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, Epthemiaceae, Surirellaceae*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag. 596 pp.

Krammer K. & H. Lange-Bertalo. 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: Achnanthaceae, 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 Nº13. 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., Nº13. 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). *Boletin de la Sociedad Argentina de Botanica*, 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 andecological 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 (C_2H_5OH) 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 centrífuga 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 facilitarlo). 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 degradación de la Chl*a*. Si el valor supera 1,7, repetir toda la lectura agregando un volumen de ácido menor.

7) La concentración de Chl*a* corregida por feofitina se calcula utilizando los datos de absorbancia según la siguiente ecuación (expresada en µg l^{-1})

Chl*a* (µg l^{-1}) = F * $[(A_{665} - A_{750}) - (Aa_{665} - Aa_{750})]$ * (Vs/Vm) 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 descripta en este protocolo preservados en nitrógeno líquido o congelados y con silicagel.

Medición de pigmentos por fluorometría

El método de fluorometría es más sensible que el método por espectrofotometría previamente descripto, 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

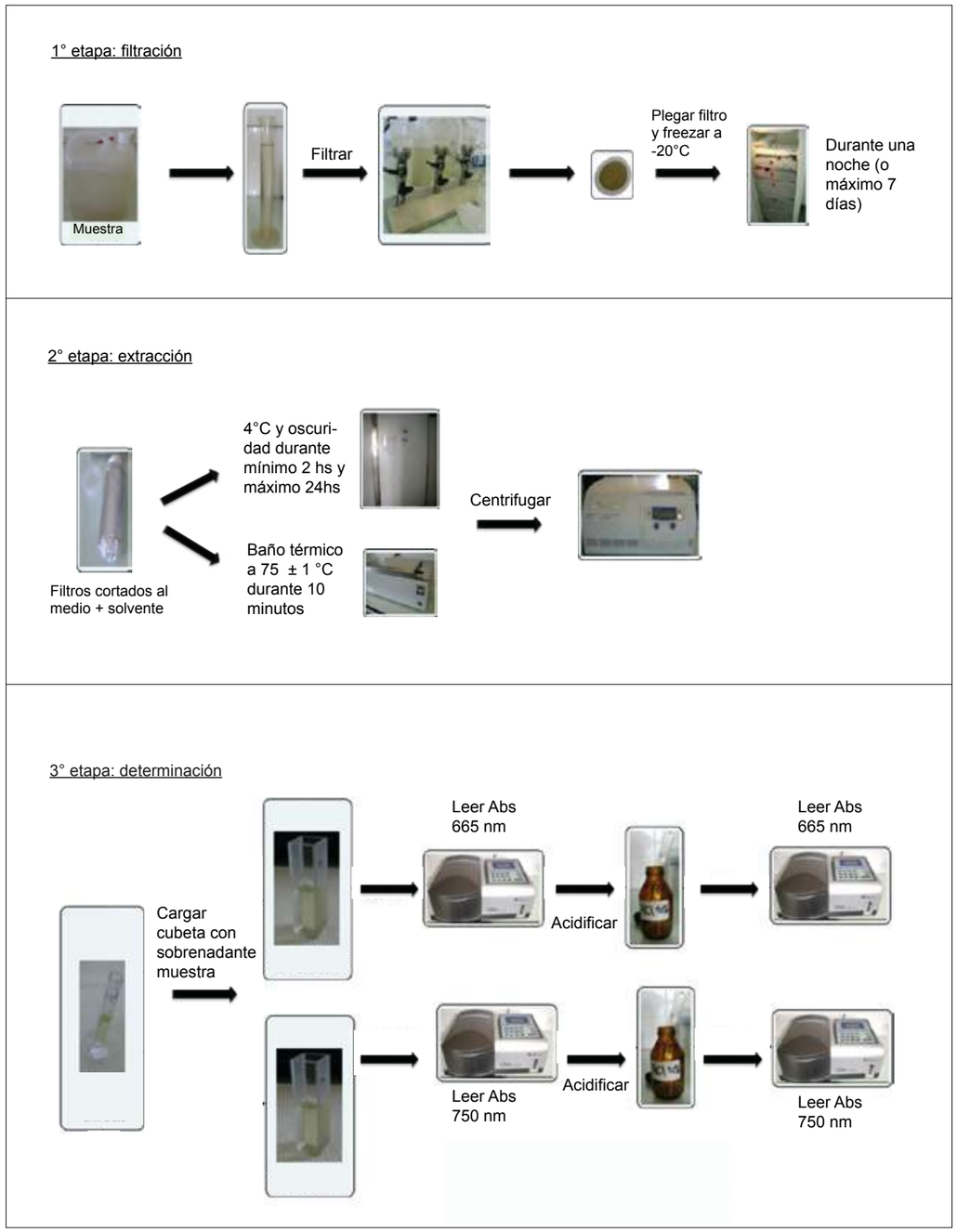


Figura 1: Procedimiento de a) la filtración de muestras, b) la extracción de la clorofila-*a* y c) la determinación espectrofotométrica de la clorofila-*a*. (Adaptado de González, 2015).

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 andwastewater*. 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 PHI-LAC, N° 16.

U.S EPA. 1997. *Method 446.0. In Vitro determination of Clorophylls 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 item 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, asimilándolas a formas geométricas sencillas (Hillebrand *et al.* 1999, Sun y Dongyan 2003, y se expresa en µm3. 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.)**
Coelosphaerium kuetzingianum *	*Aphanizomenon platense*
Microcystis aeruginosa *	*Aphanizomenon schindleri*
Microcystis flos-aquae *	*Cuspidothrix issatschenkoi* *
Microcystis natans	*Cylindrospermopsis raciborskii* *
Microcystis novacekii *	*Dolichospermum affine* *
Microcystis wesenbergii *	*Dolichospermum* cf. *bituri* *
Snowella lacustris *	*Dolichospermum circinale**
Order Oscillatoriales *Arthrospira maxima*	*Dolichospermum flos-aquae* *
Arthrospira platensis *	*Dolichospermum helicoideum*
Planktothrix agardhii *	*Dolichospermum lemmermannii* *
Order Nostocales	*Dolichospermum planctonicum* *
Anabaenopsis circularis	*Dolichospermum pseudocompactum*
Anabaenopsis cunningtonii	*Dolichospermum spiroides* *
Anabaenopsis elenkinii	*Dolichospermum viguieri* *
Anabaenopsis milleri *	*Nodularia spumigena* *
Anabaenopsis nadsonii	*Raphidiopsis curvata* *
Anabaenopsis tanganykae	*Raphidiopsis mediterranea* *
Aphanizomenon aff. *flos-aquae* *	*Sphaerospermopsis aphanizonemoides* *
Aphanizomenon favaloroi	*Sphaerospermopsis torques-reginae* *
Aphanizomenon gracile *	

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 μm^3/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 laOMS.

(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.

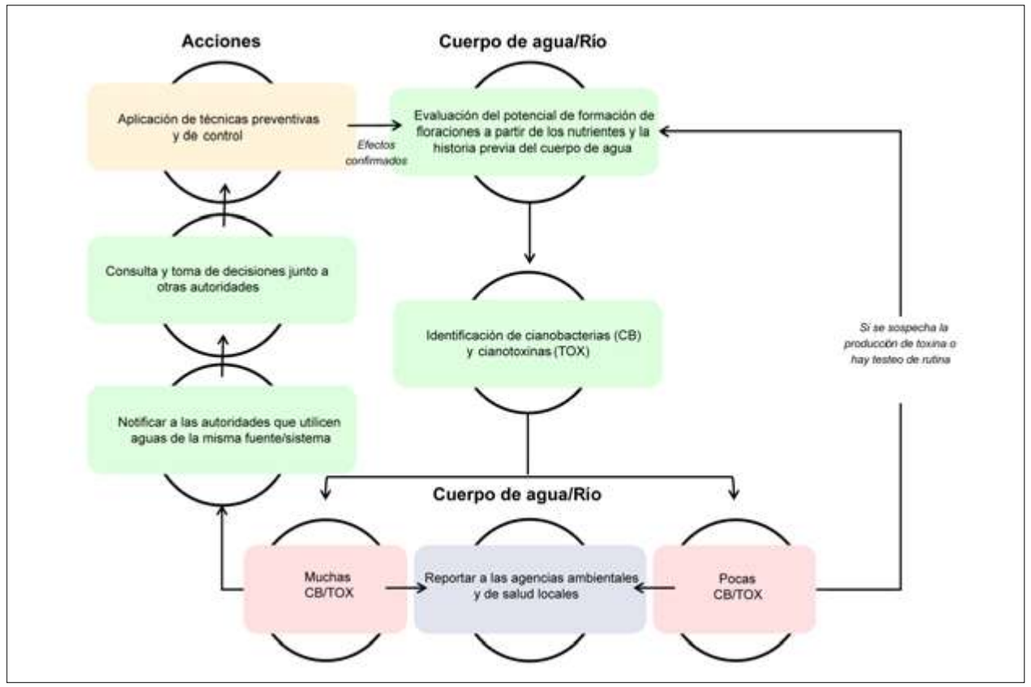


Figura 4: Gráfico de flujo del manejo de cianobacterias en el agua adaptado de la OMS.

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 factores 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.

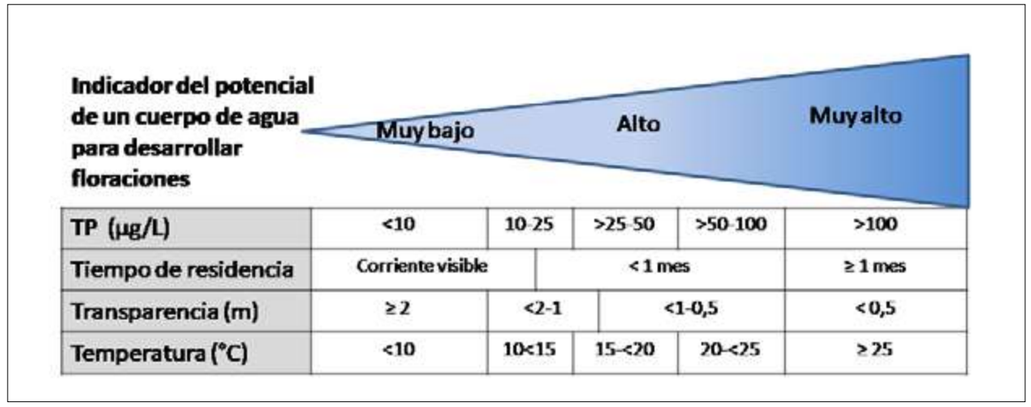


Figura 5: Indicadores ambientales del potencial de un cuerpo de agua para formar floraciones. Adaptado de http://www.who.int//water_sanitation_health/publications/2011/dwq_guidelines/en/

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.). *Cianobacterias 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 - On-line 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). *SüsswasserfloravonMitteleuropa 19/1*. 548 pp.

Komárek, J. y K. Anagnostidis. 2005. Cyanoprokaryota -2.Teil: Oscillatoriales. In: Büdel B, L Krienitz, G. Gärtner, M. Schagerl (Eds). *SüsswasserfloravonMitteleuropa 19/2*. 759 pp.

Komárek J. 2013. Cyanoprokaryota -3.Teil: Heterocytous Genera. In: Büdel B, G Gärtner, L Krienitz, M Schagerl (eds). *SüsswasserfloravonMitteleuropa 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 inhalación 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 descriptas están, además, las nodularinas, lyngbyotoxinas, BMAA y lipopolisacáridos, cuyas características no serán abordadas aquí por haber hasta la fecha menos registros en nuestro país.

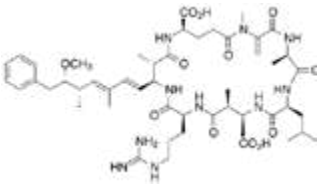
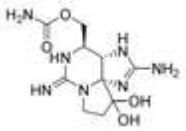
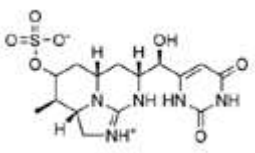
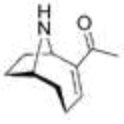
Tipo de toxina y consecuencia		Principales géneros productores de toxinas	
Microcistinas • Hepatotoxinas • Heptapéptidos • Daño hepático; gastroenteritis		*Microcystis,* *Dolichospermum* *Anabaena* *Nostoc* *Planktothrix*	*Oscillatoria* *Anabaenopsis* *Phormidium* *Synechococcus*
Saxitoxinas • Neurotoxinas • Alcaloides • Parálisis muscular		*Aphanizomenon* *Dolichospermum* *Anabaena*	*Lyngbya* *Cylindrospermopsis*
Cilindrospermopsinas • Hepatotoxinas • Alcaloides tricíclicos • Necrosis de órganos		*Cylindrospermopsis* *Dolichospermum* *Anabaena*	*Oscillatoria* *Raphidiopsis* *Aphanizomenon*
Anatoxina-a • Neurotoxinas • Alcaloides bicíclicos • Bloqueo neurológico		*Dolichospermum* *Anabaena* *Aphanizomenon*	*Phormidium* *Oscillatoria*

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 • *Screening*	-Alta especificidad -Alta sensibilidad -Bajo costo -Tratamiento de muestra escaso o nulo -Fácil uso *in situ* 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 • 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 fosfatasas (PP1) y bioensayos con ratón, que no se abordarán 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 (EnzimeLinkedInmunoassay) 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 ($1 \mu g.L^{-1}$).

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 $10^{-3} \mu g.L^{-1}$. 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

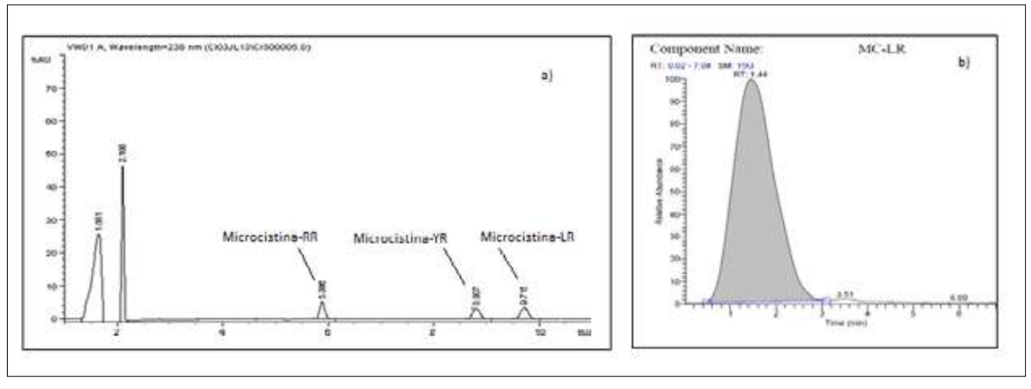


Figura 1: Cromatogramas obtenidos con cromatografía líquida de alta resolución. a) salida obtenida con un detector Ultravioleta (UV) en la cual se observan los picos correctamente resueltos correspondientes a los congéneres de microcistina-LR, YR y RR, según el tiempo de retención de cada uno. b) salida 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 eficiacia 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 termostatizado
- 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 termostatizado. 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 $\mu g.L^{-1}$.

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}.

◆ **Identicación 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 termostatizado (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 estas. 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 aproximadamene 6000 rpm durante 10 minutos.

*Concentrar elextracto 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

◀ volver al índice

- 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 $\mu g.L^{-1}$.

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 500µL 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 3µm. 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: 0,2mL.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 $\mu g.L^{-1}$.

◀ volver al índice

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 (Phe*d5* en agua, $0,6mg.L^{-1}$) 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 200µL de agua.
- Centrifugar 10 minutos a aproximadamente 8000 rpm.
- 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 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 3µm. 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: $0,2mL.min^{-1}$.

◆ 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 $\mu g.L^{-1}$.

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*. Aplication note 606, ThermoFisher. www.thermofisher.com

Chorus, I. & J. Bartram. 1999. *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and managment*. 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*. Aplication 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 ºC) 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/v[1]. 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 e 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 enérgica 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 extraido.

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 ºC durante 10 hs / en baño térmico de arena o de agua (baño María) a 90 º 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 centrifugar[3] (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 traspasarlo a un vial rotulado. Utilizar para preparaciones 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, Paurla 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 regionales[4].

Procedimiento

Es importante comprobar que las valvas de diatomeas estén distribuídas 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 ¾ 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 epiliton, 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 cuadricula, 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 cuadricula 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 cuadricula.

- 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 ¾ 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 central 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 especifico 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:

a) Colocar 0,3 mL (usando una pipeta de 1 mL o una micropipeta de ese volumen) de cada muestra en un portaobjetos.

b) 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.

c) 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 larigo del cubreobjetos por el ancho del campo de visión.

d) Repetir este procedimiento hasta no registrar nuevas especies (3 cámaras para cada muestra).

e) Promediar el total de organismos contados en las 3 cámaras y estimar la densidad algal (número de individuos/cm^2) considerando el área recorrida en el cubreobjetos y extrapolar a la superficie raspada.

Densidad algal (n.º individuos/cm^2) = (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 (cm^2).

◀ volver al índice

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

Frascos 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:

a) 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).

b) 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.

c) Poner el filtro GF/C en el portafiltro. Colocar la jeringa en el portafiltro.

d) Homogeneizar la muestra y trasvasar a una probeta adecuada. Anotar volumen.

e) 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.

f) Trasvasar a la jeringa y filtrar.

g) Anotar el volumen de la alícuota filtrada.

◀ volver al índice

NOTA: Enjuagar bien portafiltro, probeta, jeringa antes de pasar a otra muestra.

h) Colocar el filtro en un frasco de vidrio de 30 mL o en un tubo Falcon.

i) Añadir 10 mL de acetona 90% en cada frasco, cubriendo totalmente el filtro.

j) Guardar las muestras en heladera 12 horas. El disolvente orgánico extraerá la clorofila de las muestras.

k) Al día siguiente, colocar el extracto en una cubeta para espectrofotómetro

l) 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.

m) Estimar las concentraciones de clorofila mediante la expresión empírica siguiente:
Cl *a* = 11,4 (A665 - A750) *V / (L*S)
donde Cl a: clorofila-*a* (mg/m^2), A_x: absorbancia a x nm, V: volumen del extracto (mlL), L: longitud de la cubeta del espectrofotómetro (cm), y S: superficie de sustrato muestreado (cm^2).

n) Los filtros se pueden guardar en freezer si no son procesados en el momento.

o) Para la medición de PSLC, secar los filtros en estufa a 60 °C por 48 h. Pesar en balanza para obtener peso seco.

p) 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, asique 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.

q) Estimar PSLC= Peso Seco Libre de Cenizas (peso de cenizas=peso después de mufla - peso filtro). Expresar en mg/m^2 extrapolando a la superficie de sustrato muestreado.

r) 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, 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 procariotas 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 estudio de macroinvertebrados bentónicos, la muestra a analizar puede consistir en sedimento obtenido con draga, el primer centímetro del sedimento (≈ 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 ºC 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 kitasatos y portafiltros deben autoclavarse, y las pinzas deben esterilizarse con alcohol y enjuagarse con agua autoclavada o libre de organismos (filtrada por 0,2 µm). Luego, se procede a homogeneizar la muestra de agua y filtrar por filtros estériles de 0,2 µm 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 µm de diámetro de poro para remover parte del zooplancton y otros organismos de mayor tamaño, lo que permitirá disminuir el ADN procedente de metazoos.

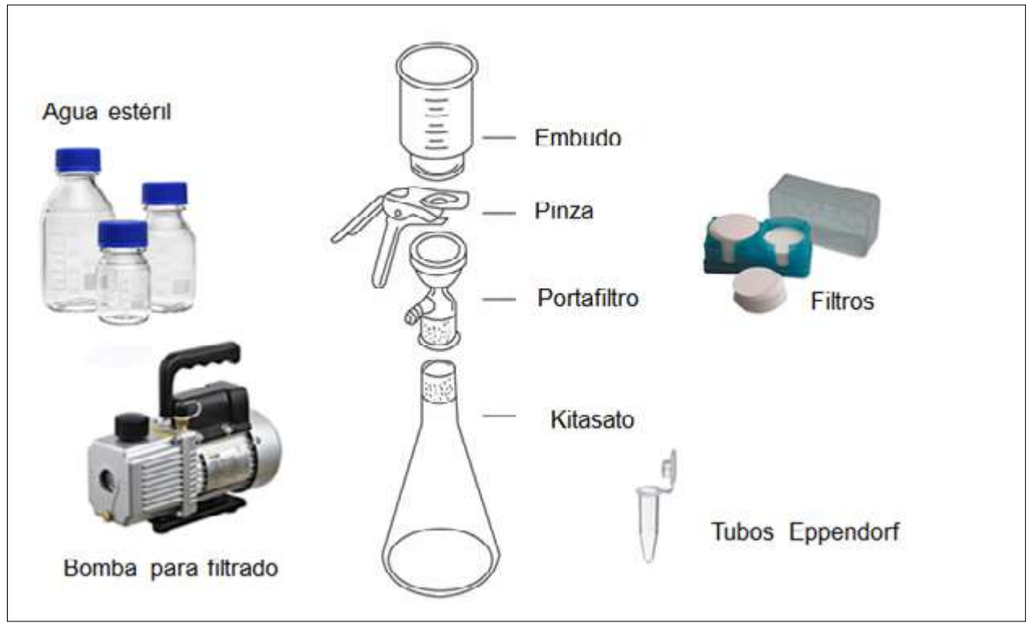


Figura 1: Materiales necesarios para el proceso de filtración de la muestra de agua en laboratorio.

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 ensamble 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 ADNa 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 medio 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.

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 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 65ºC.		

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 tapar el recipiente con papel aluminio. Refrigerar a 4 ºC 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 ºC.
Isopropanol	Separar una alícuota (aproximadamente 100 mL) y cubrir el frasco con papel aluminio. Refrigerar a 4 ºC o a temperatura ambiente.
Etanol 80%	Almacenar a -20 ºC 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 Na2EDTA2•H2O 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.

Los pasos de la extracción y purificación del ADN mediante el método de CTAB son los siguientes:

a) 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.

b) Incubar en estufa a 60 °C durante 30 minutos.

c) Agregar 0,7 mL cloroformo isoamílico y homogeneizar bien por inversión provocando la emulsión de las dos soluciones.

d) Centrifugar 10 minutos a 14000 rpm.

e) Quedarán separadas dos fases. Transferir la superior (fase acuosa) a otro Eppendorf.

f) Repetir dos veces el lavado de la fase acuosa con cloroformo, es decir, repetir los pasos c) al e).

g) 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 ºC).

k) Secar el pellet.

l) Resuspender en 40 µL de buffer TE.

m) Congelar el extracto a -80 ºC 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 ADNa 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 ADNa 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

a) 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.

b) Dispensar 49 µl del mix en cada tubo de PCR.

c) Agregar 1 µl ADNa. Preferentemente 2 ng (entre 1 y 10 ng funciona bien).

d) 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

a) 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
MgCl2	Actúa como cofactor de la ADN polimerasa	3 µL	1,5 mM Mg2+
Primer forward (i)	Complementario a una de las dos hebras del ADN	2,5 µL	0,5 µM
Primer reverse (i)	Complementario a una de las dos hebras de ADN	2,5 µL	0,5 µM
Mix de dNTPs (ii)	Los cuatro desoxirribonucléotidos 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 *primers* 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.
	Annealing 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 producto 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 4ºC 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 ADNa. 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 procariotas 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 ADNa. 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 procariotas (16S ARNr) (Cole *et al.* 2003), SILVA para procariotas (16S SSU y LSU ARNr, y eucariotas (18S SSU y LSU) (Quast *et al.* 2012) y PR^2 para eucariotas (18S ARNr y 16S Cloroplastos) (Guillou *et al.* 2012).

Paso del análisis	Programa	Referencia
Eliminación de cebadores	Cutadapt Trimmomatic	Martin, 2011 Bolger *et al.* 2014
Control de calidad	FastQC MultiQC	https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/ Ewels *et al.* 2016
Filtración por calidad	USEARCH VSEARCH DADA2 QIIME Mothur	Edgard 2010 Rognes *et al.* 2016 Callahan *et al.* 2016 Bolyen *et al.* 2018 Schloss *et al.* 2009
Ensamblado de secuencias (*Forward* y *Reverse*)	Pear USEARCH VSEARCH DADA2 QIIME Mothur	Zhang *et al.* 2014 Edgard 2010 Rognes *et al.* 2016 Callahan *et al.* 2016 Bolyen *et al.* 2018 Schloss *et al.* 2009
Obtención de ASVs u OTUs	USEARCH VSEARCH DADA2 QIIME Mothur MED	Edgard, 2010 Rognes *et al.* 2016 Callahan *et al.* 2016 Bolyen *et al.* 2018 Schloss *et al.* 2009 Eren *et al.* 2015
Eliminación de quimeras	UCHIME DADA2 DECIPHER	Edgard *et al.* 2011 Callahan *et al.* 2016 Wright *et al.* 2012
Asignación taxonómica	BLAST+ IDTAXA SINTAX DADA2	Camacho *et al.* 2009 Murali *et al.* 2018 Edgar, 2016 Callahan *et al.* 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 ADNa 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 biomonitoreo. Una de las ventajas que presentan los análisis de ADNa 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 ADNa 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 ADNa 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 prematura 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 entre 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

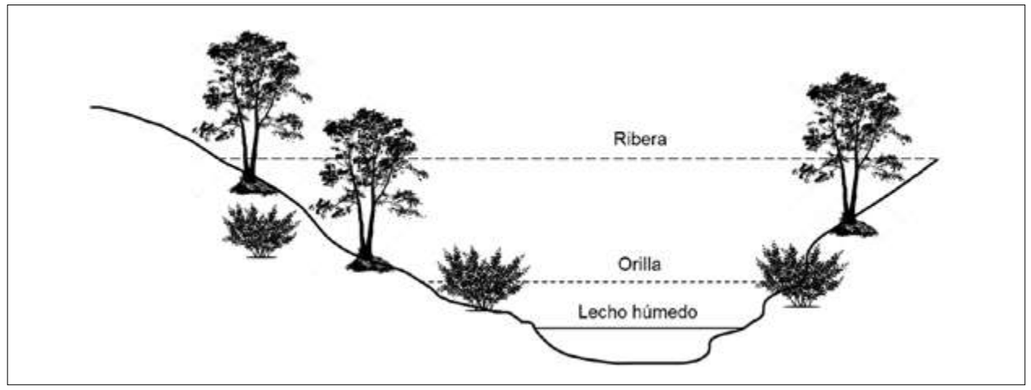


Figura 1: Esquema de la zona de ribera de un río o arroyo en el cual se delimita el lecho húmedo, la línea de orilla y la línea de ribera.



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
≥ o = 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
≤o = 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 evalua 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 ribera 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 fuvial para ríos de montaña de Patagonia

Sitio: Coordenadas:	Fecha:

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 com 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 ripieras	
-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) = a0/am donde pv es el valor ponderado de cada variable, a0 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 IIH ≤ 0,33), moderadamente degradado (0,33 < pv IIH ≤ 0,66) y preservado (pv 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
	Bosque costero intacto	5
3 Preservación del bosque ribereño	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

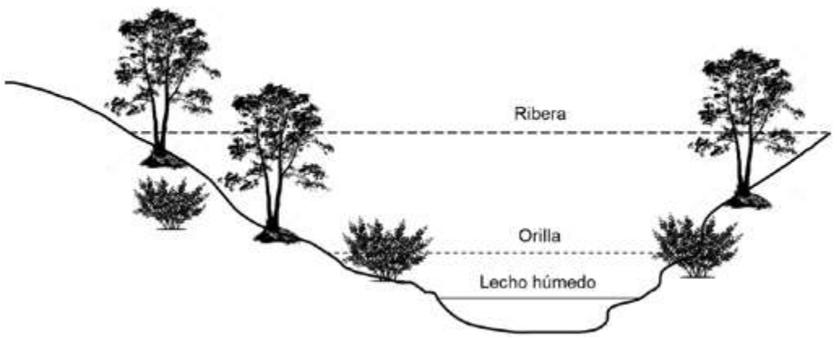
El procedimiento es el mismo que para los arroyos serranos, solamente varía en el **punto 4**. En los ríos

de llanura se recomienda considerar las riberas derecha 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: Hora final:
Uso del suelo:	Urbano	Post-urbano	Natural	
	Preurbano	Rural (Agrícola-Ganadero)		

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 rio	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**
Prosopis alba (algarrobo blanco)	*Betula pendula* (abedul)
Prosopis caldenia (caldén)	*Albizia julibrissin* (acacia de constantinopla)
Porlieria microphylla (cucharero)	*Gleditsia triacanthos* (acacia negra)
Geoffroea decorticans (chañar)	*Populus* spp. (alamo)
Kageneckia lanceolata (durazno del campo)	*Manihot grahamii* (cafeto)
Acacia caven (espinillo)	*Eucaliptus* spp. (eucalipto)
Acacia atramentaria (espinillo negro)	*Fraxinus pennsylvanica* (fresno)
Acacia praecox (garabato)	*Morus* spp. (morera)
Rupretchia apetala (manzano del campo)	*Ulmus* spp. (olmo)
Lithrea molleoides (molle de beber)	*Melia azedarch* (paraíso)
Schinus fasciculatus (moradillo)	*Pinus* spp. (pino)
Prosopis affinis (ñandubay)	*Salix babilonica* (sauce llorón)
Phytolaca dioica (ombú)	*Salix fragilis* (sauce mimbre)
Jodina rhombifolia (peje)	*Tamarix gallica* (tamarisco)
Condalia microphylla (piquillín)	*Acacia aroma* (tusca) **
Salix humboldtiana (sauce criollo)	*Jacaranda mimosifolia* (Jacarandá) **
Celtis tala (tala)	*Fagara hyemalis* (mamica de tambela) **
Bougainvillea stipitata (tala falso)	*Tessaria integrifolia* (aliso de rio) **
** 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, guijarros 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.

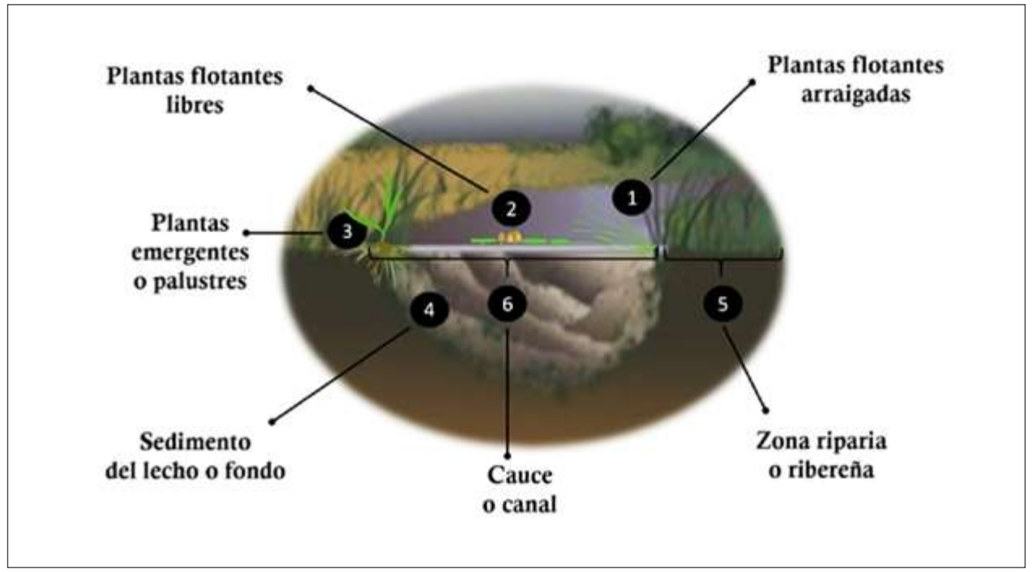


Figura 2: Perfil transversal del cauce de un arroyo de la llanura pampeana que muestra partes del mismo y las formas de vida de la vegetación acuática (macrófitas).

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: 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.

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 bióticos de invertebrados, etc.). Algunos parámetros pueden requerir de la observación de una sección más amplia de la cuenca más que del tramo en si.

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, aunando 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, quijones, 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 registrars 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 estadíos (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 *a posteriori* 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 puntua 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.	- 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.	- 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 *helófitos* 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.	- 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 lótico.
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.	- 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
Austrocedrus chilensis (ciprés de la cordillera) *Maytenus boaria* (maitén) *Nothofagus pumilio* (lenga) *Nothofagus dombeyi* (coihue) *Nothofagus antarctica* (ñire) *Discaria chacaye* (chacay de la cordillera)1 *Lomatia hirsuta* (radal)1 *Ochetophila trinervis* (chacay)1 *Schinus patagonicus* (laura)1 *Baccharis obovata* (huautro)2 *Berberis microphylla* (calafate)2 *Escallonia rubra* (siete camisas) 2 *Acaena magellanica* (cepa caballo de mallín)3 *Juncus* spp., *Eleocharis* spp., *Carex* spp. 3	*Salix* spp. (sauces) *Populus nigra* (álamo) *Pinus ponderosa* (pino ponderosa) *Pinus radiata* (pino radiata) *Pinus contorta* (pino murrayana) *Pseudotsuga menziesii* (pino oregón) *Crataegus monogyna* (espino albar) *Rosa rubiginosa* (rosa mosqueta)2 *Lupinus* spp. (chochos)3 *Medicago lupulina* (lupulina)3 *Plantago* spp. (llantén)3 *Ranunculus repens* (botón de oro)3 *Taraxacum officinale* (diente de león)3 *Trifolium repens*, *T. pratense* (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 arboreas 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 Zoologica 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.

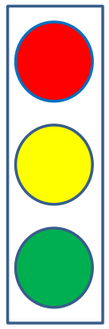
Se sugiere la presentación y transmisión de la información brindada por los distintos indicadores de modo semicuantitativo presentando en forma conjunta los resultados de índices químicos de calidad del agua, índices de calidad de la zona ribereña e índices emanados de los biomonitores. Cada tipo de 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.

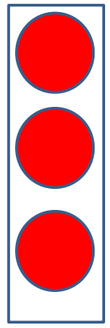
En la evaluación de la integridad ecológica se analizan tramos del ambiente fluvial que se eligen por su representatividad del paisaje o de la situación a analizar. Si se quiere extender esa valoración a toda una cuenca, se debería trabajar con el valor mediano de todos los registrados en la cuenca para 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 fisicoquímicos 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

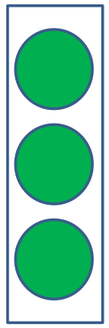
a. El círculo inferior indica calidad química del agua, el intermedio calidad biótica y el superior calidad del área ribereña. El conjunto de los mismos servirá para establecer el grado de integridad ecológica del ecosistema.



b. El color Rojo indica Mala calidad de los indicadores químico, bióticos y de ribera. Debe interpretarse como baja integridad ecológica del ecosistema fluvial.



c. Se indica Buena calidad de los indicadores químicos, bióticos y de ribera. Debe interpretarse como Alta integridad ecológica del ecosistema fluvial.



d. Se indica Buena calidad del indicador químico pero Mala del bioindicador y regular del área ribereña. El problema sería destrucción o modificación de hábitat. La integridad ecológica está comprometida.

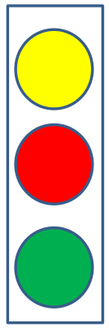


Figura 1. Semáforo del estado del ambiente fluvial.

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. Asi, 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

◀ volver al índice

						ejemplo Muestra 1		
Acrónimo	**Nombre del taxón**	**Nuevo Acrónimo**	**Nuevo aceptado actualmente del taxón (si difiere)**	**Calidad**	**Valor idp de la especie (idp j)**	**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	Achnanthidium 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 (Brébisson) Round & Bukhtiyarova	I-II	1.5	73	0	0
AMIN	Achnanthes minutissima Kützing var. minutissima Kützing	ADMI	Achnanthidium minutissimum (Kützing) Czarnecki	0-I	1		0	0
ANSU	Actinocyclus normanii (Gregory) Hustedt fo.subsalsus (Juhlin-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

						ejemplo Muestra 1		
Acrónimo	**Nombre del taxón**	**Nuevo Acrónimo**	**Nuevo aceptado actualmente del taxón (si difiere)**	**Calidad**	**Valor idp de la especie (idp j)**	**Abundancia absoluta**	**Abundancia relativa (Aj)**	Aj * idp j
CAMP	Caloneis amphisbaena (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
CPLE	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
CSTR	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 vulgaris 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

◀ volver al índice

						ejemplo Muestra 1		
Acrónimo	**Nombre del taxón**	**Nuevo Acrónimo**	**Nuevo aceptado actualmente del taxón (si difiere)**	**Calidad**	**Valor idp de la especie (idp j)**	**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 (Dyllwyn) 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
GPSA	Gomphonema pseudoaugur 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

◀ volver al índice

◀ volver al índice

						ejemplo Muestra 1		
Acrónimo	**Nombre del taxón**	**Nuevo Acrónimo**	**Nuevo aceptado actualmente del taxón (si difiere)**	**Calidad**	**Valor idp de la especie (idp j)**	**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 capitatoradiata 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

◀ volver al índice

						ejemplo Muestra 1		
Acrónimo	**Nombre del taxón**	**Nuevo Acrónimo**	**Nuevo aceptado actualmente del taxón (si difiere)**	**Calidad**	**Valor idp de la especie (idp j)**	**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) Meresckowsky	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 (Kutzing) Grunow			I-II	1.75		0	0
NIGR	Nitzschia gracilis Hantzch ex. Rabenhorst			I-II	1.5		0	0

						ejemplo Muestra 1		
Acrónimo	**Nombre del taxón**	**Nuevo Acrónimo**	**Nuevo aceptado actualmente del taxón (si difiere)**	**Calidad**	**Valor idp de la especie (idp j)**	**Abundancia absoluta**	**Abundancia relativa (Aj)**	Aj * idp j
NHEU	Nitzschia heufleriana 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 Hantzch 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

◀ volver al índice

						ejemplo Muestra 1		
Acrónimo	**Nombre del taxón**	**Nuevo Acrónimo**	**Nuevo aceptado actualmente del taxón (si difiere)**	**Calidad**	**Valor idp de la especie (idp j)**	**Abundancia absoluta**	**Abundancia relativa (Aj)**	Aj * idp j
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	Stenopterobia 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

◀ volver al índice

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. 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

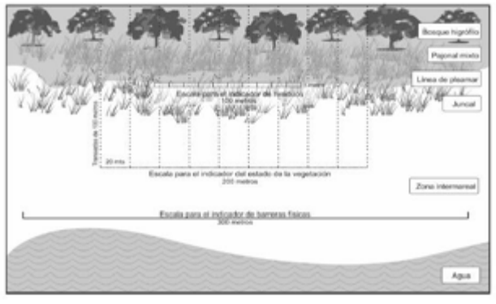
DESCRIPTORES DEL ÍNDICE

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 (si/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

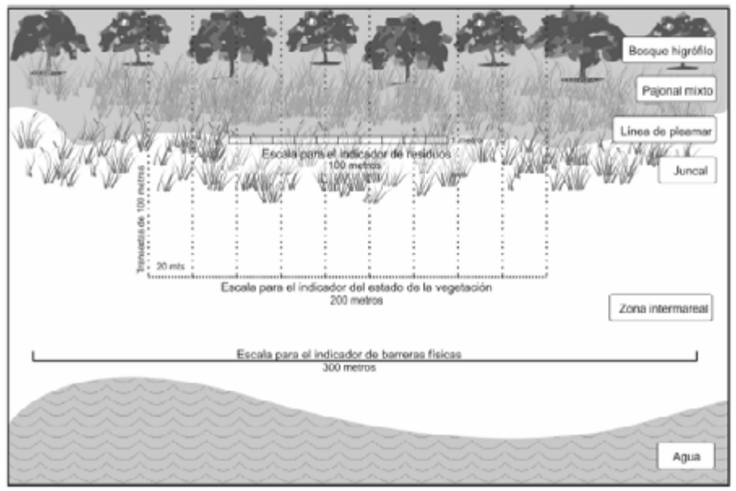
Organismos indicadores de déficit de oxígeno: organismos acuáticos que se desarrollan bajo condiciones de bajas condiciones de oxígeno, ejemplos: bacterias filamentosas blanquecinas como *Beggiatoa sp. (ver foto)*
Pajonal mixto: Zonas de vegetación con suelo innundable dominados por cortaderia (*Cortaderia 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 (10 parcelas en 100 metros)	*Si = 0; No = 1*	☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐
Estado de la vegetación (10 transectas en 200 metros)	*Sucesión completa = 1;* *Sucesión incompleta = 0*	☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐
Barreras físicas (un tramo de 300 metros)	*Sin modificaciones = 10* *Estructuras temporarias = 7.5* *Estructuras temporarias y rellenos = 5* *Estructuras temporarias, rellenos y escolleras/muelles = 5* *Murallas = 0*	
Indicadores de déficit de oxígeno (un tramo de 300 metros)	*Presentes = 0* *Ausentes = 1*	

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. 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 (si/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)

Índice del Hábitat del Río de la Plata (IHRPlata)

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 innundable 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

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)

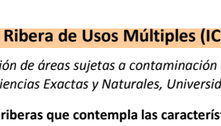
Estructura y cobertura de la vegetación riparia
6. Cobertura vegetal general (% ribera cubierta de vegetación)
7. Suelo desnudo (% suelo desnudo)
8. Plantas flotantes libres (ausencia/presencia)
9. Plantas palustres (%orilla cubierta)
10. Herbáceas nativas (%área de muestreo cubierta)
11. Herbáceas exóticas (%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)
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.



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

SITIO
FECHA/HORA

#	Descripción	MÁRGEN IZQUIERDA					MÁRGEN DERECHA				
		VALOR	1	2	3	4	VALOR	1	2	3	4
1	Ancho del espacio ripario con vegetación asociada (m)	Río/Arroyo	0-0,5m 0-25m	0,6-1m 26-50m	1,1-2m 51-100m	>2m >100m	Río/Arroyo	0-0,5m 0-25m	0,6-1m 26-50m	1,1-2m 51-100m	>2m >100m
		Estuario					Estuario				
2	Conectividad e/ curso de agua y ecosistema ripario		0-25%	26-50%	51-75%	76-100%		0-25%	26-50%	51-75%	76-100%
3	Características de las riberas		Impermeable /ocupada	Socavada /Erosionada	Montículos / rellenada / empinada	Apariencia natural		Impermeable /ocupada	Socavada /Erosionada	Montículos / rellenada / empinada	Apariencia natural
4	Características del canal		Impermeabilizado / Canalizado / Rectificado			Apariencia natural		Impermeabilizado / Canalizado / Rectificado			Apariencia natural
5	Continuidad del cauce		Interrumpido			Continuo		Interrumpido			Continuo
6	Cobertura vegetal general		0-25%	26-50%	51-75%	76-100%		0-25%	26-50%	51-75%	76-100%
7	Suelo desnudo		76-100%	51-75%	26-50%	0-25%		76-100%	51-75%	26-50%	0-25%
8	Plantas flotantes libres		Ausencia			Presencia		Ausencia			Presencia
9	Plantas palustres		0-25%	26-50%	51-75%	76-100%		0-25%	26-50%	51-75%	76-100%
10	Herbáceas nativas	Pastizal	0-25%	26-50%	51-75%	76-100%	Pastizal	0-25%	26-50%	51-75%	76-100%
		Bosque	76-100%	51-75%	26-50%	0-25%	Bosque	76-100%	51-75%	26-50%	0-25%
11	Herbáceas exótica		76-100%	51-75%	26-50%	0-25%		76-100%	51-75%	26-50%	0-25%
12	Plantas leñosas nativas	Pastizal	76-100%	51-75%	26-50%	0-25%	Pastizal	76-100%	51-75%	26-50%	0-25%
		Bosque	0-25%	26-50%	51-75%	76-100%	Bosque	0-25%	26-50%	51-75%	76-100%
13	Plantas leñosas exóticas		76-100%	51-75%	26-50%	0-25%		76-100%	51-75%	26-50%	0-25%
14	Relación plantas palustres (nativas)/Herbáceas nativas		=<1	1,1-2	>2	>3		=<1	1,1-2	>2	>3
15	Relación herbáceas nativas/exóticas		<1	1	1,1-3	0-25%		<1	1	1,1-3	0-25%
16	Relación plantas leñosas nativas/exóticas	Pastizal	=<1	1,1-2	>2	>3	Pastizal	=<1	1,1-2	>2	>3
		Bosque	<1	1	1,1-3		Bosque	<1	1	1,1-3	
17	Relación plantas leñosas nativas/exóticas invasoras		=<1	1,1-2	>2			=<1	1,1-2	>2	
18	Estructuras y vías de acceso humano al curso de agua y sus riberas		Puentes / muelles / caminos	Caminos permeables	Ninguno aparente			Puentes / muelles / caminos	Caminos permeables	Ninguno aparente	
19	Basura		Abundante	Esparcida /escasa	Ausente			Abundante	Esparcida /escasa	Ausente	
20	Descargas de efluentes		Presencia			Ausencia		Presencia			Ausencia
21	Características organolépticas del agua		Olor / materia fecal / espuma			Apariencia natural		Olor / materia fecal / espuma			Apariencia natural
22	Dragado del sedimento		Presencia			Ausencia		Presencia			Ausencia
23	Agricultura			Presencia		Ausencia			Presencia		Ausencia
24	Ganadería			Presencia		Ausencia			Presencia		Ausencia
25	Industria		Procesos / extractiva	Depósitos	Ausencia			Procesos / extractiva	Depósitos	Ausencia	
26	Área urbana		Asentamiento precario / urbano denso	Suburbano / Periurbano	Periurbano laxo / Asociado a rural			Asentamiento precario / urbano denso	Suburbano / Periurbano	Periurbano laxo / Asociado a rural	
27	Área recreativa		Presencia		Ausencia			Presencia		Ausencia	
28	Área protegida o reserva natural		Ausencia		Presencia			Ausencia		Presencia	
29	Paisaje de referencia		Pastizal	Bosque de ribera				Pastizal	Bosque de ribera		

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 márgen, 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

	Parámetro	#	Descripción	MÁRGEN I	D
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		
		6.g	Si hay menos de 50% 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 fuvial 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 márgen.
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 márgen.
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	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		
	ACRÓNIMO	DESCRPICIÓN	MÁRGEN	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I	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*																				
CURSO DE AGUA	AVC	Cobertura de la vegetación acuática	*1-50% = 1 Ausente o > 50% = 0*																				
	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*																				

◀ volver al índice

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 fuvial 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 márgen.

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 márgen.

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 prohiban 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

			SITIO		
			FECHA/HORA		
Parámetro	**#**	**Descripción**	**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/Area 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 < 0,15%, 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 prohiban 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

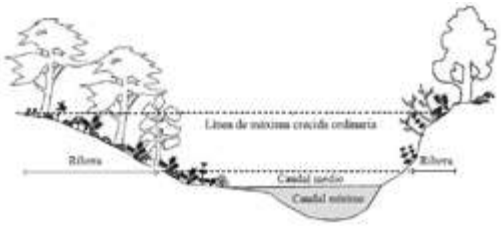
Kutschker Adriana Mabel, Brand Cecilia y Papazian Gabriela

Apéndice 1

Calificación de la zona de ribera de los ecosistemas fluviales

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 plantes 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 +2	si la conectividad entre el bosque de ribera y el ecosistema forestal/natural adyacente es total si la conectividad entre el bosque de ribera y el ecosistema forestal/natural adyacente es superior al 50%	
-2 -5	si la conectividad entre el bosque de ribera y el ecosistema forestal/natural adyacente es entre 25 y 50% 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 +2 +2	si en la orilla la concentración de helófitos o arbustos es superior al 50 % si en la orilla la concentración de helófitos o arbustos es entre 25 y 50 % si los árboles tienen un sotobosque arbustivo	
-2 -2 -5	si hay una distribución regular (linealidad) en los pies de los árboles y el sotobosque es > 50 % si los árboles y arbustos se distribuyen en manchas, sin una continuidad 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 Tipo 1: +2 / Tipo 2: +3 / Tipo 3: +4	
-2.5 -5	si hay alguna sp. de árbol y/o arbusto alóctono aislada si hay sp. de árboles y/o arbustos alóctonos formando comunidades	

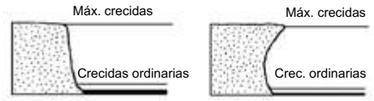
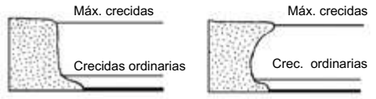
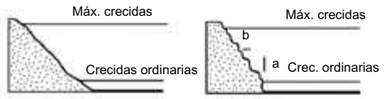
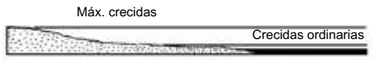
Grado de naturalidad del canal fluvial. Puntuación entre 0 y 25

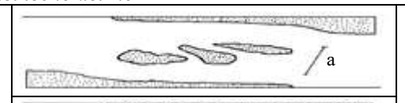
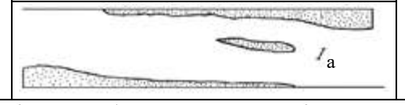
Puntuación		
25	el canal del río no ha estado modificado	
20	modificaciones de las terrazas adyacentes sin reducción del canal	
15	modificaciones de las terrazas adyacentes al lecho del río con reducción del canal	
10	signos de alteración y estructuras que modifican el canal	
5	estructuras transversales	
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 > 75º), 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 º, 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. Σ a > Σ b		3	3
Pendiente entre el 20 y 45 º, escalonado o no. Σ a < Σ b		2	2
Pendiente < 20 º, 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

	Orden lótico		
Tipo morfológico	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

	RANKING																				
	OPTIMO					SUBOPTIMO					MARGINAL					POBRE					
PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 1 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**

	RANKING																				
	OPTIMO					SUBOPTIMO					MARGINAL					POBRE					
PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 2 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 bloque, 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**

	RANKING																				
	OPTIMO					SUBOPTIMO					MARGINAL					POBRE					
PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 3 Régimen de velocidad /profundidad	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) 					
PUNTAJE	**20**	**19**	**18**	**17**	**16**	**15**	**14**	**13**	**12**	**11**	**10**	**9**	**8**	**7**	**6**	**5**	**4**	**3**	**2**	**1**	**0**

◄ volver al índice

	RANKING																				
	OPTIMO					SUBOPTIMO					MARGINAL					POBRE					
PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 4 Deposición de sedimentos	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, constricciones, 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.  					
PUNTAJE	**20**	**19**	**18**	**17**	**16**	**15**	**14**	**13**	**12**	**11**	**10**	**9**	**8**	**7**	**6**	**5**	**4**	**3**	**2**	**1**	**0**

◄ volver al índice

PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 5 Estatus del flujo del agua en el cauce	RANKING																				
	OPTIMO					SUBOPTIMO					MARGINAL					POBRE					
	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 esta mayormente expuesto. 					Muy poco agua en el canal y mayormente presente en pozones estancados. 					
PUNTAJE	**20**	**19**	**18**	**17**	**16**	**15**	**14**	**13**	**12**	**11**	**10**	**9**	**8**	**7**	**6**	**5**	**4**	**3**	**2**	**1**	**0**

◄ volver al índice

PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 6 Alteraciones del canal	RANKING																				
	OPTIMO					SUBOPTIMO					MARGINAL					POBRE					
	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. 					
PUNTAJE	**20**	**19**	**18**	**17**	**16**	**15**	**14**	**13**	**12**	**11**	**10**	**9**	**8**	**7**	**6**	**5**	**4**	**3**	**2**	**1**	**0**

◄ volver al índice

	RANKING																				
	OPTIMO					SUBOPTIMO					MARGINAL					POBRE					
PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 7 Frecuencia de rápidos o curvas (meandros)	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 habitats, distancia entre rápidos dividida por el ancho del río es >25. 					
PUNTAJE	**20**	**19**	**18**	**17**	**16**	**15**	**14**	**13**	**12**	**11**	**10**	**9**	**8**	**7**	**6**	**5**	**4**	**3**	**2**	**1**	**0**

◀ volver al índice

Técnicas de monitoreo para ecosistemas fluviales de la Argentina

Anexo 13. Apendice Calculo Valoración Hábitat

	RANKING										
	OPTIMO		SUBOPTIMO			MARGINAL			POBRE		
PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 8 Estabilidad de la ribera (calificar cada ribera)	Riberas estables, evidencia de erosión o fallas en la ribera ausentes o mínimas. Poco potencial para futuros problemas. < 5 % de la ribera afectada. 		Moderadamente estables, infrecuente, áreas erosionadas pequeñas mayormente en 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	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
PUNTAJE DER	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

◀ volver al índice 265

	RANKING										
	OPTIMO		SUBOPTIMO			MARGINAL			POBRE		
PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 9 Protección vegetal (calificar cada ribera)	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, vegetación de las márgenes muy 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	1	0
PUNTAJE DER	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

	RANKING										
	OPTIMO		SUBOPTIMO			MARGINAL			POBRE		
PARAMETRO DEL HABITAT NÚMERO 10 Ancho de la zona de vegetación ribereña	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	1	0
PUNTAJE DER	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	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, Washinton. 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.

◀ volver al índice

