles y arbustos exóticos, y algunos árboles nativos	2
		Árboles exóticos mezclados con árboles nativos	3
		Más del 80% de la vegetación constituida por árboles nativos	4
5	Mecanismos de retención de agua	Retención por cinco o más de lo siguiente: plástico, metal, vidrio, goma, materiales de construcción, materia orgánica	0
		Retención por tres o más de lo siguiente: plástico, metal, vidrio, goma, materiales de construcción, materia orgánica	1
		Retención por uno o más de lo siguiente: plástico, metal, vidrio, goma, materiales de construcción, materia orgánica	2
		Retención por hojas y troncos sin residuos urbanos, residuos orgánicos solamente	3
6	Cobertura de la canopia en la zona ribereña	Abierto - 0% a 10%	0
		Parcialmente abierto - 11% a 40%	1
		Intermedio - 41% a 60%	2
		Parcialmente cerrado - 61% a 90%	3
		Cerrado - 91% a 100%	4
7	Ausencia de ocupación humana	Desarrollo urbano o industrial en la ribera	0
		Desarrollo urbano o industrial a una distancia mayor de 15 m desde la ribera	1
		Desarrollo urbano o industrial a una distancia mayor de 25 m desde la ribera	2
		Desarrollo urbano o industrial a una distancia mayor de 50 m desde la ribera	3
		Sin desarrollo urbano o industrial	4
8	Ausencia de efluentes domésticos o industriales	Descarga de efluentes domésticos o industriales directa en el cuerpo de agua	0
		Desarrollo urbano sin el adecuado saneamiento público, con residuos siendo descargados cerca o dentro del cuerpo de agua	1
		Desarrollo urbano o industrial conectado redes de saneamiento público y estaciones de tratamiento	2
		Sin edificios o descarga de efluentes	3
9	Ausencia de densidad de edificios (dentro de los 100 metros)	Más de 50 edificios	0
		Entre 11 y 49 edificios	1
		Entre 1 y 10 edificios	2
		Sin edificios	3
10	Ausencia de basura tirada (dentro o fuera del cuerpo de agua)	Cinco o más de lo siguiente: plástico, metal, vidrio, goma, materiales de construcción, materia orgánica	0
		Al menos tres de lo siguiente: plástico, metal, vidrio, goma, materiales de construcción, materia orgánica	1
		Al menos uno de lo siguiente: plástico, metal, vidrio, goma, materiales de construcción, materia orgánica	2
		Residuos orgánicos solamente	3
		Sin evidencias	4

Protocolo. Registro del hábitat fluvial: región centro			
Sitio: Fecha:			
Características	Condiciones	Puntaje	
11	Uso de la tierra alrededor de la zona ribereña	Urbano o cultivos	0
		Cultivos y pasturas	1
		Pasturas	2
		Natural	3
12	Estructura del banco	Banco inestable, fácilmente disturbable, con suelo o arena suelta	0
		Banco de suelo suelto agarrado por capas dispersas de pasto y arbustos	1
		Banco firme pero sueltamente agarrado por pasto y arbustos	2
		Banco estable, suelo agarrado firmemente por pasto, arbustos o raíces de árboles	3
13	Erosión del banco	Erosión severa a lo largo del canal, banco cayendo dentro	0
		Erosiones frecuentes, erosión del banco y raíces	1
		Erosión solo en curvas y en constricciones	2
		Poca, sin evidencia o restringido a áreas con raíces de apoyo de árboles	3
14	Vegetación acuática (% de cobertura en el margen del cuerpo de agua)	0% a 10%	0
		11% a 40%	1
		41% a 60%	2
		61% a 90%	3

Tabla 1: Planilla para el cálculo del Índice de Integridad del Hábitat (IIH) en ríos de llanura.

Registro de la calidad de ribera

Para evaluar la calidad de la ribera de arroyos serranos y ríos de llanura se aplica el índice de Calidad del Bosque de Ribera (CBR) según Corigliano (2008).

El CBR se basa en relevar cuatro variables: 1) Cobertura Vegetal, 2) Estructura de la cobertura, 3) Complejidad de la cobertura y 4) Naturalidad del cauce fluvial. A su vez, cada variable presenta opciones con puntuaciones de 0, 5, 10 y 25 que el operador debe elegir en función de las características del tramo relevado. La puntuación final de cada variable posee un valor máximo de 25 y un mínimo de 0. El resultado de la suma de los puntajes de cada variable varía entre 0 y 100. Este índice no es aplicable en tramos de nacientes de arroyos en pastizales de altura de las sierras de Córdoba, ya que allí no se desarrolla un bosque de ribera.

Procedimiento para la aplicación de CBR en arroyos serranos

- 1) Identificar un tramo de arroyo de 100 m con coordenadas geográficas y colocar un código de referencia (ejemplo: T 1 arroyo Piedras Blancas).

- 2) Tomar la planilla CBR (Tabla 2) y completar el encabezado de la misma antes de iniciar el recorrido del tramo.
- 3) Identificar los límites de la ribera. La ribera comprende la zona de los márgenes del arroyo que se inunda periódicamente por las crecidas periódicas y las máximas.
- 4) Recorrer los 100 m de tramo y seleccionar un puntaje para cada categoría de la planilla CBR (1 a 4) de acuerdo a las características de la zona ribereña. Para la asignación de los puntajes deben considerarse las dos riberas del tramo a la vez.
- 5) Sumar los puntajes asignados a cada categoría y, en función del puntaje total obtenido, asignar el juicio de calidad del tramo.

Procedimiento aplicación de CBR en ríos de llanura

El procedimiento es el mismo que para los arroyos serranos, solamente varía en el **punto 4**. En los ríos

de llanura se recomienda considerar las riberas de recha e izquierda por separado, dado que el ancho húmedo de los ríos de llanura supera siempre los 70 m, lo que dificulta realizar la evaluación de las dos riberas a la vez. Asimismo, debido a que en la región de llanura se localizan los principales centros urbanos de la provincia, la consideración de las riberas por separado permite exponer asimetrías en el uso de ellas dentro de los tramos urbanos. La ribera derecha e izquierda se determinan colocándose de espaldas a las nacientes del río y se especifica en el código de referencia del tramo

(punto 1). Si es necesario un tratamiento conjunto, se puede promediar el puntaje total obtenido para cada ribera.

Este índice debe ser aplicado en la zona de ribera de ríos y arroyos (zona inundada periódicamente por las crecidas periódicas y las máximas).

Este índice no debe aplicarse para nacientes de arroyos en pastizales de altura de las sierras de Córdoba, ya que allí no se desarrolla un bosque de ribera.

Índice de calidad del bosque de ribera (cbr)			
Ubicación del tramo:		Fecha:	
Operador:		Hora inicio:	
Uso del suelo:	Urbano	Post-urbano	Natural
	Preurbano	Rural (Agrícola-Ganadero)	
		Hora final:	
Cobertura vegetal			Puntuacion
> 80% cobertura			25
50-80% cobertura			10
10-50% cobertura			5
< 10% cobertura			0
Estructura de la cobertura			
75% de árboles			25
50-75% árboles			10
<50% arboles			5
Sin árboles y arbustos por debajo del 10%			0
Complejidad de la cobertura			
> 50% especies de árboles autóctonos *			25
30-50% de especies de árboles autóctonos *			10
< 30% especies de árboles autóctonos *			5
Ninguna especie de árbol autóctona *			0
Características del cauce fluvial			
No alterado			25
Modificación de las terrazas adyacentes al lecho del río			10
Signos de alteración y estructuras rígidas que modifican el canal del río			5
Río canalizado en la totalidad del tramo			0
Puntuación total			

Juicio de calidad	
* Listado de árboles autóctonos e introducidos más frecuentes en las riberas de la cuenca Carcarañá en la Provincia de Córdoba.	
Árboles autóctonos	Árboles introducidos
<i>Prosopis alba</i> (algarrobo blanco)	<i>Betula pendula</i> (abedul)
<i>Prosopis caldenia</i> (caldén)	<i>Albizia julibrissin</i> (acacia de constantinopla)
<i>Porlieria microphylla</i> (cucharero)	<i>Gleditsia triacanthos</i> (acacia negra)
<i>Geoffroea decorticans</i> (chañar)	<i>Populus</i> spp. (alamo)
<i>Kageneckia lanceolata</i> (durazno del campo)	<i>Manihot grahamii</i> (cafeto)
<i>Acacia caven</i> (espinillo)	<i>Eucaliptus</i> spp. (eucalipto)
<i>Acacia atramentaria</i> (espinillo negro)	<i>Fraxinus pennsylvanica</i> (fresno)
<i>Acacia praecox</i> (garabato)	<i>Morus</i> spp. (morera)
<i>Rupretchia apetala</i> (manzano del campo)	<i>Ulmus</i> spp. (olmo)
<i>Lithrea molleoides</i> (molle de beber)	<i>Melia azedarch</i> (paraíso)
<i>Schinus fasciculatus</i> (moradillo)	<i>Pinus</i> spp. (pino)
<i>Prosopis affinis</i> (ñandubay)	<i>Salix babilonica</i> (sauce llorón)
<i>Phytolaca dioica</i> (ombú)	<i>Salix fragilis</i> (sauce mimbre)
<i>Jodina rhombifolia</i> (peje)	<i>Tamarix gallica</i> (tamarisco)
<i>Condalia microphylla</i> (piquillín)	<i>Acacia aroma</i> (tusca) **
<i>Salix humboldtiana</i> (sauce criollo)	<i>Jacaranda mimosifolia</i> (Jacarandá) **
<i>Celtis tala</i> (tala)	<i>Fagara hyemalis</i> (mamica de tambela) **
<i>Bougainvillea stipitata</i> (tala falso)	<i>Tessaria integrifolia</i> (aliso de río) **
** Introducidos desde otras ecoregiones de la Argentina	

Observaciones

Conversión de las puntuaciones finales del índice cbr en juicios de calidad			
Puntuación	Juicio	Calidad	Color
>95	Sin alteraciones, estado natural.	Muy Buena	Azul
75-90	Ligeras perturbaciones.	Buena	Verde
55-70	Inicio de alteraciones importantes, calidad intermedia.	Moderada	Amarillo
30-50	Alteración intensa.	Mala	Anaranjado
≤25	Degradación extrema.	Pésima	Rojo

Tabla 2: Planilla para el cálculo del Índice de Calidad del Bosque de Ribera (CBR)

Region Pampas

Nora Gómez, Joaquín Cochero y Agustina Cortelezzi

Metodología para la aplicación de índices de calidad de hábitat en arroyos pampeanos

Los arroyos pampeanos en la Argentina están caracterizados en general por la baja velocidad de la corriente, reducida pendiente, sedimento o sustrato del cauce arcilloso-limoso (barro) y poca cantidad de arena y grava. Sin embargo, otros arroyos pampeanos que nacen en las Sierras de Tandilia y

Ventania (Buenos Aires), se caracterizan por una mayor velocidad de la corriente y pendiente y un sustrato duro o pedregoso compuesto por arenas, gravas, gujarros y cantos. En este tipo de arroyos pueden darse las 2 condiciones, ya que pueden nacer en el sistema serrano, pero luego llegan a la llanura y adquieren características de arroyos de baja velocidad y pendiente. Un arroyo en su estado más natural debería verse como en la Fig. 1.a. (planicie) y 1.b. (serrano).

En los arroyos pampeanos, es común observar en su lecho el desarrollo de diferentes plantas

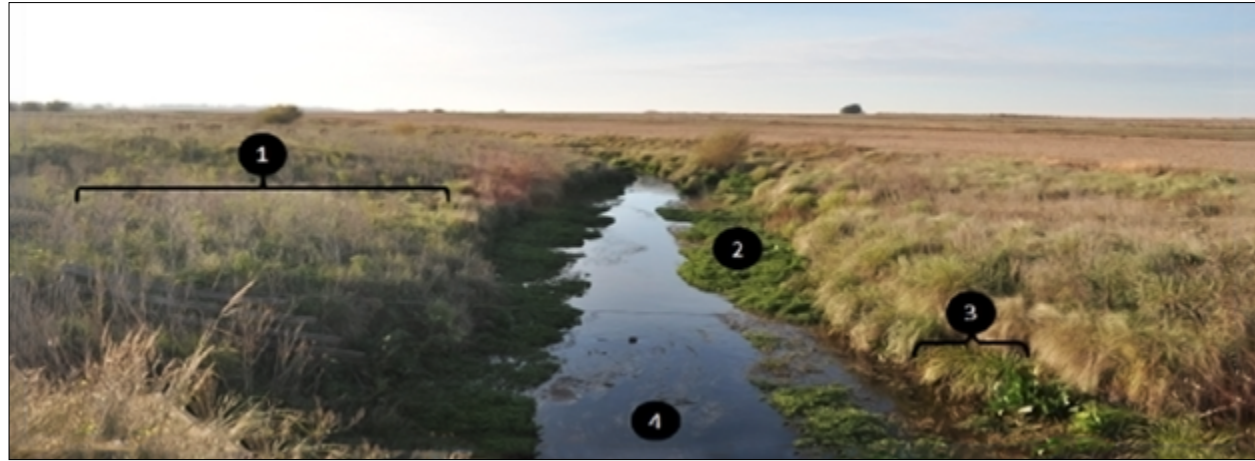


Figura 1.a: Arroyo pampeano típico de llanuras (provincia de Buenos Aires). 1) Zona de ribera, con baja pendiente; 2) Macrófitas o plantas acuáticas abundantes; 3) Bancos, con vegetación; 4) Cauce o canal con sedimento fino limo-arcilloso.



Figura 1.b: Arroyo pampeano serrano (Sierras de Tandilia, Provincia de Buenos Aires). 1) Zona de ribera, con pendiente moderada; 2) Especies leñosas, árboles y arbustos; 3) Bancos, desnudos o con poca vegetación; 4) Cauce o canal, con sedimento grueso de rocas o arena.

acuáticas o macrófitas que pueden estar presentes cubriendo gran parte del cauce. Estas plantas pueden clasificarse en emergentes o palustres, flotantes libres y flotantes arraigadas. En cuanto al paisaje circundante, en los primeros 50 a 100 metros paralelos al flujo del arroyo, suele observarse vegetación ribereña o riparia que en áreas naturales está representada por pastizales, aunque en algunos tramos pueden registrarse árboles (Fig. 2).

Elección de los sitios de muestreo

Los sitios de muestreo para la caracterización del hábitat deberán ser representativos de la zona de estudio que se quiera evaluar. Además, en la selección de los sitios es importante tener en cuenta

la accesibilidad a los mismos y el objetivo del monitoreo. Por ejemplo, en el caso de que se quiera evaluar el impacto de la urbanización sobre el hábitat fluvial de un arroyo urbano, el tramo a evaluar debe estar situado en el área urbana problema.

Dado que el componente vegetal, tanto dentro del cauce como en la zona riparia o ribereña, es fundamental para el cálculo de cualquier índice de hábitat, se recomienda que la evaluación a campo se realice al menos dos veces al año en períodos contrastantes (primavera/otoño o verano/invierno). En caso de no ser posible, podrá realizarse en primavera/verano para poder evaluar la comunidad vegetal en su momento de mayor desarrollo.

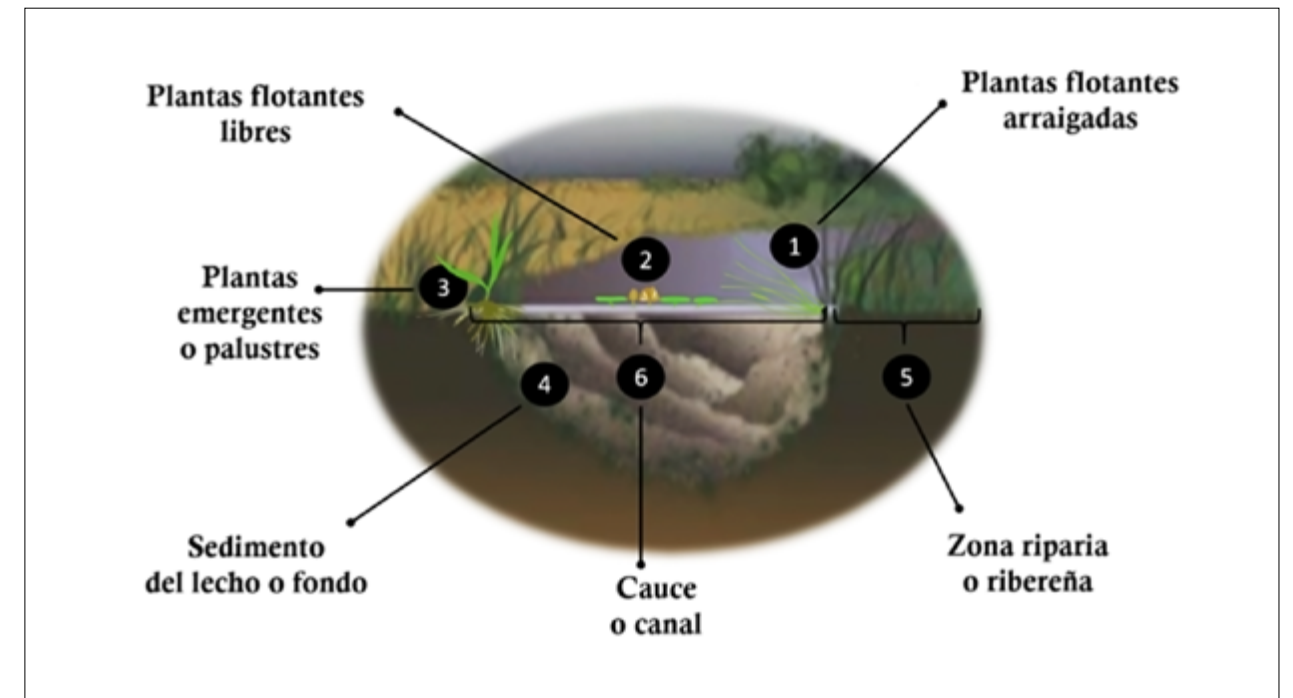


Figura 2: Perfil transversal del cauce de un arroyo de la llanura pampeana que muestra partes del mismo y las formas de vida de la vegetación acuática (macrófitas).

Se recomienda evitar la presencia de puentes en el tramo a evaluar. Sumado a esto, dependiendo del objetivo del estudio, es importante identificar si el cauce está siendo impactado por contaminación difusa (sin una fuente de contaminación concreta y observable) o puntual (se identifica el ingreso de efluentes contaminantes al curso de agua). En caso de contaminación puntual, es importante ubicar el tramo en estudio aguas abajo del ingreso de contaminantes.

En cada área de muestreo seleccionada, se procederá a delimitar un tramo de entre 50 y 200 metros a lo largo del cauce del arroyo y de tamaño variable de ancho según las recomendaciones de cada índice.

Materiales básicos:

Una vez seleccionados los sitios de muestreo es necesario concurrir a ellos con los siguientes elementos:

- Planilla de campo o tablet para la carga de los datos obtenidos
- Cinta métrica
- GPS para registrar el sitio
- Equipo fotográfico o celular para capturar fotos (información complementaria para completar el diagnóstico).

Materiales específicos:

Para el cálculo de algunos índices de hábitat se requiere un mayor conocimiento de la vegetación de la zona. Se recomienda entonces la utilización de información extra:

- Listado de especies vegetales (para la determinación de especies autóctonas/nativas y exóticas/invasoras). Claves de especies vegetales.

Índices de calidad de hábitat recomendados para la región pampeana

A continuación, se resumen los diferentes índices de calidad de hábitat existentes para la región pampeana (Tabla 3).

IHRPlata - Índice del Hábitat del Río de la Plata (enlace planilla IHRPlata)

Índice de la calidad del hábitat costero de la Franja Costera Sur del Río de la Plata. Adaptable a otros estuarios y grandes ríos con ajustes pertinentes referidos particularmente a los patrones de la sucesión espacial de la vegetación riparia antropizados.

Referencia: Gómez, N. & J. Cochero. 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. *Ecología Austral*, 23:18–26.

Índice	Ambiente	
IHRPlata	Hábitat costero de la Franja Costera Sur del Río de la Plata	Estuarios / Grandes ríos
ICRUM	Cuencas urbanas y periurbanas de llanura	Periurbano/agrícola. Con conocimiento de vegetación
ICRP	Cursos de agua de la región pampeana	Periurbano/agrícola. Con conocimiento de vegetación
USHI	Arroyos de llanuras en áreas urbanas	Urbano/Periurbano
ICR	Arroyos pampeanos en zonas agrícolas	Periurbano/agrícola/ganadero. Sin conocimiento de vegetación

Tabla 3: Índices de Calidad de Hábitat para la Región Pampeana.

ICRUM - Índice de Calidad de Ribera de Usos Múltiples ([enlace planilla ICRUM](#))

Índice de **calidad de riberas** que contemple las características de cuencas urbanas y periurbanas de la llanura pampeana impactadas por contaminación mixta.

Referencia: Malignani, E. 2017. *Pautas para la remediación y recuperación de áreas sujetas a contaminación mixta de cuencas urbanas y periurbanas de llanura*. Tesis doctoral Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

ICRP - Índice de Calidad de Riberas Pampeanas ([Enlace planilla ICRP](#))

Índice de **calidad de riberas** para cursos de agua de la región pampeana.

Referencia: Basílico, G. O., L. De Cabo y A. Faggi. 2015. Adaptación de índices de calidad de agua y de riberas para la evaluación ambiental en dos arroyos de la llanura pampeana. *Revista del Museo Argentino Ciencias Naturales*, 17(2):119–134.

USHI - Índice de hábitat de ambientes urbanos ([Enlace Planilla USHI](#))

Permite evaluar la **calidad del hábitat fluvial** de arroyos de llanuras en áreas urbanas.

Referencia: Cochero, J., A. Cortelezzi., A. S. Tarda, N. Gómez & A. Santiago Tarda. 2016. An index to evaluate the fluvial habitat degradation in lowland urban streams. *Ecological Indicators*, 71:134–144.

ICR - Índice de Conservación de Ribera ([enlace a planilla ICR](#))

Índice de **calidad de ribera** de los arroyos pampeanos en zonas agrícolas y ganaderas.

Referencias: Troitiño, E., M. C. Costa, L. Ferrari y A. Giorgi. 2010. La conservación de las zonas ribereñas de arroyos pampeanos. *Actas del Congreso de Hidrología de Llanuras*: 1256-1263.

Feijoó, C., P. Gantes, A. Giorgi, J. Rosso y E. Zunino. 2012. Valoración de la calidad de ribera en un arroyo pampeano y su relación con las comunidades de macrófitas y peces. *Biología acuática*, 27:113–128.

Planillas de campo y cálculo de índices

Para la aplicación de los índices de hábitat es necesario obtener información específica en cada sitio de muestreo. La información necesaria para el cálculo de los índices se encuentra en un archivo (en formato *.xlsx*) que contiene tres hojas:

1) **Hoja Presentación:** una hoja con una breve descripción de cada índice y un glosario de términos esenciales para su utilización.

2) **Hoja Planilla de campo:** una planilla de campo lista para imprimir, para ser utilizada en campo. Se recomienda usar una hoja por sitio, ya sea en formato papel o directamente en formato digital haciendo copias de la hoja.

3) **Hoja Planilla de cálculo:** una vez finalizado el muestreo, se puede usar esta hoja activada para calcular automáticamente el valor del índice y la calidad del hábitat ingresando los datos obtenidos en campo. Para ello, sólo se debe cambiar las celdas de color rojo a los valores anotados en la planilla de campo para cada sitio. Cualquier otra celda de esta hoja se encuentra bloqueada para no cometer errores, aunque puede ser desbloqueada usando la clave "REM.AQUA.2020".

Alternativamente, para cada índice se puede descargar e imprimir las hojas **Presentación** y **Planilla**

de campo desde su versión en formato *PDF*. Se recomienda imprimir la hoja con la planilla de campo tantas veces como sitios se vayan a estudiar durante el trabajo de campo.

REGIÓN PATAGONIA

Maria Laura Miserendino, Pablo Macchi, Adriana Kutschker, Cecilia Brand y Gabriela Papazian

Índice de valoración de hábitat para ríos de montaña y piedemonte

1. Objetivo

Describir una metodología para evaluar la calidad del hábitat en ríos y arroyos de alto gradiente (montaña-piedemonte) mediante la aplicación de índice de valoración del hábitat.

2. Campo de aplicación

Este índice es apropiado para evaluar disturbios sobre el hábitat dentro del cauce de arroyos y ríos de mediano orden, tanto en cordillera como en ecotono cordillera y meseta. El índice contempla también atributos de la ribera (vegetación, ancho zona buffer) que tienen incidencia sobre la estructura y características del cauce. Para calificar los ecosistemas de ribera sugerimos el QBRp que complementa la información.

Fundamentación

Una evaluación de la calidad del hábitat es fundamental para cualquier valoración de la integridad ecológica y debe realizarse en cada sitio en el momento del muestreo biológico.

La evaluación del hábitat se define como la valoración de la estructura física circundante a los ríos y arroyos que influye en la calidad del agua, y en la condición de la comunidad acuática residente. El método de evaluación de la calidad del hábitat propuesto se basa en el protocolo de Bioevaluación Rápida (Barbour *et al.*, 1999).

Procedimiento para la valoración de hábitats acuáticos ([link a apéndice](#))

1) Seleccionar el tramo de río o arroyo a evaluar. La evaluación se realiza en un tramo de 100 metros de largo (también puede ser 40 veces el ancho mojado). En general, debe hacerse en el mismo lugar en donde se realiza la valoración biológica (otros indicadores como índices bió-

uticos de invertebrados, etc.). Algunos parámetros pueden requerir de la observación de una sección más amplia de la cuenca más que del tramo en sí.

2) Completar la planilla en el sector de identificación del sitio o tramo a evaluar.

3) Para una mejor valoración es importante realizar una observación minuciosa de las características del lugar. Si además se realiza la evaluación biológica, tener cuidado de no disturbar el sustrato.

4) Trate de realizar un croquis del área estudiada. Es lo apropiado para poder identificar el sitio para futuras visitas al lugar.

5) Para completar la planilla, lo ideal es un equipo con un mínimo de dos personas.

6) Para el cálculo de la calidad del hábitat, sumar todos los puntajes obtenidos de cada parámetro y comparar siempre con un sitio de referencia.

Para tener en cuenta:

Cada persona debe ser entrenada para realizar los relevamientos visuales de cada región.

Lo ideal es adaptar el uso de estas herramientas de valoración a una región o área determinada.

Los chequeos periódicos se completan usando fotos del tramo evaluado y discutiendo entre los equipos de trabajo de la agencia involucrada, usando criterios de valoración

Observará que cuando calcule el índice existirán algunos parámetros más fácilmente identificables que otros. Aquí se presentan algunas recomendaciones y aclaraciones que le serán de ayuda a la hora de realizar la evaluación. Para cada apartado se sugiere leer lo enumerado a continuación.

Parámetro 1 (cobertura disponible de sustrato para ser colonizado por la fauna): observar la proporción del lecho ocupada por **hábitats** estables, es decir sustratos que puedan tener cierta permanencia en el lecho del río frente a variaciones de caudal (crecidas), como por ejemplo bloques, guijarros, troncos, plantas enraizadas. Un alto nivel de sedimentos son síntomas de un ambiente inestable y sometido a continuos cambios y de que el **hábitat** es poco utilizable por los organismos. Solo unas pocas especies son capaces de colonizar estos sustratos en los ríos cordilleranos.

Parámetro 2 (grado de empotramiento de las rocas): observar los sectores inmediatamente superiores a los rápidos, especialmente en el centro, sobre **las rocas más grandes**.

Parámetro 3 (régimen de velocidad y profundidad): documentar las posibles cuatro combinaciones de velocidad del agua (lento-rápido) y profundidad (profundo-superficial). Lento < 0.3 m.s-1 y profundo: > 0.5 m.

Parámetro 4 (deposición de sedimentos): además de observar cuanta arena o sedimentos finos hay en los **pozones**, registrar si se han formado **islas** o **barras**. En general, **islas** y **barras** son la fuente de donde correderas y **pozones** se van colmatando con sedimentos.

Parámetro 5 (estatus del flujo de agua del canal): recordemos que en los ríos de cordillera de Patagonia es común que la descarga disminuya naturalmente en los meses de verano llegando a un mínimo en febrero, marzo e incluso abril. Cuando calcule esta variable, tenga en cuenta las variaciones estacionales normales. Mayormente, en este parámetro, apuntamos a evidenciar acciones de manipulación del caudal de origen humano: dique, embalses, abstracción para riego, obstrucciones, etc.

Parámetro 6 (alteraciones del canal): es una medida a gran escala de los cambios en la forma del canal. En ciudades y lugares agrícolas los ríos son frecuentemente enderezados, aumentados en profundidad o desviados a canales de concreto (para control de inundaciones o riego). Tanto represas, embalses, puentes, gaviones u otras formas de estabilización artificial tienen que registrarse. Además, debe registrarse la presencia de infraestructura como, por ejemplo, un camino paralelo al curso de agua (dentro de la zona **riparia** o cerca) que puede estar indicando el uso del canal, movimiento de áridos, etc. La presencia de vados para cruzar son otra alteración que se computa en este ítem. Por ejemplo, la presencia de vías de tren paralelas y muy cerca de los cursos de agua muy frecuentes en otros países. En nuestro caso, debemos computar accesos, caminos, etc.

Parámetro 7 (estabilidad de la ribera): observar exposición de raíces y suelos, bancos desprotegidos por falta de vegetación, erosión por pisoteo de ganado, etc. Imaginar el grado de vulnerabilidad en los momentos de crecidas. Recordar realizar los cálculos en cada ribera por separado.

Parámetro 8 (protección vegetal de la ribera): tenga en cuenta las características de la vegetación

nativa del área ribereña en el área y en el tipo de arroyo. En algunas regiones, las exóticas han reemplazado la vegetación nativa e incluso colonizan áreas en donde no hay nativas que puedan competir. Este es el caso del sauce introducido. El valor que tiene una exótica en la calidad y estructura del **hábitat** de arroyo y qué funciones ecosistémicas está cumpliendo (sombreo, aporte de hojarasca, etc), deben evaluarse en cada caso. En áreas de intenso pastoreo o áreas residenciales o urbanas, siempre será mejor la existencia de una zona **riparia buffer** que si no existe.

Parámetro 9 (ancho de la zona de vegetación **riparia**): tener en cuenta que si existe una actividad que impactó la zona **riparia**, pero que ahora está en retroceso, se pueden subir las puntuaciones. Por ejemplo, senderos que ya no son más transitados versus un camino o sendero que está sujeto a su uso continuo o intensivo.

Se definen algunos conceptos que resultaran útiles a la hora de utilizar el índice.

Glosario:

Ancho mojado: es la medida (en metros) del lecho del canal que esta cubierto por agua. Se mide desde una ribera a la otra. El ancho del lecho seco es el que se presenta en los periodos de descarga máxima. El ancho seco siempre es mayor al mojado.

Arcilla: sedimento de tamaño < 0,0039 mm.

Arena: sedimento de tamaño entre 2 mm - 0,125 mm,

Barra: depósitos que se forman al comienzo de un meandro o curva y que obligan al río a dividirse en dos cursos en ese sector. Generalmente, la mayor parte del caudal se desplaza hacia el lado de afuera.

Bloque: sedimento de tamaño > 256 mm.

Cabecera: zona de nacimiento de los arroyos "ríos o arroyos de cabecera" (en nuestra región los de la parte alta de las montañas). Estos ríos son considerados de bajo orden o magnitud.

Canal: un canal natural es un curso de agua, una corriente.

Canalización: implica modificaciones producidas por el hombre tales como enderezamientos del curso de agua, desviaciones, dragados, etc.

Corredera: conectan los rápidos con los pozones. Flujo laminar suave (la superficie del agua se ve mayormente lisa), no tienen espuma.

Cuenca: es un área de paisaje drenada por un sistema de arroyos.

Desmenuzadores: en ecología de ríos, se refiere a organismos que fragmentan, desmenuzan la materia orgánica gruesa, por ejemplo, los que consumen hojarasca.

Detrito orgánico: desechos finamente granulados de origen vivo (plantas, animales). El detrito orgánico en ríos de cabecera que atraviesan bosques proviene fundamentalmente de la hojarasca que aportan los árboles.

Diversidad biológica: se refiere al número de especies que componen una comunidad biológica. Además, puede ser una medida del número de especies y su abundancia relativa en una comunidad. En general, una diversidad baja se refiere a pocas especies o abundancias desiguales y, alta diversidad, se refiere a muchas especies o iguales abundancias.

Epifauna: organismos en sus distintos estadios (invertebrados, etc) que colonizan las superficies y los espacios de los sustratos que ofrece el lecho de un río.

Erosión: remoción de la superficie de tierra (por ejemplo: terreno, suelo, ribera, etc.) por agua, hielo, viento u otros agentes.

Grava: sedimento de tamaño entre 2-16 mm.

Guijarro: sedimento de tamaño entre 16-32 Y 32-64 mm.

Guijón: sedimento de tamaño entre 64-256 mm.

Hábitat: la localidad, sitio y el tipo particular de ambiente ocupado por un organismo.

Isla: son formaciones que se originan por la actividad y dinámica del río, totalmente rodeadas de agua. Son acumulaciones de sedimentos de distintas dimensiones (arenas, gravas, guijones) y que, en ríos de montaña, muchas veces se estabilizan con la participación de troncos y ramas.

Limo: sedimento de tamaño entre 0,0039 - 0,0625 mm.

Macrófitas: plantas acuáticas que se pueden visualizar fácilmente.

Meandros: conforman las secciones curvas de los ríos, son unidades distinguibles a nivel tramo.

Perifiton: comunidades de algas microscópicas que colonizan rocas, troncos sumergidos, etc.

Pozón: áreas de flujo del agua lento, sitios profundos, a menudo en la parte externa de las curvas (meandros) de los ríos.

Rápido: áreas de flujo del agua rápido y poco profundo. El agua pasa sobre rocas bloques, guijones los que rompen la superficie del agua formando "espuma".

Raspadores: en ecología de ríos se refiere a organismos que raspan algas ancladas a rocas, cortezas y troncos sumergidos.

Ribera: Márgenes de los cursos de agua.

Ribereña, corredor o zona: un corredor ribereño es la tierra adyacente que rodea un canal natural o artificial. Esto incluye: ríos mayores y secundarios, cursillos, manantiales, arroyos intermitentes o permanentes, barrancas, riberas, líneas de desagüe, líneas de colección superficial del agua, humedales y mallines, y lagos.

Sustrato: todas las partículas orgánicas (ramas, troncos, algas, hojas, semillas, plantas acuáticas, etc.) e inorgánicas (rocas, bloques, guijarros, grava, arena, barro, etc.) que caracterizan el lecho de un río.

Ripario-riparia: vegetación, bosque o pastizal que se encuentra en los márgenes de los ríos o masas de agua.

Trófico: se refiere a la nutrición o alimentación de los seres vivos (por ejemplo: rol trófico, cadenas tróficas, redes tróficas). Los organismos son autótrofos porque producen su alimento (ej.: vegetales) y heterótrofos cuando lo consumen de otros (ej.: animales).

Zona buffer: un *buffer* protege a un sistema de cambios causado por agentes externos. En los ríos se refiere a la zona inmediata adyacente de vegetación ribereña. También se conoce como zona de amortiguación.

Calidad del bosque de ribera para ríos patagónicos QBRp (qualitat del bosc de ribera patagónico)

1. Objetivo

Describir un método simple para la evaluación de la calidad de los bosques de ribera, mediante la aplicación de un índice adaptado a ríos y arroyos andino-patagónicos.

2. Campo de aplicación

El índice QBRp (Kutschker *et al.* 2009) es una adaptación del QBR (Qualitat del Bosc de Ribera) propuesto por Munné y colaboradores (1998, 2003) para aplicar en ríos de España. Este índice constituye una herramienta rápida y sencilla que permite evaluar y monitorear aspectos biológicos y morfológicos de las riberas, integrando información de su dimensión longitudinal, lateral y vertical, con el fin de establecer la calidad ecológica del ecosistema ribereño. Es aplicable a ríos y arroyos andino-patagónicos, de distinto orden y dimensiones, ubicados en ambientes de bosque y en el ecotono bosque-estepa.

3. Descripción general del índice

Este índice se centra en aspectos fundamentales de la vegetación ribereña, los que se agrupan en cuatro apartados independientes. El primero, se relaciona con el grado de cobertura vegetal del corredor ribereño y destaca el papel de la vegetación como elemento estructural del ecosistema de ribera. El segundo apartado, analiza la complejidad de la vegetación teniendo en cuenta su estructura vertical. En el tercero, se determina la morfología de las riberas y, según el tipo morfológico definido, se establece el número óptimo de especies arbóreas y arbustivas nativas que deberían registrarse en el tramo del río analizado, y se penaliza la presencia de árboles exóticos. El último apartado, evalúa la naturalidad del canal fluvial, la cual puede verse alterada por la modificación de las terrazas adyacentes al cauce y la construcción de estructuras sólidas, entre otras.

4. Materiales

- Permisos de muestreo	Solicitar autorización a los organismos públicos/ privados o propietarios, según corresponda, para acceder a los sitios de muestreo.
- Planilla de campo, tamaño A4 impresa en ambas caras (Apéndice 1)	Para el cálculo del índice QBRp se completa una planilla para cada tramo del río seleccionado y se evalúan ambas riberas de manera conjunta.
- Mapas y GPS	Para ubicar y registrar con precisión los sitios de muestreo a campo. Importante para el monitoreo periódico de los sitios.
- Cámara de fotos y Guías de campo sobre flora regional	Si bien no es necesario ser experto botánico para aplicar el índice, se requiere un mínimo conocimiento de la flora local para reconocer si una especie es nativa o exótica. El uso de guías de campo y el registro fotográfico son útiles para el trabajo en terreno y para confirmar <i>a posteriori</i> la composición de especies.
- Material para herborizar: implementos de herbario (ej.: cartón, papel de diario) o bolsas de nylon, rótulos.	En caso de requerir mayor detalle respecto a la composición de las especies ribereñas, se puede recolectar material vegetal para su posterior identificación en gabinete.

5. Muestreo

a) Selección del sitio de muestreo

En una etapa previa de gabinete, se seleccionan los tramos del río/arroyo a evaluar, utilizando cartografía a escala 1:50000 o inferior. El sitio seleccionado en el gabinete, se puede redefinir en el campo cuando hay impedimento o dificultad de acceso al mismo.

El número de sitios a muestrear dependerá de la longitud del río objeto de estudio y del esfuerzo de muestreo necesario para responder al objetivo de trabajo planteado.

La distancia entre sitios de muestreo no debería ser superior a 10 km para una red de monitoreo y

localizarse en puntos estratégicos para la calidad del agua, como por ejemplo en tramos pre y post urbanos.

b) Selección del tramo a muestrear

En cada sitio de muestreo se selecciona un tramo a relevar representativo del río/arroyo de 100-150 m de longitud y del ancho potencial de la ribera, la cual se considera como la zona inundable en crecidas de gran magnitud. Se delimita visualmente la orilla y la ribera (ver dibujo de la planilla de campo).

Los puentes y caminos utilizados para acceder al sitio de muestreo no se tendrán en cuenta para la evaluación del índice QBRp. Si es posible, se aplicará aguas arriba o abajo de estos lugares de acceso. Otros puentes o caminos paralelos al río sí se consideran al momento de evaluar la conectividad, siempre que superen los 4 m de ancho.

En casos en que la zona de ribera esté completamente alterada por actividades humanas y no se pueda establecer con certeza el límite de la ribera, resulta de utilidad buscar referencias en la ribera opuesta o en otros tramos del río cercanos, de condiciones morfológicas semejantes (ancho y pendiente del río, pendiente de las riberas).

Algunos indicadores útiles para diferenciar los ámbitos de aplicación del índice son:

- **Límite orilla-ribera:** la acción modeladora de las crecidas ordinarias suele promover la formación de un talud que marca el límite y se convierte en el mejor indicador del final de la orilla, y el inicio de la ribera.
- **Especies presentes en el límite externo de la ribera:** la orilla está sometida frecuentemente a las crecidas de caudal, por lo tanto, las especies vegetales que viven en ella tienen que estar adaptadas a estas perturbaciones. La aparición de especies leñosas más rígidas puede ser indicativa de la interfaz orilla-ribera.
- **Cambio en las comunidades ribereñas:** transición de comunidades dominadas por especies de ribera a otras dominadas por especies propias del ecosistema forestal/natural adyacente. La presencia de parches residuales de vegetación de ribera más allá de áreas intervenidas indicará la proximidad del nivel freático a la superficie y, por lo tanto, la extensión de la zona de ribera.

- **Cambio en la morfología del terreno:** un aumento notable de la pendiente también puede ser indicativo del límite de la ribera, dado que implica un distanciamiento entre la superficie y el nivel freático.

c) Época de muestreo

Se sugiere la aplicación a campo del índice QBRp en primavera tardía o verano, al resultar más sencillo muestrear en el período de aguas bajas y por ser las estaciones del año más favorables para el muestreo de la vegetación. El estado fenológico de las plantas en la época estival facilita la identificación de las especies y contribuye a una mejor estimación de la cobertura vegetal. Para un monitoreo periódico, debe hacerse en la misma época del año.

6. Procedimientos (Link a apéndice)

La información requerida para completar los cuatro apartados del QBRp, para cada tramo del río, se registra en las planillas de campo.

a) Puntuación apartado por apartado

En cada apartado, se elige solamente una de las opciones principales (cuadrante superior) y se puntúa con los valores establecidos en la planilla. Se selecciona la opción que se ajusta a las características del tramo evaluado, siempre leyendo de arriba hacia abajo. Se sugiere marcar la opción elegida con un círculo en la planilla de campo.

La puntuación final de cada apartado se modificará según las condiciones expuestas en la parte inferior del mismo apartado, sumando o restando, de acuerdo a la opción seleccionada y teniendo en cuenta si son excluyentes o no.

b) Consideraciones para completar las planillas de campo

Descripción de cada apartado	Observaciones
Apartado 1. Grado de cobertura de la zona de ribera	
Destaca el rol de la vegetación como elemento estructurador del ecosistema de ribera. Se estima el porcentaje de cobertura de toda la vegetación (hierbas perennes, arbustos, árboles) con excepción de las plantas anuales. Se evalúa, además, la conectividad (total, superior al 50%, entre el 25 y el 50%, inferior al 25%) entre el bosque de ribera y el ecosistema forestal/natural adyacente, lo cual sumará o restará puntos.	<ul style="list-style-type: none"> - Todos los usos del suelo que impliquen la desaparición de la cobertura vegetal natural (campos agrícolas, plantaciones forestales, construcciones, rutas, caminos, actividades extractivas, etc.), dentro de la zona ribereña o en el límite entre la ribera y el ecosistema adyacente constituyen elementos que cortan la conectividad. - Los caminos sin asfalto de menos de 4 m de ancho no se consideran como elementos de aislamiento con el ecosistema adyacente.
Apartado 2. Estructura de la vegetación de ribera	
Evalúa la complejidad de la vegetación, la cual contribuye a incrementar la biodiversidad al proporcionar distintos hábitats en la zona ribereña. La puntuación se realiza según el porcentaje de cobertura de los árboles y en caso de ausencia de los arbustos en todo el tramo a estudiar. Se valora positivamente tanto la presencia de helófitos o arbustos en la ribera, así como la existencia de un sotobosque arbustivo. Se penaliza en este apartado, la presencia de linealidad en los pies de los árboles (síntoma de plantaciones), o las áreas de cobertura distribuidas no uniformemente y dispuestas en parches sin una continuidad.	<ul style="list-style-type: none"> - El porcentaje de cobertura de árboles y arbustos puede ser superior al 100%, dado que son diferentes estratos de vegetación que pueden superponerse. - Se define como <i>helófitos</i> a las plantas perennes que mantienen el contacto con zonas saturadas de agua y que suelen ocupar las áreas de transición entre el medio acuático y terrestre.
Apartado 3. Calidad de la vegetación de ribera	
Contabiliza el número de especies arbóreas y arbustivas nativas presentes en la orilla y la ribera. Se debe determinar en primera instancia la morfología que presentan las márgenes izquierda y derecha del río. Una vez obtenido el valor del tipo morfológico (1 a 3), se retorna al apartado 3 y se cuenta el número de especies arbóreas y arbustivas nativas presentes en la orilla y la ribera. La puntuación de este apartado aumenta con la presencia de bosques en galería a lo largo del río, dependiendo de su porcentaje de recubrimiento. La disposición de las diferentes especies arbóreas en franjas paralelas, así como la riqueza de arbustos nativos, también incrementan su valor. Las especies exóticas (naturalizadas o introducidas) en la zona, penalizan en este apartado, en mayor medida cuando estas especies forman comunidades, y algo menos cuando crecen de forma aislada.	<ul style="list-style-type: none"> - Para determinar la morfología de las riberas, se utilizan los esquemas que figuran en el reverso de la planilla de campo. - Se selecciona indicando con un círculo la morfología que mejor representa a cada una de las márgenes y se suman los valores correspondientes a la opción elegida. Se complementa con las restas y sumas de los ítems inferiores (si es necesario). - La presencia de islas en el río disminuyen la puntuación, en tanto la existencia de un sustrato rocoso duro, con baja potencialidad para que se pueda establecer vegetación ribereña, la incrementan. - Una vez definido el tipo morfológico (1, 2 o 3), se define el número óptimo de especies arbóreas y posteriormente de arbustivas, teniendo en cuenta el tipo morfológico y el orden lóxico.
Apartado 4. Grado de naturalidad del canal fluvial	
Evalúa el estado de conservación del canal fluvial, analizando si ha sido modificado y en qué medida. La alteración de las terrazas adyacentes al río, con o sin reducción del canal fluvial; la existencia de estructuras laterales o transversales al lecho del río, así como su canalización total, penalizan de manera creciente la naturalidad del canal fluvial, disminuyendo la puntuación del apartado.	<ul style="list-style-type: none"> - No se consideran los puentes ni los pasos habilitados para cruzar el río y acceder al sitio de muestreo, para el cálculo del QBRp.

c) Puntuación por apartado y total

La puntuación de cada apartado del índice varía entre 0-25 puntos y la suma de los cuatro apartados determina el valor final del QBRp (Qualitat del Bosc de Ribera patagónico), el cual varía entre 0 y 100. Este valor expresa el nivel de calidad del tramo en estudio.

En la puntuación del QBR contribuye positivamente todo elemento que aporte cierta calidad al ecosistema de ribera, y lo hace de manera negativa todo aquello que signifique un alejamiento de las condiciones naturales. El QBRp representa una medida de las diferencias existentes entre el estado real de las riberas y su estado óptimo, esto es, cuando las riberas no presentan alteraciones de origen antrópico.

d) Rangos de calidad*

Nivel de calidad	QBRp	Color representativo
Bosque de ribera sin alteraciones, calidad muy buena, estado natural.	≥90	Azul
Bosque ligeramente perturbado, calidad buena.	≥70-90	Verde
Inicio de alteración importante, calidad intermedia.	≥50-70	Amarillo
Alteración fuerte, mala calidad.	≥25-50	Naranja
Degradación extrema, calidad muy mala.	≤25	Rojo

* Los distintos niveles de calidad del QBRp se ilustran con imágenes en el Apéndice 2.

e) Listado de especies más frecuentes en riberas de ríos cordilleranos de Patagonia.

Nativas	Exóticas
<i>Austrocedrus chilensis</i> (ciprés de la cordillera) <i>Maytenus boaria</i> (maitén) <i>Nothofagus pumilio</i> (lenga) <i>Nothofagus dombeyi</i> (coihue) <i>Nothofagus antarctica</i> (ñire) <i>Discaria chacaye</i> (chacay de la cordillera)1 <i>Lomatia hirsuta</i> (radal)1 <i>Ochetophila trinervis</i> (chacay)1 <i>Schinus patagonicus</i> (laura)1 <i>Baccharis obovata</i> (huautro)2 <i>Berberis microphylla</i> (calafate)2 <i>Escallonia rubra</i> (siete camisas) 2 <i>Acaena magellanica</i> (cepa caballo de mallín)3 <i>Juncus</i> spp., <i>Eleocharis</i> spp., <i>Carex</i> spp. 3	<i>Salix</i> spp. (sauces) <i>Populus nigra</i> (álamo) <i>Pinus ponderosa</i> (pino ponderosa) <i>Pinus radiata</i> (pino radiata) <i>Pinus contorta</i> (pino murrayana) <i>Pseudotsuga menziesii</i> (pino oregón) <i>Crataegus monogyna</i> (espino albar) <i>Rosa rubiginosa</i> (rosa mosqueta)2 <i>Lupinus</i> spp. (chochos)3 <i>Medicago lupulina</i> (lupulina)3 <i>Plantago</i> spp. (llantén)3 <i>Ranunculus repens</i> (botón de oro)3 <i>Taraxacum officinale</i> (diente de león)3 <i>Trifolium repens</i> , <i>T. pratense</i> (trébol)3

Referencias: (1) Porte arbóreo o arbustos altos; (2) Arbustivas; (3) Helófitos.

Bibliografía

NOA

Pero, E & P. Quiroga. 2019. Riparian and adjacent forests differ both in the humid mountainous ecoregion and the semiarid lowland. *Plant Ecology*, 220: 481- 498.

Sirombra, M. G., & L. M. Mesa. 2012. A method for assessing the ecological quality of riparian forests in subtropical Andean streams: QBRy index. *Ecological indicators*, 20, 324-331.

Sirombra, M. G. & Cecotti, M. D. 2016. Especies arbóreas que caracterizan los ecosistemas ribereños de referencia en ríos de la ecorregión de Chaco semiárido de Tucumán. VII Congreso Argentino de Limnología, San Miguel de Tucumán. *Acta Zoológica Lilloana*, 60:76-77.

Centro

Corigliano, M. del C. 2008. Índices para evaluar la calidad ambiental en ríos serranos urbanos mediante indicadores. *Revista Universidad Nacional de Río Cuarto*, 28(1-2), 33-54.

Monteiro Junior C. S.,L. Juen & N. Hamada. 2014. Effects of urbanization on stream habitats and associated adult dragonfly and damselfly communities in central Brazilian Amazonia. *Landscape and Urban Planning*, 127: 28-40.

Nessimian J. L., E. M. Venticinque, J. Zuanon, P. De Marco, M. Gordo, L. Fidelis, J. D. Batista & L. Juen. 2008. Land use, habitat integrity, and aquatic insect assemblages in Central Amazonian streams. *Hydrobiologia* 614: 117-131.

Petersen J. R. 1992. The RCE: a riparian, channel, and environmental inventory for small streams in the agricultural landscape. *Freshwater biology*, 27: 295-306.

Patagonia

Kutschker, A., C. Brand & M. L. Miserendino. 2009. Evaluación de la calidad de los bosques de ribera en ríos del NO del Chubut sometidos a distintos usos de la tierra. *Ecol. Austral*, 19: 19-34.

Munné, A., C. Solá & N. Prat. 1998. QBR: Un índice rápido para la evaluación de la calidad de los ecosistemas de ribera. *Tecnología del Agua*, 175: 20-37.

Munné, A., N. Prat, C. Solá, N. Bonada & M. Rieradevall. 2003. A simple field method for assessing the ecological quality of riparian habitat in rivers and streams. QBR index. *Aquatic Conserv.: Mar. Freshw. Ecosyst.* 13: 147-164.

Interpretación de la integridad ecológica

Adonis Giorgi, Eduardo Domínguez y Nora Gómez

Los bioindicadores, junto con otros indicadores de calidad de tipo químico, de hábitat y/o de áreas de ribera, permitirán establecer el grado de integridad ecológica que mantiene el ecosistema fluvial considerado. Actualmente, el conocimiento del estado de la calidad del agua de los ríos es fragmentario y, más aún, lo es el abordaje del estado ecológico a través del empleo de indicadores de modo combinado. En algunos casos existe información sobre la hidrología, sobre la química de las aguas, sobre la respuesta de distintos tipos de bioindicadores de calidad de las aguas y también del estado de las áreas ribereñas.

Se sugiere la presentación y transmisión de la información brindada por los distintos indicadores de modo semicuantitativo presentando en forma conjunta los resultados de índices químicos de calidad del agua, índices de calidad de la zona ribereña e índices emanados de los biomonitores. Cada tipo de índice debería expresarse en no más de 5 categorías y expresarse en colores. De ese modo una escala de 1 a 5 podría considerar la calidad del ecosistema estudiado como mala, regular, buena, muy buena o excelente. Los valores más bajos de dicha escala expresarían baja calidad y, los más altos, mejor calidad. La presentación en forma conjunta de distintos índices debería realizarse de modo ordenado (por ejemplo, representando un semáforo donde el círculo inferior simbolice el resultado de un índice químico de calidad del agua; el intermedio represente el resultado del índice de calidad biótica y, el superior, el índice de calidad de ribera y/o de hábitat). Este modo de presentación resume información y nos facilitaría aproximarnos a una primera visión del grado de integridad ecológica de ese ecosistema. Una misma coloración para los tres círculos del semáforo expresará un bajo, medio o alto grado de integridad ecológica de ese ecosistema. Por otro lado, diferentes colores permitirán

detectar problemas u orientar acerca de si la integridad ecológica está afectada por el deterioro de las áreas de ribera, por una baja calidad del agua o por un conjunto de factores asociados a la destrucción de hábitats que reducen los valores de los índices biológicos. A su vez, la falta de coloración en alguno de los indicadores, expresará que este aspecto no ha sido estudiado o calculado en ese ecosistema en particular (Fig. 1).

Debe tenerse en cuenta que la integridad ecológica y su valoración surgirá de tener en cuenta el conjunto de indicadores. Para realizar una evaluación adecuada, deberá evaluarse la información de los distintos índices teniendo en cuenta que la calificación correspondiente a la integridad ecológica debería resumirse en el valor mediano. De ese modo, se indicará como valor de integridad al indicado por el color que aparezca con más frecuencia o, si no lo hubiera, al color que indique un valor intermedio entre todo lo analizado.

En la evaluación de la integridad ecológica se analizan tramos del ambiente fluvial que se eligen por su representatividad del paisaje o de la situación a analizar. Si se quiere extender esa valoración a toda una cuenca, se debería trabajar con el valor mediano de todos los registrados en la cuenca para cada uno de los indicadores. También puede ser importante separar los sectores altos (nacientes), medio y bajo de la cuenca para tener una visión más ajustada de los cambios que se habrían producido en su integridad ecológica.

Es importante encarar el estudio de los cuerpos de agua desde una perspectiva general aplicando metodologías que incluyan no solo los indicadores físico-químicos y biológicos, sino también la perspectiva de la integridad ecológica de los ecosistemas acuáticos. De otra manera, las visiones serán siempre parciales y las propuestas incompletas. Así, se

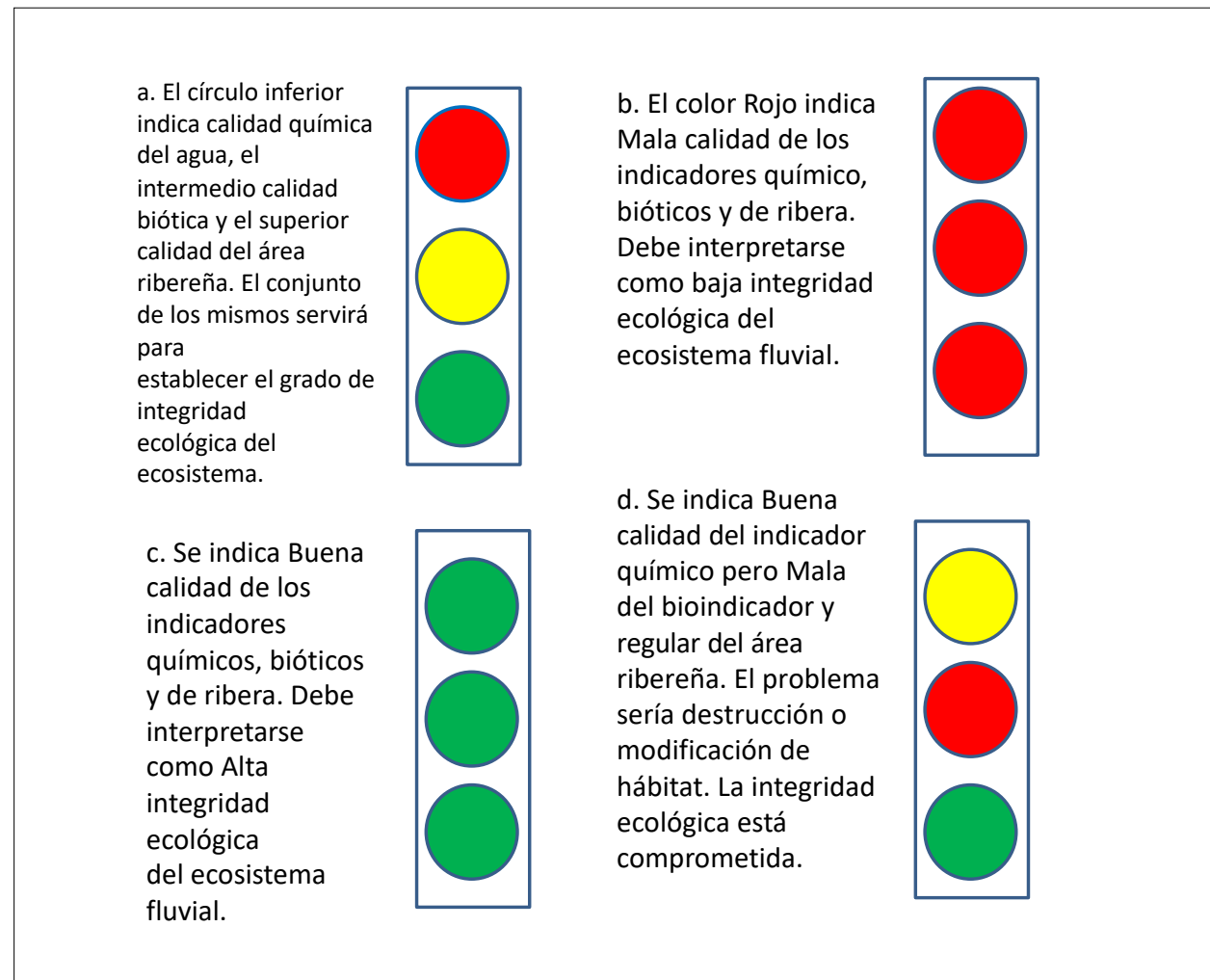


Figura 1. Semáforo del estado del ambiente fluvial.

Clave de colores sugeridas para las respuestas de los indicadores

Azul	Calidad Muy buena a Excelente
Verde	Calidad Buena
Amarillo	Calidad Regular
Rojo	Calidad Mala
Negro	Calidad Muy Mala

podrá llegar a tener un panorama mucho más completo y comparable entre regiones que deberían servir de base para políticas de Estado dirigidas a la protección de los ecosistemas acuáticos.

Como conclusión, consideramos que es importante consolidar la bioindicación como herramienta, para que puede ser utilizada para la realización de programas de biomonitoreo como ocurre, desde hace años, en otros países. La implementación

de los bioindicadores en programas de monitoreo permitirá una evaluación más completa de los ecosistemas, ya que brindará información sobre el estado del ecosistema acuático en un momento o período determinado. Así, el procedimiento de bioindicación se constituye en una herramienta complementaria al proceso de monitoreo. Si se pretende evaluar la integridad ecológica de los ecosistemas para tomar decisiones de gestión, se deberá conocer el estado y la evolución de los

ecosistemas en el tiempo. De otro modo, solo se hablará de su calidad hidrológica, química o física, pero no se sabrá realmente si los organismos pueden vivir en esos ambientes. Tampoco qué tipo de organismos viven allí y, mucho menos, cuáles son sus respuestas ante distinto tipo de estresores.

Las herramientas y conceptos presentados en este libro de técnicas son una primera aproximación para el desarrollo de programas de monitoreo. Esperamos que sea el inicio de una nueva etapa en la que, sin duda, es necesaria una estrecha colaboración entre los organismos de gestión y aplicación, y la Academia.

Anexos

Acronimo	Nombre del taxón	Nuevo Acrónimo	Nuevo aceptado actualmente del taxón (si difiere)	Calidad	Valor idp de la especie (idp j)	ejemplo Muestra 1		
						Abundancia absoluta	Abundancia relativa (Aj)	Aj * idp j
ADHA	Achnanthes delicatula (Kützing) Grunow var. hauckiana Lange-Bertalot & Ruppel	PTHA	Planothidium hauckianum (Grunow) Round & Bukhtiyarova	II	2	350	0	0
AEXG	Achnanthes exigua Grunow in Cl.& Grunow var. exigua	ADEG	Achnantheidium exiguum (Grunow) Czarnecki	I	1	24	0	0
AHUN	Achnanthes hungarica Grunow in Cleve & Grunow	LHUN	Lemnicola hungarica (Grunow) Round & Basson	II-III	2.5	35	0	0
AINF	Achnanthes inflata (Kützing) Grunow			I-II	1.25	56	0	0
ALAN	Achnanthes lanceolata (Brebisson) Grunow var. lanceolata Grunow	PTLA	Planothidium lanceolatum (Brebisson) Round & Bukhtiyarova	I-II	1.5	73	0	0
AMIN	Achnanthes minutissima Kützing var. minutissima Kützing	ADMI	Achnantheidium minutissimum (Kützing) Czarnecki	0-I	1		0	0
ANSU	Actinocyclus normanii (Gregory) Hustedt fo. subsalsus (Juhlín-Dannfeldt) Hustedt			I-III	2.5		0	0
AALA	Amphiprora alata Kützing			II-III	2.5		0	0
ACOF	Amphora coffeaeformis (Agardh) Kützing		Halamphora coffeaeformis (C. Agardh) Levkov	III-IV	3.75		0	0
ALIB	Amphora libyca Ehrenberg	ACOP	Amphora copulata (Kützing) Schoeman & Archibald	II-III	2.5		0	0
AOVA	Amphora ovalis (Kützing) Kützing			II-III	2.25		0	0
AMPE	Amphora perpusilla (Grunow) Grunow	APED	Amphora pediculus (Kützing) Grunow	I-II	1.75		0	0
AVEN	Amphora veneta Kützing		Halamphora veneta Kützing	III-IV	3.5		0	0
ASPH	Anomoeoneis sphaerophora (Ehrenberg) Pfitzer			III-IV	3.25		0	0
AAMB	Aulacoseira ambigua (Grunow) Simonsen			I-II	1.25		0	0
AUGR	Aulacoseira granulata (Ehrenberg) Simonsen			I-II	1.75		0	0
AUGA	Aulacoseira granulata (Ehrenberg) Simonsen var. angustissima (Müller) Simonsen			I-II	1.75		0	0
BPAR	Bacillaria paradoxa Gmelin	BPAX	Bacillaria paxillifera (O.F.Müller) Hendey var. Paxillifer	I-II	1.75		0	0

Acónimo	Nombre del taxón	Nuevo Acrónimo	Nuevo aceptado actualmente del taxón (si difiere)	Calidad	Valor idp de la especie (idp j)	ejemplo Muestra 1		
						Abundancia absoluta	Abundancia relativa (Aj)	Aj* idp j
CAMP	Caloneis amphibaena (Bory) Cleve			I-II	1.5		0	0
CBAC	Caloneis bacillum (Grunow) Cleve			I-II	1.5		0	0
CAOR	Caloneis oregonica (Ehrenberg) Patrick			I-II	1.25		0	0
CAVE	Caloneis ventricosa (Ehrenberg) Meister	CSIL	Caloneis silicula (Ehrenberg) Cleve	I-II	1.5		0	0
CCLY	Campylodiscus clypeus Ehrenberg			II-III	2.25		0	0
CCRU	Capartogramma crucicula (Grunow ex Cleve) Ross			I	1		0	0
CPLA	Cocconeis placentula Ehrenberg			I-III	2		0	0
CPLC	Cocconeis placentula Ehrenberg var. euglypta (Ehrenberg) Grunow			II-III	2.25		0	0
CPLI	Cocconeis placentula Ehrenberg var. lineata (Ehrenberg) Van Heurck			I-III	2		0	0
CATO	Cyclotella atomus Hustedt			III-IV	3.5		0	0
CMEN	Cyclotella meneghiniana Kützing			II-IV	2.5		0	0
GSTR	Cyclotella striata (Kützing) Grunow			II	2		0	0
CAFF	Cymbella affinis Kützing			I-II	1.75		0	0
CCIS	Cymbella cistula (Ehrenberg) Kirchner	CYNC	Cymbella neocistula Krammer	I-II	1.25		0	0
CLAN	Cymbella lanceolata (Ehrenberg) Van Heurck			I-II	1.25		0	0
CMIN	Cymbella minuta Hilse ex Rabenhorst	ENMI	Encyonema minutum (Hilse in Rabenhorst) D.G. Mann	0-I	5		0	0
CSLE	Cymbella silesiaca Bleisch in Rabenhorst	ESLE	Encyonema silesiacum (Bleisch in Rabenhorst) D.G. Mann	I-II	1.75		0	0
DELE	Denticula elegans Kützing			I-II	1.25		0	0
DKUE	Denticula kuetzingii Grunow var. kuetzingii			I-II	1.5		0	0
DVUL	Diatoma vulgare Bory			I-II	1.5		0	0
DELL	Diploneis elliptica (Kützing) Cleve			I	1		0	0
DOVA	Diploneis ovalis (Hilse ex Rabenhorst) Cleve			I-II	1.25		0	0
DPSO	Diploneis pseudovalis Hustedt			I	1		0	0
DPUE	Diploneis puella (Schumann) Cleve			I-II	1.25		0	0

Acónimo	Nombre del taxón	Nuevo Acrónimo	Nuevo aceptado actualmente del taxón (si difiere)	Calidad	Valor idp de la especie (idp j)	ejemplo Muestra 1		
						Abundancia absoluta	Abundancia relativa (Aj)	Aj* idp j
EADN	Epithemia adnata (Kützing) Brébisson			I-II	1.25		0	0
ESOR	Epithemia sorex Kützing			I-II	1.75		0	0
EDIO	Eunotia diodon Ehrenberg			I	1		0	0
EFAB	Eunotia faba (Ehrenberg) Grunow			I	1		0	0
EMON	Eunotia monodon Ehrenberg			I	1		0	0
EPEC	Eunotia pectinalis (Dyallwyn) Rabenhorst var. pectinalis			I	1		0	0
EPRA	Eunotia praerupta Ehrenberg			I	1		0	0
ERAB	Eunotia rabenhorstii Cleve & Grunow in Van Heurck			I	1		0	0
ESUD	Eunotia sudetica O. Müller			I	1		0	0
ETRD	Eunotia triodon Ehrenberg			I	1		0	0
FCAP	Fragilaria capucina Desmazières			0-I	5		0	0
FCON	Fragilaria construens (Ehrenberg) Grunow	SCON	Staurosira construens (Ehrenberg) Williams & Round	I-II	1.5		0	0
FCRO	Fragilaria crotonensis Kitton			I-III	2		0	0
FDEL	Fragilaria delicatissima (W. Smith) Lange-Bertalot			I	1		0	0
FULN	Fragilaria ulna (Nitzsch) Lange-Bertalot	UULN	Ulnaria ulna (Nitzsch) Compère	I-III	2		0	0
GANT	Gomphonema angustum Agardh			0-II	1		0	0
GCLA	Gomphonema clavatum Ehrenberg			I-II	1.25		0	0
GGRA	Gomphonema gracile Ehrenberg			I	1		0	0
GPAR	Gomphonema parvulum (Kützing) Kützing			II-IV	3.25		0	0
GPAS	Gomphonema pseudoagur Lange-Bertalot			I-II	1.25		0	0
GSCL	Gomphonema subclavatum Grunow	GCLA	Gomphonema clavatum Ehrenberg	I-II	1.25		0	0
GTRU	Gomphonema truncatum Ehrenberg			I-II	1.25		0	0
GYAC	Gyrosigma acuminatum (Kützing) Rabenhorst			II	2		0	0
GYAT	Gyrosigma attenuatum (Kützing) Cleve			II	2		0	0
HVIR	Hantzschia virgata (Roper) Grunow			I-II	1.5		0	0
HAMP	Hantzschia amphioxys (Ehrenberg) Grunow			I-III	2		0	0

Acónimo	Nombre del taxón	Nuevo Acrónimo	Nuevo aceptado actualmente del taxón (si difiere)	Calidad	Valor idp de la especie (idp j)	ejemplo Muestra 1		
						Abundancia absoluta	Abundancia relativa (Aj)	Aj* idp j
MARE	Melosira arenaria Moore ex Ralfs		Ellerbeckia arenaria (Moore ex Ralfs) Dorofeyuk & Kulikovskiy	I-II	1.25		0	0
MLIN	Melosira lineata (Dillwyn) Agardh			I	1		0	0
MROE	Melosira roeseana Rabenhorst	OROE	Orthoseira roeseana (Rabenhorst) O'Meara	I	1		0	0
MVAR	Melosira varians Agardh			I-III	2		0	0
MCIR	Meridion circulare (Greville) C.A. Agardh			0-I	2.5		0	0
NACO	Navicula accomoda Hustedt	CRAC	Craticula accomoda (Hustedt) Mann	III-IV	3.5		0	0
NATO	Navicula atomus (Kütz) Grunow	MAAT	Mayamaea atomus (Kützing) Lange-Bertalot	III	3		0	0
NCAP	Navicula capitata Ehrenberg	HCAP	Hippodonta capitata (Ehrenberg) Lange-Bertalot, Metzeltin & Witkowski	I-III	2.75		0	0
NCHU	Navicula capitata Ehrenberg var. hungarica (Grunow) Ross	HHUN	Hippodonta hungarica (Grunow) Lange-Bertalot, Metzeltin & Witkowski	I-III	2		0	0
NCPR	Navicula capitoradiata Germain			I-II	1.25		0	0
NCOF	Navicula confervacea (Kützing) Grunow	DCOF	Diadesmis confervacea Kützing	II-III	2.75		0	0
NCRY	Navicula cryptocephala Kützing			I-IV	3		0	0
NCUS	Navicula cuspidata Kützing	CRCU	Craticula cuspidata (Kützing) Mann	II-IV	3		0	0
NERI	Navicula erifuga Lange-Bertalot			I-II	1.75		0	0
NGAS	Navicula gastrum (Ehrenberg) Kützing	PGAS	Placoneis gastrum (Ehrenberg) Mereschkowsky	I-II	1.25		0	0
NGOE	Navicula goeppertiana (Bleisch) H.L. Smith	LGOE	Luticola goeppertiana (Bleisch in Rabenhorst) D.G. Mann	III-IV	3.75		0	0
NGRE	Navicula gregaria Donkin			II-III	2.75		0	0
NHAL	Navicula halophila (Grunow) Cleve	CHAL	Craticula halophila (Grunow ex Van Heurck) Mann	II	2		0	0

Acónimo	Nombre del taxón	Nuevo Acrónimo	Nuevo aceptado actualmente del taxón (si difiere)	Calidad	Valor idp de la especie (idp j)	ejemplo Muestra 1		
						Abundancia absoluta	Abundancia relativa (Aj)	Aj* idp j
NMUT	Navicula mutica Kützing	LMUT	Luticola mutica (Kützing) D.G. Mann	III	3		0	0
NNOT	Navicula notha Wallace			I-II	1.75		0	0
NPRG	Navicula peregrina (Ehr.) Kützing			I-II	1.75		0	0
NPUP	Navicula pupula Kützing	SPUP	Sellaphora pupula (Kützing) Mereschkowsky	II-IV	3		0	0
NPYG	Navicula pygmaea Kützing	FPYG	Fallacia pygmaea (Kützing) Stickle & Mann	II-III	2.75		0	0
NRAD	Navicula radiosa Kützing			I-II	1.25		0	0
NRHY	Navicula rhynchocephala Kützing			I-II	1.25		0	0
NSBM	Navicula subminuscula Manguin	ESBM	Eolimna subminuscula (Manguin) Moser Lange-Bertalot & M	III-IV	3.75		0	0
NTPT	Navicula tripunctata (O.F.Müller) Bory			I-III	2		0	0
NIRI	Neidium iridis (Ehrenberg) Cleve			I	1		0	0
NACI	Nitzschia acicularis (Kützing) Smith			III-IV	3.75		0	0
NAMP	Nitzschia amphibia Grunow			I-III	2.5		0	0
NAMH	Nitzschia amphibioides Hustedt	NSRB	Nitzschia semirobusta Lange-Bertalot	I-III	2.5		0	0
NIAN	Nitzschia angustata (W. Smith) Grunow			II-III	2.5		0	0
NBRE	Nitzschia brevissima Grunow			II	2		0	0
NCOT	Nitzschia constricta (Kützing) Ralfs	TAPI	Tryblionella apiculata Gregory	I-IV	3		0	0
NDEB	Nitzschia debilis (Arnott) Grunow	TDEB	Tryblionella debilis Arnott	II	2		0	0
NDIS	Nitzschia dissipata (Kützing) Grunow			I-II	1.25		0	0
NDRA	Nitzschia draveillensis Coste & Ricard			I-II	2		0	0
NFLE	Nitzschia flexa Schumann			I-II	1.25		0	0
NFON	Nitzschia fonticola Grunow			I	1		0	0
NIFR	Nitzschia frustulum (Kützing) Grunow			I-II	1.75		0	0
NIGR	Nitzschia gracilis Hantzsch ex Rabenhorst			I-II	1.5		0	0

Acónimo	Nombre del taxón	Nuevo Acrónimo	Nuevo aceptado actualmente del taxón (si difiere)	Calidad	Valor idp de la especie (idp j)	ejemplo Muestra 1	
						Abundancia absoluta	Abundancia relativa (Aj)
NHEU	Nitzschia heufferiana Grunow			I-II	1.25	0	0
NIHU	Nitzschia hungarica Grunow	THUN	Tryblionella hungarica (Grunow) D.G.Mann	II-III	2.75	0	0
NLEV	Nitzschia levidensis (W. Smith) Grunow	TLEV	Tryblionella levidensis W. Smith	II-III	2.5	0	0
NLIN	Nitzschia linearis (Agardh) W.M. Smith			II-III	2.5	0	0
NLIT	Nitzschia littoralis Grunow	TLIT	Tryblionella littoralis (Grunow) D.G.Mann	II-III	2.75	0	0
NMIC	Nitzschia microcephala Grunow in Cleve & Moller			III	3	0	0
NNAN	Nitzschia nana Grunow in Van Heurck			I-II	1.25	0	0
NPAL	Nitzschia palea (Kützing) W. Smith			II-IV	3.75	0	0
NPAE	Nitzschia paleacea (Grunow) Grunow in Van Heurck			II-III	2.75	0	0
NREC	Nitzschia recta Hantzsch ex Rabenhorst			I-II	1.75	0	0
NSIG	Nitzschia sigma (Kützing) W. M. Smith			II-IV	3	0	0
NSIO	Nitzschia sigmoidea (Nitzsch.) W.M. Smith			II-IV	3	0	0
NZSU	Nitzschia supralitorea Lange-Bertalot			II-III	2.75	0	0
NUMB	Nitzschia umbonata (Ehr.) Lange-Bertalot			III-IV	3.75	0	0
NVER	Nitzschia vermicularis (Kützing) Hantzsch in Rabenhorst			III	3	0	0
OMAR	Opephora martyi Héribaud		Staurosirella martyi (Héribaud) Morales and Manoylov	I-II	1.25	0	0
PACR	Pinnularia acrospheria Rabenhorst			I-II	1.25	0	0
PBRT	Pinnularia borealis Ehrenberg var. rectangularis Carlson	PDUB	Pinnularia dubitabilis Hustedt	I-II	1.25	0	0
PBRA	Pinnularia braunii (Grunow) Cleve	PBRN	Pinnularia brauniana (Grunow) Mills	I-II	1.25	0	0
PGIB	Pinnularia gibba Ehrenberg			I-III	2.75	0	0
PGLI	Pinnularia gibba Ehrenberg var. linearis Hustedt			I-II	1.5	0	0
PINT	Pinnularia interrupta W. M. Smith			I-II	1.25	0	0
PMAJ	Pinnularia maior (Kützing) Rabenhorst			I-II	1.25	0	0
PMIC	Pinnularia microstauron (Ehrenberg) Cleve			I-III	2.5	0	0

Acónimo	Nombre del taxón	Nuevo Acrónimo	Nuevo aceptado actualmente del taxón (si difiere)	Calidad	Valor idp de la especie (idp j)	ejemplo Muestra 1	
						Abundancia absoluta	Abundancia relativa (Aj)
PSCA	Pinnularia subcapitata Gregory			I-II	1.75	0	0
PVIR	Pinnularia viridis (Nitzsch) Ehrenberg			I-II	1.75	0	0
PLEV	Pleurosira laevis (Ehrenberg) Compere			I-II	1.75	0	0
RSIN	Reimeria sinuata (Gregory) Kociolek & Stoermer			0-II	0.75	0	0
RCUR	Rhoicosphenia curvata (Kütz.) Grunow ex. Rabenhorst	RABB	Rhoicosphenia abbreviata (Agardh) Lange-Bertalot	0-II	1.5	0	0
RGBL	Rhopalodia gibberula (Ehrenberg) O. Müller			I-II	1.25	0	0
RBRE	Rhopalodia brebissonii Krammer			I-II	1.25	0	0
RGIB	Rhopalodia gibba (Ehrenberg) O. Müller			I-II	1.25	0	0
RMUS	Rhopalodia musculus (Kützing) O. Müller			I-II	1.5	0	0
SPHO	Stauroneis phoenicenteron (Nitzsch) Ehrenberg			II-III	2.25	0	0
STCU	Stenopteroberia curvula (W. Smith) Krammer			I	1	0	0
STMI	Stephanodiscus minutulus (Kütz.) Cleve & Moller			II-IV	3.5	0	0
SHAN	Stephanodiscus hantzschii Grunow in Cleve & Grunow			II-IV	3.5	0	0
SANG	Surirella angusta Kützing			II-III	2.5	0	0
SBIS	Surirella biseriata Brebisson			I-II	1.25	0	0
SBRE	Surirella brebissonii Krammer & Lange-Bertalot			I-III	2	0	0
SLIN	Surirella linearis W. M. Smith			I-II	1.25	0	0
SOVI	Surirella ovalis Brebisson			II-III	2.5	0	0
SUTE	Surirella tenera Gregory			I-II	1.75	0	0
THAS	Thalassiosira hasleae Cassie & Dempsey			III	3	0	0
					TOTAL	0	0,00
						IDP	0,00

Índice del Hábitat del Río de la Plata (IHRPlata)

REFERENCIAS
Gómez, N. y J. Cocheró. 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*, 23:18–26.

OBJETIVO DEL ÍNDICE
Índice de la calidad del hábitat costero de la Franja Costera Sur del Río de la Plata, adaptable a otros estuarios y grandes ríos con los ajustes pertinentes referidas particularmente a los patrones de la sucesión espacial de la vegetación riparia antropizados

DESCRIPTORES DEL ÍNDICE

1. Vegetación ribereña
2. presencia de infraestructuras introducidas por el hombre
3. Ocurrencia de basura acumulada en la línea de costa
4. Indicadores bióticos que delatan el déficit de oxígeno

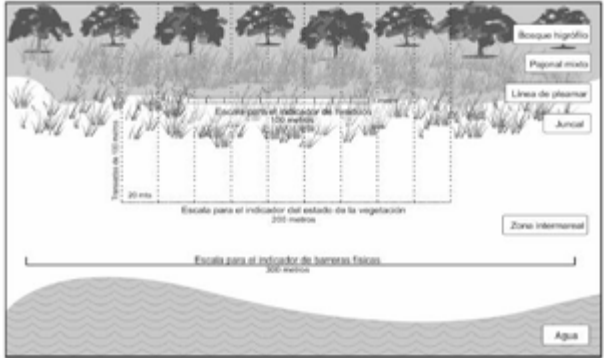
METODOLOGÍA DE CAMPO

Definir tres paralelas a la costa: una de 300m, una de 200m, y una de 100m, como indica la figura, sobre la línea de pleamar

En las parcelas de 100m x 1m: estimar cualitativamente (sí/no) la presencia de basura o residuos en cada parcela

En las transectas cada 20m en el tramo de 200m: establecer en cuántas transectas se observa la sucesión completa de la vegetación natural (juncal / pajonal mixto / bosque higrófilo)

En el tramo de 300m: establecer la presencia de barreras físicas y de organismos indicadores de déficit de oxígeno



DEFINICIONES RELEVANTES

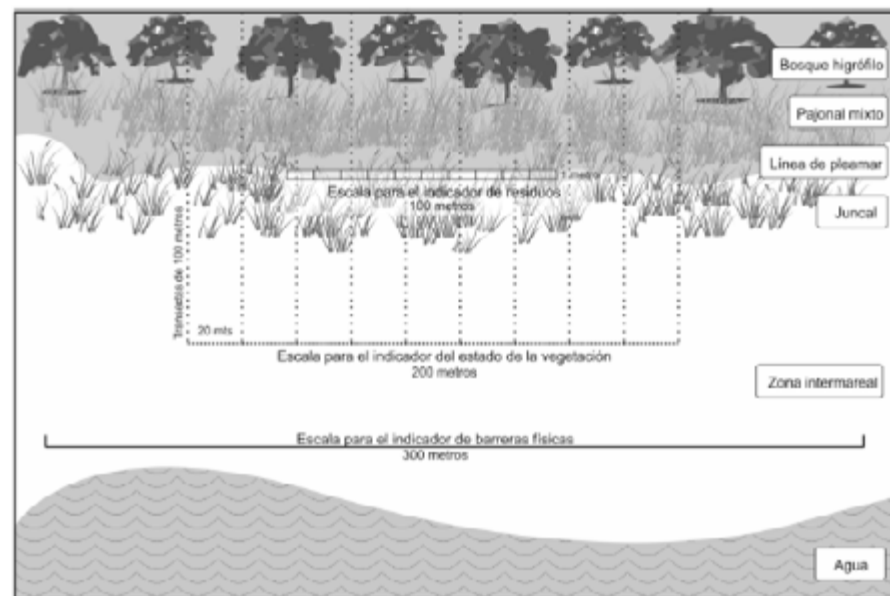
- Juncal:** Zonas de vegetación con suelo inundado dominados por juncos (*Schoenoplectus californicus* (Mey) Steud)
- Bosque higrófilo:** Vegetación compuesta principalmente por sauce criollo (*Salix humboldtiana*) y ceibo (*Erythrina crista-galli*)
- Estructuras temporarias:** artificiales, como campamentos o casillas temporales
- Murallas:** paredes construidas para delimitar el avance del agua sobre el terreno, de manera longitudinal al cuerpo de agua
- Organismos indicadores de déficit de oxígeno:** organismos acuáticos que se desarrollan bajo condiciones de bajas condiciones de oxígeno, ejemplos: bacterias filamentosas blanquecinas como *Beggiatoa* sp. (ver foto)
- Pajonal mixto:** Zonas de vegetación con suelo inundable dominados por cortaderia (*Cortaderia selloana*), *Scirpus giganteus*, y *Zizaniopsis bonariensis* entre otros
- Rellenos:** agregado de escombros / ladrillos / tierra para avanzar el terreno sobre el frente de agua



Foto 1. Bacterias filamentosas blanquecinas (género *Beggiatoa*) que indican la deficiencia de oxígeno en el agua, indicadas con el círculo rojo

		SITIO										
		FECHA/HORA										
		TRANSECTA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Residuos / Basura parcelas en 100 metros)	(10	<i>Si = 0; No = 1</i>	[] [] [] [] [] [] [] [] [] []									
Estado de la vegetación (10 transectas en 200 metros)		<i>Sucesión completa = 1; Sucesión incompleta = 0</i>	[] [] [] [] [] [] [] [] [] []									
Barreras físicas (un tramo de 300 metros)		<i>Sin modificaciones = 10 Estructuras temporarias = 7.5 Estructuras temporarias y rellenos = 5 Estructuras temporarias, rellenos y escolleras/muelles = 5 Murallas = 0</i>										
Indicadores de déficit de oxígeno (un tramo de 300 metros)		<i>Presentes = 0 Ausentes = 1</i>										

Índice del Hábitat del Río de la Plata (IHRPlata)	
REFERENCIAS	Gómez, N. y J. Cochero. 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. <i>Ecol Austral</i> , 23:18–26.
OBJETIVO DEL ÍNDICE	Índice de la calidad del hábitat costero de la Franja Costera Sur del Río de la Plata, adaptable a otros estuarios y grandes ríos con los ajustes pertinentes referidas particularmente a los patrones de la sucesión espacial de la vegetación riparia antropizados
DESCRIPTORES DEL ÍNDICE	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vegetación ribereña 2. presencia de infraestructuras introducidas por el hombre 3. Ocurrencia de basura acumulada en la línea de costa 4. Indicadores bióticos que delatan el déficit de oxígeno
METODOLOGÍA DE CAMPO	<p>Definir tres paralelas a la costa: una de 300m, una de 200m, y una de 100m, como indica la figura, sobre la línea de pleamar</p> <p>En las parcelas de 100m x 1m: estimar cualitativamente (si/no) la presencia de basura o residuos en cada parcela</p> <p>En las transectas cada 20m en el tramo de 200m: establecer en cuántas transectas se observa la sucesión completa de la vegetación natural (juncal / pajonal mixto / bosque higrófilo)</p> <p>En el tramo de 300m: establecer la presencia de barreras físicas y de organismos indicadores de déficit de oxígeno</p>



DEFINICIONES RELEVANTES

Juncal: Zonas de vegetación con suelo inundado dominados por juncos (*Schoenoplectus californicus* (Mey) Steud)

Índice del Hábitat del Río de la Plata (IHRPlata)
Bosque higrófilo: Vegetación compuesta principalmente por sauce criollo (<i>Salix humboldtiana</i>) y ceibo (<i>Erythrina crista-galli</i>)
Estructuras temporarias: artificiales, como campamentos o casillas temporales
Murallas: paredes construidas para delimitar el avance del agua sobre el terreno, de manera longitudinal al cuerpo de agua
Organismos indicadores de déficit de oxígeno: organismos acuáticos que se desarrollan bajo condiciones de bajas condiciones de oxígeno, ejemplos: bacterias filamentosas blanquecinas como <i>Beggiatoa sp.</i> (ver foto)
Pajonal mixto: Zonas de vegetación con suelo inundable dominados por cortaderia (<i>Cortaderia selloana</i>), <i>Scirpus giganteus</i> , y <i>Zizaniopsis bonariensis</i> entre otros
Rellenos: agregado de escombros / ladrillos / tierra para avanzar el terreno sobre el frente de agua



Foto 1. Bacterias filamentosas blanquecinas (género *Beggiatoa*) que indican la deficiencia de oxígeno en el agua, indicadas con el círculo rojo

Índice de Calidad de Ribera de Usos Múltiples (ICRUM)

Melignani, E. 2017. Pautas para la remediación y recuperación de áreas sujetas a contaminación mixta de cuencas urbanas y periurbanas de llanura. Tesis doctoral Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

OBJETIVO DEL ÍNDICE Evaluación de la calidad de riberas que contempla las características de cuencas urbanas y periurbanas de la llanura pampeana impactadas por contaminación mixta

DESCRIPTORES DEL ÍNDICE

Características físicas del espacio ripario

- Ancho del espacio ripario con vegetación asociada (m)
- Conectividad entre el curso del agua y el ecosistema ripario adyacente (%margen libre de obstáculos en los 100m)
- Características de las riberas (grado de erosión/impermeabilización ribera)
- Características del canal (grado de modificación: canalizado/natural)
- Continuidad del cauce (cauce continuo/interrumpido)

Estructura y cobertura de la vegetación riparia

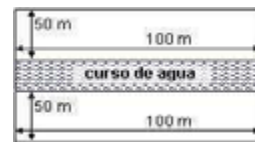
- Cobertura vegetal general (% ribera cubierta de vegetación)
- Suelo desnudo (% suelo desnudo)
- Plantas flotantes libres (ausencia/presencia)
- Plantas palustres (%rilla cubierta)
- Herbáceas nativas (%área de muestreo cubierta)
- Herbáceas exóticas (%área de muestreo cubierta)
- Plantas leñosas nativas (%área de muestreo cubierta)
- Plantas leñosas exóticas (%área de muestreo cubierta)
- Relación plantas palustres (nativas)/herbáceas nativas (cociente entre %)
- Relación herbáceas nativas/exóticas (cociente entre %)
- Relación plantas leñosas nativas/exóticas (cociente entre %)
- Relación plantas leñosas nativas/exóticas invasoras (cociente entre %)

Impactos sobre el cuerpo de agua y las riberas

- Estructuras y vías de acceso humano al curso de agua y sus riberas (presencia estructuras y construcciones)
- Basura (acúmulos de basura/ausencia)
- Descargas de efluentes (presencia/ausencia)
- Características organolépticas del agua (presencia/ausencia)
- Dragado del sedimento (presencia/ausencia maquinarias)
- Agricultura (presencia/ausencia campos)
- Ganadería (presencia/ausencia ganado)
- Uso del suelo cercano**
- Industria (presencia/ausencia actividad industrial)
- Área urbana (presencia e intensidad urbanización)
- Área recreativa (presencia/ausencia)
- Área protegida o reserva natural (ausencia/presencia)

METODOLOGÍA DE CAMPO

Definir dos áreas de 5000 m2 paralelas al curso de agua (100 m paralelos por 50 m perpendiculares), una para cada margen.



DEFINICIONES RELEVANTES

- Canal/Cauce:** concavidad del terreno, natural o artificial, por donde corre un río, un canal o cualquier corriente de agua.
- Características organolépticas del agua:** color, olor, sabor
- Conectividad:** grado de conexión y continuidad entre el canal o cauce y la ribera.
- Continuidad del cauce:** con interrupciones o no del curso de agua por estructuras humanas
- Descargas de efluentes:** sitios delimitados de ingreso de agua directo al arroyo, sin pasar por la zona de ribera. Por ejemplo: caños de desagüe industrial, canaletas, zanjas
- Dragado:** Si el cauce fue modificado por obras hidráulicas que remueven el sedimento
- Herbáceas nativas/exóticas:** hierbas o pastos. La presencia de herbáceas constituye gran parte de la identidad original de la vegetación de los ríos de llanura pampeanos. Corresponden naturalmente a ese ambiente (nativas) o fueron introducidas o plantadas (exóticas)
- Naturalidad del canal fluvial:** grado de intervención que puede surgir el cauce por intervención humana.
- Plantas flotantes libres:** plantas acuáticas o semi-acuáticas que no están unidas al sedimento del río
- Plantas leñosas nativas/exóticas:** Árboles y arbustos que corresponden naturalmente a ese ambiente (nativas) o que fueron introducidas o plantadas (exóticas)
- Plantas palustres:** plantas que pueden desarrollarse tanto en el agua como en suelos saturados o muy húmedos, cuyas hojas emergen por arriba de la superficie del agua. Ej: *Typha* (totora)
- Suelo desnudo:** suelo sin cubierta vegetal
- Uso del suelo:** actividades que se realizan en la zona adyacente al arroyo. Por ejemplo: urbana, industrial, agrícola, ganadero, recreativo, natural.
- Zona de ribera o riparia:** área al borde del cauce adonde se desarrolla vegetación semiacuática o terrestre

#	DESCRIPCIÓN	MÁRGEN		IZQUIERDA				DERECHA				
		VALOR	VALOR	1	2	3	4	1	2	3	4	
1	Ancho del espacio ripario con vegetación asociada (m)	Río/Arroyo	Estuario	0-0.5m 0-2.5m	0.6-1m 26-50m	1.1-2m 51-100m	1.1-2m 51-100m	0-0.5m 0-2.5m	0.6-1m 26-50m	1.1-2m 51-100m	1.1-2m 51-100m	>2m >100m
2	Conectividad e/ curso de agua y ecosistema ripario			0-25%	26-50%	51-75%	51-75%	0-25%	26-50%	51-75%	51-75%	76-100%
3	Características de las riberas			Impermeable /ocupada	Socavada /Erosionada	Montículos/ rellenada / empinada	Montículos/ rellenada / empinada	Impermeable /ocupada	Socavada /Erosionada	Montículos/ rellenada / empinada	Montículos/ rellenada / empinada	Apariencia natural
4	Características del canal			Impermeabilizado / Canalizado / Rectificado	Impermeabilizado / Canalizado / Rectificado	Impermeabilizado / Canalizado / Rectificado	Impermeabilizado / Canalizado / Rectificado	Impermeabilizado / Canalizado / Rectificado	Impermeabilizado / Canalizado / Rectificado	Impermeabilizado / Canalizado / Rectificado	Impermeabilizado / Canalizado / Rectificado	Apariencia natural
5	Continuidad del cauce			Interrumpido	Interrumpido	Interrumpido	Interrumpido	Interrumpido	Interrumpido	Interrumpido	Interrumpido	Continuo
6	Cobertura vegetal general			0-25%	26-50%	51-75%	51-75%	0-25%	26-50%	51-75%	51-75%	76-100%
7	Suelo desnudo			76-100%	51-75%	26-50%	26-50%	76-100%	51-75%	26-50%	26-50%	0-25%
8	Plantas flotantes libres			Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Presencia
9	Plantas palustres			0-25%	26-50%	51-75%	51-75%	0-25%	26-50%	51-75%	51-75%	76-100%
10	Herbáceas nativas	Pastizal Bosque		0-25%	26-50%	51-75%	51-75%	0-25%	26-50%	51-75%	51-75%	76-100%
11	Herbáceas exóticas			76-100%	51-75%	26-50%	26-50%	76-100%	51-75%	26-50%	26-50%	0-25%
12	Plantas leñosas nativas	Pastizal Bosque		76-100%	51-75%	26-50%	26-50%	76-100%	51-75%	26-50%	26-50%	0-25%
13	Plantas leñosas exóticas			76-100%	51-75%	26-50%	26-50%	76-100%	51-75%	26-50%	26-50%	0-25%
14	Relación plantas palustres (nativas)/Herbáceas nativas			<=1	1.1-2	>2	>2	<=1	1.1-2	>2	>2	>3
15	Relación herbáceas nativas/exóticas			<1	1	1.1-3	1.1-3	<1	1	1.1-3	1.1-3	>3
16	Relación plantas leñosas nativas/exóticas	Pastizal Bosque		<=1	1.1-2	>2	>2	<=1	1.1-2	>2	>2	0-25%
17	Relación plantas leñosas nativas/exóticas invasoras			<1	1.1-2	>2	>2	<=1	1.1-2	>2	>2	>3
18	Estructuras y vías de acceso humano al curso de agua y sus riberas			Puentes / muelles / raminos	Caminos permeables	Ninguno aparente	Ninguno aparente	Puentes / muelles / raminos	Caminos permeables	Ninguno aparente	Ninguno aparente	Ausencia
19	Basura			Abundante	Esparcida /escasa	Ausente	Ausente	Abundante	Esparcida /escasa	Ausente	Ausente	Ausencia
20	Descargas de efluentes			Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Ausencia
21	Características organolépticas del agua			Olor / materia fecal / espuma	Olor / materia fecal / espuma	Olor / materia fecal / espuma	Olor / materia fecal / espuma	Olor / materia fecal / espuma	Olor / materia fecal / espuma	Olor / materia fecal / espuma	Olor / materia fecal / espuma	Apariencia natural
22	Dragado del sedimento			Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Ausencia
23	Agricultura			Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Ausencia
24	Ganadería			Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Ausencia
25	Industria			Procesos / extractiva	Depósitos	Ausencia	Ausencia	Procesos / extractiva	Depósitos	Ausencia	Ausencia	Ausencia
26	Área urbana			Asentamiento precario / urbano denso	Suburbano / Periurbano	Periurbano laxo / Asociado a rural	Periurbano laxo / Asociado a rural	Asentamiento precario / urbano denso	Suburbano / Periurbano	Periurbano laxo / Asociado a rural	Periurbano laxo / Asociado a rural	Periurbano laxo / Asociado a rural
27	Área recreativa			Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Ausencia
28	Área protegida o reserva natural			Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Presencia
29	Paisaje de referencia			Pastizal	Bosque de ribera	Bosque de ribera	Bosque de ribera	Pastizal	Bosque de ribera	Bosque de ribera	Bosque de ribera	Presencia

Índice de Calidad de Ribera de Usos Múltiples (ICRUM)

Melignani, E. 2017. *Pautas para la remediación y recuperación de áreas sujetas a contaminación mixta de cuencas urbanas y periurbanas de llanura. Tesis doctoral Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.*

OBJETIVO DEL ÍNDICE

Evaluación de la calidad de riberas que contempla las características de cuencas urbanas y periurbanas de la llanura pampeana impactadas por contaminación mixta

DESCRIPTORES DEL ÍNDICE

Características físicas del espacio ripario

1. Ancho del espacio ripario con vegetación asociada (m)
 2. Conectividad entre el curso del agua y el ecosistema ripario adyacente (%margen libre de obstáculos en los 100m)
 3. Características de las riberas (grado de erosión/impermeabilización ribera)
 4. Características del canal (grado de modificación: canalizado/natural)
 5. Continuidad del cauce (cauce continuo/interrumpido)
- Estructura y cobertura de la vegetación riparia
6. Cobertura vegetal general (% ribera cubierta de vegetación)
 7. Suelo desnudo (% suelo desnudo)
 8. Plantas flotantes libres (ausencia/presencia)
 9. Plantas palustres (%orilla cubierta)
 10. Herbáceas nativas (%área de muestreo cubierta)
 11. Herbáceas exóticas (%área de muestreo cubierta)
 12. Plantas leñosas nativas (%área de muestreo cubierta)
 13. Plantas leñosas exóticas (%área de muestreo cubierta)
 14. Relación plantas palustres (nativas)/herbáceas nativas (cociente entre %)
 15. Relación herbáceas nativas/exóticas (cociente entre %)
 16. Relación plantas leñosas nativas/exóticas (cociente entre %)
 17. Relación plantas leñosas nativas/exóticas invasoras (cociente entre %)

Impactos sobre el cuerpo de agua y las riberas

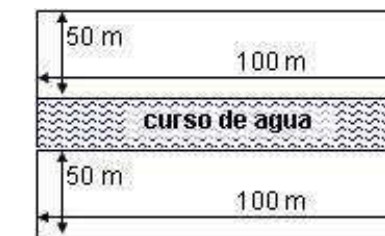
18. Estructuras y vías de acceso humano al curso de agua y sus riberas (presencia estructuras y construcciones)
 19. Basura (acúmulos de basura/ausencia)
 20. Descargas de efluentes (presencia/ausencia)
 21. Características organolépticas del agua (presencia/ausencia)
 22. Dragado del sedimento (presencia/ausencia maquinarias)
 23. Agricultura (presencia/ausencia campos)
 24. Ganadería (presencia/ausencia ganado)
- Uso del suelo cercano
25. Industria (presencia/ausencia actividad industrial)
 26. Área urbana (presencia e intensidad urbanización)

Índice de Calidad de Ribera de Usos Múltiples (ICRUM)

27. Área recreativa (presencia/ausencia)
28. Área protegida o reserva natural (ausencia/presencia)

METODOLOGÍA DE CAMPO

Definir dos áreas de 5000 m² paralelas al curso de agua (100 m paralelos por 50 m perpendiculares), una para cada margen.
Para cada margen, completar los descriptores en la planilla de campo, seleccionando 1, 2, 3 o 4.



DEFINICIONES RELEVANTES

Canal/Cauce: concavidad del terreno, natural o artificial, por donde corre un río, un canal o cualquier corriente de agua.

Características organolépticas del agua: color, olor, sabor

Conectividad: grado de conexión y continuidad entre el canal o cauce y la ribera.

Continuidad del cauce: con interrupciones o no del curso de agua por estructuras humanas

Descargas de efluentes: sitios delimitados de ingreso de agua directo al arroyo, sin pasar por la zona de ribera. Por ejemplo: caños de desagüe industrial, canaletas, zanjas

Dragado: Si el cauce fue modificado por obras hidráulicas que remueven el sedimento

Herbáceas nativas/exóticas: hierbas o pastos. La presencia de herbáceas constituye gran parte de la identidad original de la vegetación de los ríos de llanura pampeanos. Corresponden naturalmente a ese ambiente (nativas) o fueron introducidas o plantadas (exóticas)

Naturalidad del canal fluvial: grado de intervención que puede surgir el cauce por intervención humana.

Plantas flotantes libres: plantas acuáticas o semi-acuáticas que no están unidas al sedimento del río

Plantas leñosas nativas/exóticas: Árboles y arbustos que corresponden naturalmente a ese ambiente (nativas) o que fueron introducidas o plantadas (exóticas)

Plantas palustres: plantas que pueden desarrollarse tanto en el agua como en suelos saturados o muy húmedos, cuyas hojas emergen por arriba de la superficie del agua. Ej: *Typha* (totora)

Suelo desnudo: suelo sin cubierta vegetal

Uso del suelo: actividades que se realizan en la zona adyacente al arroyo. Por ejemplo: urbana, industrial, agrícola, ganadero, recreativo, natural.

Zona de ribera o riparia: área al borde del cauce adonde se desarrolla vegetación semiacuática o terrestre

Índice de Calidad de Riberas Pampeanas (ICRP)

Basílico, G. O. 2014. Evaluación del impacto de ingresos puntuales de contaminantes en arroyos de llanura y pautas para su remediación (Tesis Doctoral. Universidad Nacional de General Sarmiento).

OBJETIVO DEL ÍNDICE Evaluación de la calidad de riberas para cursos de agua de la región pampeana

DESCRIPTORES DEL ÍNDICE

PARTE A

1. Grado de cubierta de la zona de ribera -y conectividad- (%cobertura vegetal)
2. Estructura de la cubierta vegetal (% hierbas palustres)
3. Calidad de la cubierta vegetal (relación nativas/exóticas)
4. Grado de naturalidad del canal fluvial (naturalidad/modificación del cauce)

PARTE B

5. Tipo de suelo y topografía
6. Uso del suelo adyacente a la ribera
7. Aportes laterales

METODOLOGÍA DE CAMPO

Seleccionar un tramo de 100 m de longitud cuyo punto medio coincida aproximadamente con los puntos de muestreo de calidad de aguas superficiales.

DEFINICIONES RELEVANTES

Canal/Cauce: concavidad del terreno, natural o artificial, por donde corre un río, un canal o cualquier corriente de **Aportes laterales:** sitios delimitados de ingreso de agua directo al arroyo, sin pasar por la zona de ribera. Por ejemplo: caños de desagüe industrial, canaletas, zanjas

Conectividad: grado de conexión y continuidad entre el canal o cauce y la ribera.

Naturalidad del canal fluvial: grado de intervención que puede surgir el cauce por intervención humana.

Plantas nativas/exóticas: Corresponden naturalmente a ese ambiente (nativas) o fueron introducidas o plantadas **Plantas palustres:** plantas que pueden desarrollarse tanto en el agua como en suelos saturados o muy húmedos, cuyas hojas emergen por arriba de la superficie del agua. Ej: *Typha* (totora)

Suelo permeable/impermeable: Si absorben bien el agua. Ejemplo: los suelos con altos contenidos de arcilla (tosca) son impermeables

Uso del suelo: actividades que se realizan en la zona adyacente al arroyo. Por ejemplo: urbana, industrial, agrícola, ganadero, recreativo, natural.

Zona de ribera o riparia: área al borde del cauce adonde se desarrolla vegetación semiacuática o terrestre

		SITIO			
		FECHA/HORA	MÁRGEN	I	D
Parámetro	#	Descripción			
PARTE A. RIBERA	Grado de cubierta de la zona de ribera	1.a	> 80 % de cubierta vegetal de la zona de ribera		
		1.b	50-80 % de cubierta vegetal		
		1.c	10-50 % de cubierta vegetal		
		1.d	< 10 % de cubierta vegetal		
		1.e	La conectividad entre el ecosistema ribereño y adyacente es total		
		1.f	La conectividad entre el ecosistema ribereño y adyacente es superior al 50 %		
		1.g	La conectividad entre el ecosistema ribereño y adyacente es entre 25-50 %		
		1.h	La conectividad entre el ecosistema ribereño y adyacente es inferior al 25 %		
	Estructura de la cubierta	2.a	Cobertura de hierbas palustres (hp) superior al 90 % de la superficie		
		2.b	Cobertura de hp entre 75-90 % de la superficie		
		2.c	Cobertura de hp entre 50-75 % de la superficie		
		2.d	Cobertura de hp: 25-50% de la sup. y en el resto los arbustos superan el 25 %		
		2.e	Cobertura de hp: < 50 % y el resto de la cubierta con arbustos entre 10-25 %		
		2.f	Sin hp por debajo del 10 %		
	Calidad de la cubierta	3.a	Sólo existen especies vegetales autóctonas		
		3.b	Predominan especies autóctonas pero hay individuos de especies no arbóreas exóticas		
		3.c	Sin especies autóctonas		
		3.d	Hay árboles nativos		
3.e		Comunidad en franja longitudinal continua adyacente al canal fluvial en 50-75 % de la longitud del tramo			
3.f		Comunidad en franja longitudinal continua adyacente al canal fluvial en > 75 % de la longitud del tramo			
3.g		Hay de 0-50 % de la superficie cubierta por árboles exóticos			
3.h		Hay de 50-100 % de la superficie cubierta por árboles exóticos			
Grado de naturalidad del canal fluvial	4.a	El canal del río no está modificado			
	4.b	Modificaciones de las terrazas adyacentes sin reducción del canal			
	4.c	Modificaciones de las terrazas adyacentes al lecho del río con reducción del canal			
	4.d	Signos de alteración y estructuras que modifican el canal			
	4.e	Estructuras transversales			
	4.f	Río canalizado en la totalidad del tramo			
PARTE B. TERRENO ADYACENTE A LA RIBERA	Tipo de suelo y topografía	5.a	Suelos permeables y baja pendiente		
		5.b	Suelos permeables y pendientes moderadas		
		5.c	Suelos impermeables y baja pendiente		
		5.d	Suelos impermeables y pendientes moderadas		
		5.e	Zonas de almacenamiento transitorio de agua		
		5.f	Relieve plano		
Uso del suelo adyacente a la ribera	6.a	Área protegida municipal, provincial o nacional			
	6.b	Lotes baldíos sin ganadería o ganadería extensiva			
	6.c	Cultivos o ganadería intensiva			
	6.d	Urbanización			
	6.e	Industrial			
	6.f	Si hay 50 % o más de superficie destinada a espacios verdes públicos			
Aportes laterales	7.a	Ausencia de afluentes o canales			
	7.b	Canales de drenaje local o afluentes intermitentes			
	7.c	Canales pluviales			
	7.d	Canales combinados (pluviales+cloacales)			
	7.e	Canales cloacales o industriales			
	7.f	Descarga directa			

Índice de Calidad de Riberas Pampeanas (ICRP)

Basílico, G. O. 2014. *Evaluación del impacto de ingresos puntuales de contaminantes en arroyos de llanura y pautas para su remediación (Tesis Doctoral. Universidad Nacional de General Sarmiento).*

OBJETIVO DEL ÍNDICE Evaluación de la calidad de riberas para cursos de agua de la región pampeana

DESCRIPTORES DEL ÍNDICE

PARTE A

1. Grado de cubierta de la zona de ribera -y conectividad- (%cobertura vegetal)
2. Estructura de la cubierta vegetal (% hierbas palustres)
3. Calidad de la cubierta vegetal (relación nativas/exóticas)
4. Grado de naturalidad del canal fluvial (naturalidad/modificación del cauce)

PARTE B

5. Tipo de suelo y topografía
6. Uso del suelo adyacente a la ribera
7. Aportes laterales

METODOLOGÍA DE CAMPO

Seleccionar un tramo de 100 m de longitud cuyo punto medio coincida aproximadamente con los puntos de muestreo de calidad de aguas superficiales.

DEFINICIONES RELEVANTES

Canal/Cauce: concavidad del terreno, natural o artificial, por donde corre un río, un canal o cualquier corriente de agua.

Aportes laterales: sitios delimitados de ingreso de agua directo al arroyo, sin pasar por la zona de ribera. Por ejemplo: caños de desagüe industrial, canaletas, zanjas

Conectividad: grado de conexión y continuidad entre el canal o cauce y la ribera.

Naturalidad del canal fluvial: grado de intervención que puede surgir el cauce por intervención humana.

Plantas nativas/exóticas: Corresponden naturalmente a ese ambiente (nativas) o fueron introducidas o plantadas (exóticas)

Plantas palustres: plantas que pueden desarrollarse tanto en el agua como en suelos saturados o muy húmedos, cuyas hojas emergen por arriba de la superficie del agua. Ej: Typha (totora)

Suelo permeable/impermeable: Si absorben bien el agua. Ejemplo: los suelos con altos contenidos de arcilla (tosca) son impermeables

Uso del suelo: actividades que se realizan en la zona adyacente al arroyo. Por ejemplo: urbana, industrial, agrícola, ganadero, recreativo, natural.

Zona de ribera o riparia: área al borde del cauce adonde se desarrolla vegetación semiacuática o terrestre

Urban Stream Habitat Index (USHI)

Cochero, J., Cortelezzi, A., Tarda, A.S., Gómez, N., Santiago Tarda, A. & N. Gómez. 2016. An index to evaluate the fluvial habitat degradation in lowland urban streams. *Ecol Indic*, 71:134–144 . doi: 10.1016/j.ecolind.2016.06.058

OBJETIVO DEL ÍNDICE

Permite evaluar la calidad del hábitat fluvial de arroyos de llanuras en áreas urbanas

DESCRIPTORES DEL ÍNDICE

En el cauce:

1. Cobertura de la vegetación acuática
2. Macrófitas flotantes
3. Macrófitas flotantes arraigadas
4. Macrófitas emergentes

En los bancos:

5. Vegetación en bancos
6. Elementos artificiales en los bancos (ladrillos, cemento, etc.)
7. Ángulo de los bancos

En la ribera:

8. Árboles y arbustos exóticos
9. Basura o residuos >3cm
10. Estructuras permanentes artificiales

En todo el tramo

1. Alteraciones del cauce (dragados, canalizados)

METODOLOGÍA DE CAMPO

Delimitar con cinta métrica un tramo representativo del arroyo de 100 metros de longitud, y 30 metros de ancho a cada margen.

Dividir el tramo de 100 metros en 10 parcelas (10mts c/u), tanto en el cauce como en los bancos y en la ribera.

Recorrer cada parcela marcando en la planilla de datos con 1 o 0 lo observado para cada parámetro del cauce (descriptores 1-4), de los bancos (5-7) y de la ribera (8-10) para cada parcela.

Los descriptores de los bancos y de la ribera se deben cuantificar separadamente para cada margen.

Una vez recorridas las parcelas, evaluar el descriptor 11 una sola vez para todo el tramo.

DEFINICIONES RELEVANTES

Canal/Cauce: concavidad del terreno, natural o artificial, por donde corre un río, un canal o cualquier corriente de agua.

Bancos: borde o límite del arroyo o río en caudal normal que puede tener distinta inclinación.

Canalizado: obra hidráulica que involucra la cementación o pavimentación del lecho del río parcial o totalmente

Dragado: obras hidráulicas que remueven el sedimento y modifican o canalizan el curso natural del río

Estructuras permanentes artificiales: por ejemplo viviendas, puentes, murallas, asfalto

Macrófitas emergentes: plantas acuáticas o semi-acuáticas enraizadas al sedimento y con la mayoría del tallo fuera del agua

Macrófitas flotantes arraigadas: plantas acuáticas o semi-acuáticas cuyas hojas asoman de la superficie pero están enraizadas al sedimento

Macrófitas flotantes: especies que no están arraigadas al sustrato y que flotan sobre la superficie del agua. Ejemplos: *Lemna*

Zona de ribera o riparia: área al borde del cauce adonde se desarrolla vegetación semiacuática o terrestre

		SITIO									
		FECHA/HORA									
		PARCELA									
		MARGEN									
ACRÓNIMO	DESCRIPCIÓN	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		D	I	D	I	D	I	D	I	D	I
BANCOS	BVG	Vegetación en bancos Si = 1 No = 0									
	BSE	Elementos artificiales en banco Si = 0 No = 1									
	BSA	Ángulo del banco <45º = 1 >45º = 0									
ZONA RIPARIA	EXT	Árboles o arbustos exóticos Si = 0 No = 1									
	LIT	Basura Si = 0 No = 1									
	PER	Estructuras artificiales o calles Si = 0 No = 1									
	AVC	Cobertura de la vegetación acuática 1-50% = 1 Ausente o > 50% = 0									
CURSO DE AGUA	FUM	Macrófitas flotantes arraigadas Si = 1 No = 0									
	FAM	Macrófitas flotantes Si = 1 No = 0									
	EMM	Macrófitas emergentes Si = 1 No = 0									
TRAMO	GAC	Dragado / Canalizado Canalizado = 0.8; Dragado = 1.5; Natural = 2									

Urban Stream Habitat Index (USHI)

Cochero, J., Cortelezzi, A., Tarda, A.S., Gómez, N., Santiago Tarda, A. & N. Gómez. 2016. An index to evaluate the fluvial habitat degradation in lowland urban streams. Ecol Indic, 71:134–144 . doi: 10.1016/j.ecolind.2016.06.058

OBJETIVO DEL ÍNDICE **Permite evaluar la calidad del hábitat fluvial de arroyos de llanuras en áreas urbanas**

DESCRIPTORES DEL ÍNDICE

En el cauce:

1. Cobertura de la vegetación acuática
2. Macrófitas flotantes
3. Macrófitas flotantes arraigadas
4. Macrófitas emergentes

En los bancos:

5. Vegetación en bancos
6. Elementos artificiales en los bancos (ladrillos, cemento, etc.)
7. Ángulo de los bancos

En la ribera:

8. Árboles y arbustos exóticos
9. Basura o residuos >3cm
10. Estructuras permanentes artificiales

En todo el tramo

1. Alteraciones del cauce (dragados, canalizados)

METODOLOGÍA DE CAMPO

Delimitar con cinta métrica un tramo representativo del arroyo de 100 metros de longitud, y 30 metros de ancho a cada margen.

Dividir el tramo de 100 metros en 10 parcelas (10mts c/u), tanto en el cauce como en los bancos y en la ribera.

Recorrer cada parcela marcando en la planilla de datos con 1 o 0 lo observado para cada parámetro del cauce (descriptores 1-4), de los bancos (5-7) y de la ribera (8-10) para cada parcela.

Los descriptores de los bancos y de la ribera se deben cuantificar separadamente para cada margen.

Una vez recorridas las parcelas, evaluar el descriptor 11 una sola vez para todo el tramo.

DEFINICIONES RELEVANTES

Canal/Cauce: concavidad del terreno, natural o artificial, por donde corre un río, un canal o cualquier corriente de agua.

Bancos: borde o límite del arroyo o río en caudal normal que puede tener distinta inclinación.

Canalizado: obra hidráulica que involucra la cementación o pavimentación del lecho del río parcial o totalmente

Dragado: obras hidráulicas que remueven el sedimento y modifican o canalizan el curso natural del río

Estructuras permanentes artificiales: por ejemplo viviendas, puentes, murallas, asfalto

Urban Stream Habitat Index (USHI)

Macrófitas emergentes: plantas acuáticas o semi-acuáticas enraizadas al sedimento y con la mayoría del tallo fuera del agua

Macrófitas flotantes arraigadas: plantas acuáticas o semi-acuáticas cuyas hojas asoman de la superficie pero están enraizadas al sedimento

Macrófitas flotantes: especies que no están arraigadas al sustrato y que flotan sobre la superficie del agua. Ejemplos: Lemna

Zona de ribera o riparia: área al borde del cauce adonde se desarrolla vegetación semiacuática o terrestre

ICR (Índice de Conservación Ribereña)

Troitiño, E., M. C. Costa, L. Ferrari y A. Giorgi. 2010. La conservación de las zonas ribereñas de arroyos pampeanos. *Actas del Congreso de Hidrología de Llanuras: 1256-1263.*

OBJETIVO DEL ÍNDICE

Evaluar la calidad de ribera de los arroyos pampeanos en zonas agrícolas

DESCRIPTORES DEL ÍNDICE

- 1. Uso de lotes adyacentes:** Comparación entre el uso observado con previsto para el tipo de suelos
- 2. Uso de margen:** Uso habitual de la ribera (pastoreo, recreación, abrevaderos, etc.)
- 3. Cobertura vegetal:** Suelo desnudo hasta vegetación natural
- 4. Ingresos:** Sitios delimitados por donde el agua penetra al arroyo directamente sin pasar por zona de ribera
- 5. Forma del cauce:** Perfil del arroyo, forma de las márgenes y la planicie aluvial
- 6. Ancho:** El ancho ideal de las zonas de amortiguación ribereñas
- 7. Límites:** Presencia de límites definidos que prohíban el ingreso al arroyo (ej: alambrados)

METODOLOGÍA DE CAMPO

Delimitar con cinta métrica un tramo representativo del arroyo de 100 a 200 metros de longitud.

En cada margen del arroyo, evaluar los 7 descriptores del índice con un valor del 1 al 10 para cada uno, eligiendo una de las opciones en la planilla de campo

DEFINICIONES RELEVANTES

Uso del suelo: actividades que se realizan en la zona adyacente al arroyo. Por ejemplo: urbana, industrial, agrícola, ganadero, recreativo, natural.

Ingresos: sitios delimitados de ingreso de agua directo al arroyo, sin pasar por la zona de ribera. Por ejemplo: caños de desagüe industrial, canaletas, zanjas

Canal/Cauce: concavidad del terreno, natural o artificial, por donde corre un río, un canal o cualquier corriente de agua.

Zona de ribera o riparia: área al borde del cauce adonde se desarrolla vegetación semiacuática o terrestre

Parámetro	#	Descripción	SITIO		
			FECHA/HORA		
			MÁRGEN	I	D
Uso de lotes adyacentes	1.a	Conservado. Área protegida			
	1.b	Ganadería extensiva con baja carga animal			
	1.c	Ganadería extensiva con alta carga animal			
	1.d	Ganadería intensiva/engorde, pasturas plurianuales			
	1.e	Ganadero agrícola			
	1.f	Agrícola ganadero			
	1.g	Agricultura conservacionista/cobertura permanente			
	1.h	Agricultura tradicional			
	1.i	Agricultura intensiva (horticultura, fruticultura)			
	1.j	Feed lot, pastoreo en pasturas muy degradadas			
Uso de márgenes	2.a	Conservación de biodiversidad/Área protegida			
	2.b	Conservación con uso recreativo ocasional			
	2.c	Uso y manejo controlados			
	2.d	Uso ocasional (recreativo)			
	2.e	Pastoreo controlado ocasional			
	2.f	Pastoreo ocasional no controlado			
	2.g	Pastoreo frecuente y aguada			
	2.h	Aguada controlada			
	2.i	Aguada degradada			
	2.j	Aguada permanente			
Estado de cobertura lotes adyacentes y márgenes	3.a	Zona de reserva, área protegida (vegetación nativa). Cobertura 100%			
	3.b	Vegetación nativa + adventicia, altura > 2m. 2 estratos			
	3.c	1,5m < Altura vegetación < 2m, colchón vegetal			
	3.d	1m < Altura vegetación < 1,5m, colchón vegetal			
	3.e	0,5m < Altura vegetación < 1m, algún sendero. Cobertura 100%			
	3.f	0,3m < Altura vegetación < 0,5m, senderos varios 1 estrato			
	3.g	0,15m < Altura vegetación < 0,3m, escaso pisoteo. Media densidad			
	3.h	0,15m < Altura vegetación < 0,3m, cobertura >75%, cobertura <100%			
	3.i	0,05m < Altura vegetación < 0,15m, 75% < cob < 50%, 1 estrato			
	3.j	Altura < 0,05m, cobertura < 50% Baja densidad			
Ingresos	4.a	100% del lecho del arroyo libre de sedimentos			
	4.b	90% del lecho del arroyo libre de sedimentos			
	4.c	80% del lecho libre de sedimentos			
	4.d	70% del lecho del arroyo libre de sedimentos			
	4.e	60% del lecho del arroyo libre de sedimentos			
	4.f	50% del lecho del arroyo libre de sedimentos			
	4.g	40% del lecho del arroyo libre de sedimentos			
	4.h	30% del lecho del arroyo libre de sedimentos			
	4.i	20% del lecho del arroyo libre de sedimentos			
	4.j	10% o menos del lecho del arroyo libre de sedimentos			
Forma del cauce	5.a	Márgenes verticales sin terrazas			
	5.b	Márgenes verticales, pendiente muy suave			
	5.c	Márgenes verticales, pendiente suave			
	5.d	Márgenes verticales, pendiente apreciable			
	5.e	Márgenes verticales, terrazas aluviales conservadas			
	5.f	Márgenes segmentados en pocos sitios			
	5.g	Márgenes segmentados en muchos sitios			
	5.h	Márgenes profundamente segmentados			
	5.i	Márgenes aplanados, cauce poco profundo			
	5.j	Aplanado, cenagoso, pisoteado, sin límites definidos			

Ancho del área ribereña	6.a	100% o más de ancho suelo ribereño		
	6.b	90% de ancho suelo ribereño		
	6.c	80% de ancho suelo ribereño		
	6.d	70% de ancho suelo ribereño		
	6.e	60% de ancho suelo ribereño		
	6.f	50% de ancho suelo ribereño		
	6.g	40% de ancho suelo ribereño		
	6.h	30% de ancho suelo ribereño		
	6.i	20% de ancho suelo ribereño		
	6.j	10% o menos de ancho suelo ribereño		
Límites de márgenes	7.a	Área protegida, alambrada, señalizada y controlada		
	7.b	Alambrado continuo sin accesos/Agricultura con setos vivos		
	7.c	Alambrado continuo con accesos controlados		
	7.d	Alambrado continuo con accesos limitados		
	7.e	Límites netos, acceso difícil o poco probable, sin tránsito ribereño		
	7.f	Límites netos, acceso ocasional a las márgenes y al arroyo		
	7.g	Límites netos con accesos amplios, discontinuidad de márgenes		
	7.h	Límites algo difusos, con acceso y tránsito frecuente		
	7.i	Límites difusos, con accesos y tránsito permanente		
	7.j	Límites muy difusos, tránsito permanente, pasos y abrevaderos notables		

ICR (Índice de Conservación Ribereña)

Troitiño, E., M. C. Costa, L. Ferrari y A. Giorgi. 2010. La conservación de las zonas ribereñas de arroyos pampeanos. *Actas del Congreso de Hidrología de Llanuras*: 1256-1263.

OBJETIVO DEL ÍNDICE **Evaluar la calidad de ribera de los arroyos pampeanos en zonas agrícolas**

DESCRIPTORES DEL ÍNDICE

- 1. Uso de lotes adyacentes:** Comparación entre el uso observado con previsto para el tipo de suelos
- 2. Uso de margen:** Uso habitual de la ribera (pastoreo, recreación, abrevaderos, etc.)
- 3. Cobertura vegetal:** Suelo desnudo hasta vegetación natural
- 4. Ingresos:** Sitios delimitados por donde el agua penetra al arroyo directamente sin pasar por zona de ribera
- 5. Forma del cauce:** Perfil del arroyo, forma de las márgenes y la planicie aluvial
- 6. Ancho:** El ancho ideal de las zonas de amortiguación ribereñas
- 7. Límites:** Presencia de límites definidos que prohíban el ingreso al arroyo (ej: alambrados)

METODOLOGÍA DE CAMPO

Delimitar con cinta métrica un tramo representativo del arroyo de 100 a 200 metros de longitud.

En cada margen del arroyo, evaluar los 7 descriptores del índice con un valor del 1 al 10 para cada uno, eligiendo una de las opciones en la planilla de campo

DEFINICIONES RELEVANTES

Uso del suelo: actividades que se realizan en la zona adyacente al arroyo. Por ejemplo: urbana, industrial, agrícola, ganadero, recreativo, natural.

Ingresos: sitios delimitados de ingreso de agua directo al arroyo, sin pasar por la zona de ribera. Por ejemplo: caños de desagüe industrial, canaletas, zanjas

Canal/Cauce: concavidad del terreno, natural o artificial, por donde corre un río, un canal o cualquier corriente de agua.

Zona de ribera o riparia: área al borde del cauce adonde se desarrolla vegetación semiacuática o terrestre

ECOREGION PATAGÓNICA

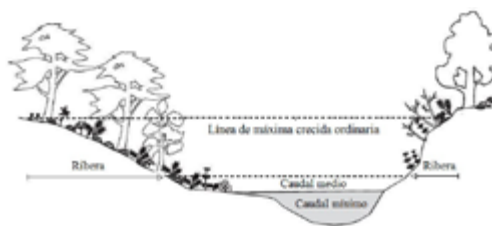
Kutschker Adriana Mabel, Brand Cecilia y Papazian Gabriela

Apéndice 1

Calificación de la zona de ribera de los ecosistemas fuviales

Índice QBRp (modificado de Munné et al. 1998, 2003).

Estación: Fecha:



Grado de cobertura de la zona de ribera. Puntuación entre 0 y 25

Puntuación	
20	> 80 % de cubierta vegetal de la zona de ribera (las plantas anuales no se contabilizan)
15	50-80 % de cubierta vegetal de la zona de ribera
10	10-50 % de cubierta vegetal de la zona de ribera
5	< 10 % de cubierta vegetal de la zona de ribera
+5	si la conectividad entre el bosque de ribera y el ecosistema forestal/natural adyacente es total
+2	si la conectividad entre el bosque de ribera y el ecosistema forestal/natural adyacente es superior al 50%
-2	si la conectividad entre el bosque de ribera y el ecosistema forestal/natural adyacente es entre 25 y 50%
-5	si la conectividad entre el bosque de ribera y el ecosistema forestal/natural adyacente es inferior al 25%

Estructura de la vegetación de ribera (se contabiliza toda la zona de ribera). Puntuación entre 0 y 25

Puntuación	
18	cobertura de árboles superior al 75 %
15	cobertura de árboles entre el 50 y 75 % o cobertura de árboles entre el 25 y 50 % y en el resto de la cubierta los arbustos superan el 25 %
10	cobertura de árboles inferior al 50 % y el resto de la cubierta con arbustos entre 10 y 25 %
5	sin árboles y arbustos por debajo del 10 %
+5	si en la orilla la concentración de helófitos o arbustos es superior al 50 %
+2	si en la orilla la concentración de helófitos o arbustos es entre 25 y 50 %
+2	si los árboles tienen un sotobosque arbustivo
-2	si hay una distribución regular (linealidad) en los pies de los árboles y el sotobosque es > 50 %
-2	si los árboles y arbustos se distribuyen en manchas, sin una continuidad
-5	si hay una distribución regular (linealidad) en los pies de los árboles y el sotobosque es < 50 %

Calidad de la vegetación de ribera (depende del tipo morfológico de la ribera y el orden lótico*). Puntuación entre 0 y 25

Puntuación							
15	número óptimo de especies arbóreas autóctonas						
10	número de especies de árboles autóctonos inferior al óptimo						
5	sin especies de árboles autóctonos						
+5	si la comunidad forma una franja longitudinal continua adyacente al canal fluvial en más del 75% de la longitud del tramo						
+2.5	si la comunidad forma una franja longitudinal continua adyacente al canal fluvial entre el 50 y 75% de la longitud del tramo						
+5	Si el número diferente de especies de arbustos es						
	<table border="1" style="display: inline-table;"> <tr> <th>Tipo 1</th> <th>Tipo 2</th> <th>Tipo 3</th> </tr> <tr> <td>+2</td> <td>+3</td> <td>+4</td> </tr> </table>	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	+2	+3	+4
Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3					
+2	+3	+4					
-2.5	si hay alguna sp. de árbol y/o arbusto alóctono aislada						
-5	si hay sp. de árboles y/o arbustos alóctonos formando comunidades						

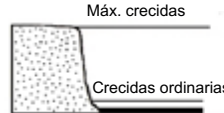
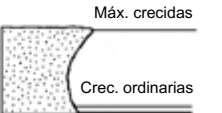
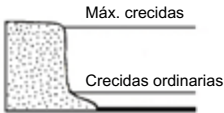
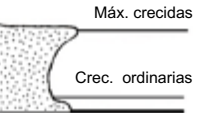
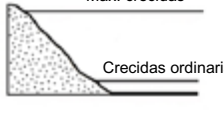
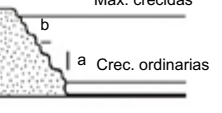
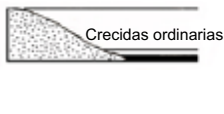
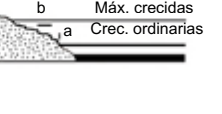

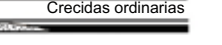

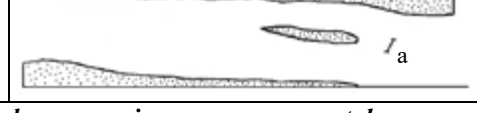
Grado de naturalidad del canal fluvial. Puntuación entre 0 y 25

Puntuación	
25	el canal del río no ha estado modificado
20	modificaciones de las terrazas adyacentes sin reducción del canal
15	modificaciones de las terrazas adyacentes al lecho del río con reducción del canal
10	signos de alteración y estructuras que modifican el canal
5	estructuras transversales
0	río canalizado en la totalidad del tramo

Puntuación final (suma de las puntuaciones de cada apartado)	
---	--

*** Determinación del tipo morfológico de la zona de ribera (apartado 3)**

Sumar el tipo de desnivel de la orilla derecha e izquierda, y sumar o restar según los otros dos ítems (existencia de islas y porcentaje de sustrato duro).

Tipos de desnivel de la zona riparia	Puntuación			
	Izquierda	Derecha		
Vertical/cóncavo (pendiente > 75°), con una altura no superable por las máximas avenidas			6	6
Igual pero con un pequeño talud o orilla inundable periódicamente (avenidas ordinarias)			5	5
Pendiente entre el 45 y 75 °, escalado o no. La pendiente se cuenta con el ángulo entre la horizontal y la recta entre la orilla y el último punto de la ribera. $\Sigma a > \Sigma b$			3	3
Pendiente entre el 20 y 45 °, escalonado o no. $\Sigma a < \Sigma b$			2	2
Pendiente < 20 °, ribera uniforme y llana.			1	1
Existencia de una isla o islas en el medio del lecho del río				
Anchura conjunta "a" > 5 m			- 2	
Anchura conjunta "a" entre 1 y 5 m			- 1	
Porcentaje de sustrato duro con incapacidad para enraizar una masa vegetal permanente				
> 80 %			No se puede medir	
60 - 80 %			+ 6	
30 - 60 %			+ 4	
20 - 30 %			+ 2	
> 5 - 20 %			+ 1	
Puntuación total				

Tipo morfológico según la puntuación

> 8	Tipo 1	Riberas cerradas
5 y 8	Tipo 2	Riberas con una potencialidad intermedia para soportar una zona vegetada
< 5	Tipo 3	Riberas extensas

Número óptimo de especies arbóreas según tipo morfológico y orden lótico

Tipo morfológico	Orden lótico		
	Bajo	Medio	Alto
1	1 - 2	2	> 2
2	1 - 2	3	> 3
3	1 - 2	> 3	≥ 4

Apéndice 2

Imágenes que ilustran los diferentes niveles de calidad de los bosques de ribera según el índice QBRp.



Referencias

A: Calidad Muy buena, estado natural





B: Calidad buena, bosque ligeramente perturbado





C: Calidad intermedia, inicio de alteración importante,

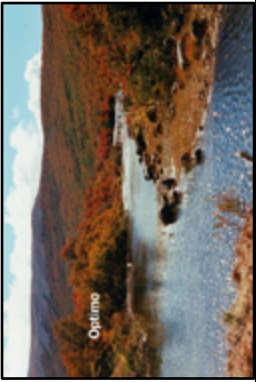
D: Calidad mala, alteración fuerte


E: Calidad muy mala, degradación extrema





APENDICE PARA CALCULO DE VALORACIÓN DE HÁBITAT





PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 1	RANKING																				
	OPTIMO					SUBOPTIMO					MARGINAL					POBRE					
Cobertura disponible de sustrato para ser colonizado por la fauna.	Mayor que el 70 % de sustrato favorable para la colonización epifaunal y peces, mezcla de ramas, troncos sumergidos, bancos socavados, rocas u otros hábitats estables que permitan una completa colonización. (troncos, ramas que NO son nuevos y NO están derivando)					40-70 % mezcla de hábitats estables; bien útiles para una colonización potencial, hábitat adecuado para el mantenimiento de poblaciones, presencia de sustrato adicionales en forma de troncos o ramas nuevas que aún no están preparados para la colonización (pueden ranquearse con valores bajos)					20-40 % de mezcla de hábitats estables, la disponibilidad de hábitats menor a la deseable, frecuentemente el sustratos disturbado o removido.					Menos del 20 % de hábitats estables, pérdida de hábitat obvia, sustrato inestable o perdido.					
																					
PUNTAJE	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0





PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 2	RANKING																				
	OPTIMO					SUBOPTIMO					MARGINAL					POBRE					
Grado de enterramiento de las rocas del lecho	Las partículas de bloques, guijones y gravas están entre un 0-25 % rodeadas de sedimentos finos. La capa de guijones provee diversidad de espacios.					Las partículas de bloques, guijones y gravas están entre un 25-50 % rodeadas de sedimentos finos					Las partículas de bloque, guijones y gravas están entre un 50-75 % rodeadas de sedimentos finos					Las partículas de bloque, guijones y gravas están más de un 75 % rodeadas de sedimentos finos					
																					
PUNTAJE	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0


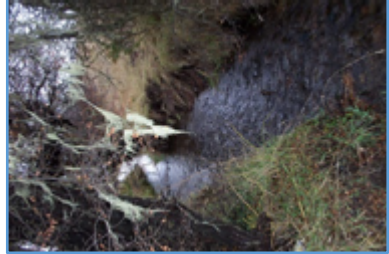


PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 3 Régimen de velocidad /profundidad	RANKING																				
	OPTIMO	SUBOPTIMO				MARGINAL				POBRE											
Las cuatro combinaciones de velocidad / profundidad presentes (lento-profundo, lento-superficial, rápido- profundo, rápido-superficial) Lento<0.3 m/s Profundo es >0.5 m		Solo tres de los cuatro regímenes presentes (si rápido-superficial se perdió poner menor puntaje)				Solo dos de los cuatro regímenes presentes (si rápido-superficial o lento-superficial se perdieron poner menor puntaje)				Dominado por un solo tipo de velocidad/profundidad (usualmente es lento-profundo)											
	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
PUNTAJE																					


PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 4 Deposición de sedimentos	RANKING																				
	OPTIMO	SUBOPTIMO				MARGINAL				POBRE											
Poco o sin agrandamiento de islas o bancos de sedimento y menos del 5 % del fondo afectado por la deposición de sedimentos.		Algunos nuevos incrementos en la formación de bancos, mayormente de grava, arena o sedimentos finos. 5-30 % (20-40 % para gradientes bajos) del fondo afectado, ligera deposición en pozones.				Moderada deposición de grava nueva, arena, o sedimentos finos tanto en bancos viejos o nuevos ; 30-50 % (50-80 % para gradientes bajos) del fondo afectado, depósitos de sedimentos en obstrucciones, y curvas, moderada deposición en pozones.				Fuerte depósito de material fino, mayor desarrollo de bancos/ barras, mas del 50 % (80 % en gradientes bajos) de fondo cambiando frecuentemente; pozones casi ausentes por la sustancial deposición de sedimentos.											
	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
PUNTAJE																					


PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 5 Estatus del flujo del agua en el cauce	RANKING																				
	OPTIMO					SUBOPTIMO					MARGINAL					POBRE					
PUNTAJE	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
	El agua alcanza la base de ambas riberas, y hay una mínima cantidad de sustrato en el cauce expuesto (no mojada). 					El agua llena >75 % del cauce disponible, o menos del 25 % del sustrato del cauce está expuesto. 					El agua llena 25-75 % del cauce disponible y el sustrato en las áreas de rápidos está mayormente expuesto. 					Muy poco agua en el canal y mayormente presente en pozones estancados. 					

PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 6 Alteraciones del canal	RANKING																				
	OPTIMO					SUBOPTIMO					MARGINAL					POBRE					
PUNTAJE	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
	Canalizaciones o dragados ausentes o mínimos, arroyo con un patrón normal. 					Alguna canalización presente, usualmente en áreas de estribaciones de puentes, evidencia de canalización pasada, es decir: dragado (mayor a 20 años) puede estar presente, pero no hay canalizaciones recientes. 					La canalización puede ser extensa, terraplenes de las estructuras de orilla presentes sobre ambos bancos, y 40 hasta 80 % del tramo del río canalizado y roto. 					Bancos de la orilla con gaviones o cemento, mas del 80 % del tramo de arroyo canalizado. Hábitat de adentro de la corriente muy alterado o enteramente removido. 					

PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 7 Frecuencia de rápidos o curvas (meandros)	RANKING																				
	OPTIMO					SUBOPTIMO					MARGINAL	POBRE									
Rápidos relativamente frecuentes, la distancia entre rápidos dividida por el ancho de la corriente <7:1 (generalmente 5 a 7), variedad de hábitat es la clave. En arroyos donde los rápidos son continuos, la colocación de bloques y otras obstrucciones naturales es importante.	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
	Rápidos relativamente frecuentes, la distancia entre rápidos dividida por el ancho de la corriente <7:1 (generalmente 5 a 7), variedad de hábitat es la clave. En arroyos donde los rápidos son continuos, la colocación de bloques y otras obstrucciones naturales es importante.					Ocurrencia de rápidos infrecuente, distancia entre rápidos dividida por el ancho de la corriente entre 7 y 15.					Rápidos y curvas ocasionales, forma del fondo provee algo de hábitat, distancia entre rápidos dividida por el ancho del río entre 15 y 25.					Generalmente la corriente "chata" o rápidos superficiales, pobreza de hábitats, distancia entre rápidos dividida por el ancho del río es >25.					
																					

PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 8 Estabilidad de la ribera (calificar cada ribera)	RANKING																				
	OPTIMO					SUBOPTIMO					MARGINAL	POBRE									
Estabilidad de la ribera (calificar cada ribera)	10	10	9	9	8	8	7	7	6	6	5	5	4	4	3	3	2	2	1	1	0
	Riberas estables, evidencia de erosión o fallas en la ribera ausentes o mínimas. Poco potencial para futuros problemas. < 5 % de la ribera afectada.					Moderadamente infrecuente, áreas erosionadas pequeñas mayormente retroceso. 5-30 % de la ribera tiene áreas erosionadas.					Moderadamente inestable, 30-60 % del banco en el tramo tiene áreas erosionadas, erosión potencial alta durante crecidas.					Inestable, varias áreas erosionadas, áreas desnudas frecuente a lo largo de secciones rectas y en meandros, se observa desprendimiento de ribera. 60-100 % de la ribera con cicatrices de erosión.					
																					
	PUNTAJE IZQ					PUNTAJE DER					PUNTAJE IZQ					PUNTAJE DER					

PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 9 Protección vegetal (calificar cada ribera)	RANKING									
	OPTIMO	SUBOPTIMO			MARGINAL			POBRE		
Mas del 90 % de las superficies de la ribera y de la zona ribereña inmediata cubierta de vegetación nativa, incluyendo árboles, arbustos, macrófitas, herbáceas, alteraciones por pastoreo o movimiento de animales mínimo o no evidente. Casi todas las plantas pudiendo crecer naturalmente.		70-90 % de las superficies de la ribera y de la zona ribereña inmediata cubierta de vegetación nativa, una de las clases de plantas no esta bien representada, disrupciones evidentes pero no afectando el potencial crecimiento de las plantas al menos en gran extensión, herbáceas con mas de la mitad de su altura potencial remanente.			50-70 % de las superficies de la ribera cubiertas con vegetación, disrupciones obvias, vegetación en parches en parcelas de suelo, herbáceas con menos de la mitad de su altura potencial remanente.			Menos del 50 % de las superficies de la ribera cubiertas con vegetación, alterada, la vegetación ha sido removida hasta 5 cm o menos en promedio de altura.		
PUNTAJE IZQ	10	9	8	7	6	5	4	3	2	0
PUNTAJE DER	10	9	8	7	6	5	4	3	2	0

PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 10 Ancho de la zona de vegetación ribereña	RANKING									
	OPTIMO	SUBOPTIMO			MARGINAL			POBRE		
Ancho de la zona ribereña > 18 metros, actividades humanas (zonas de estacionamiento, rutas de grava, talado, céspedes, sembradíos) no han impactado esta zona		Ancho de la zona ribereña 12-18 metros, actividades humanas han impactado la zona mínimamente			Ancho de la zona ribereña 6-12 metros, con impacto sobre la zona por actividades humanas			Ancho de la zona ribereña 6 m, queda poco o nada de la zona ribereña.		
PUNTAJE IZQ	10	9	8	7	6	5	4	3	2	0
PUNTAJE DER	10	9	8	7	6	5	4	3	2	0

Bibliografía

1. Barbour M.T., Gerritsen J., Snyder B.D., & Stribling J. B. 1999. Rapid Bioassessment Protocols for use in streams and wadeable rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish, second edition. EPA. U.S. Environmental Protection Agency, Washington. D.C.
2. Miserendino, M. L., R. Casaux, M. Archangelsky, C. Y. Di Prinzio, C. Brand, and A. M. Kutschker. 2011. Assessing land-use effects on water quality, in-stream habitat, riparian ecosystems and biodiversity in Patagonian northwest streams. Science of the Total Environment 409:612–624.
3. Ward J. V. 1984. Ecological perspectives in the management of aquatic insect habitat. in: The ecology of aquatic insects. Rosemberg and Resh eds. p. 558-577.

