



Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas
de los Ríos Limay, Neuquén y Negro

SECRETARÍA DE GESTIÓN AMBIENTAL

Protocolo para la detección y seguimiento de *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) Schmidt en el área andina patagónica, Argentina.



CIPOLLETTI, Diciembre 2012



Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas de los Ríos Limay, Neuquén y Negro

AUTORIDADES

Consejo de Gobierno:

- *Presidente: Ministro del Interior
Cdr. Florencio RANDAZZO*
- *Gobernador de la Provincia del Neuquén
Dr. Jorge SAPAG*
- *Gobernador de la Provincia de Río Negro
Don Alberto WERETILNECK*
- *Gobernador de la Provincia de Buenos Aires
Don Daniel SCIOLI*

Comité Ejecutivo:

- *Presidente: (cargo rotativo anual)
Representante de la Provincia del Neuquén
Ing. Elías Alberto SAPAG*
- *Representante del Estado Nacional
Ing. Hugo AGUZÍN*
- *Representante de la Provincia de Buenos Aires
Don Gustavo ROMERO.*
- *Representante de la Provincia de Río Negro
Ing. Carlos YEMA*

Edición: Mes de Diciembre de 2012.

Edición original: Mes de Enero de 2012

Tirada: 20 ejemplares.

Propietario: Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas de los Ríos Limay, Neuquén y Negro.

Número de Propiedad Intelectual (en trámite) (*).

Director de la Publicación: Presidente del Comité Ejecutivo.

Foto de portada: costa del río Negro, en Fernández Oro. Noviembre 2011.

(* Se autoriza el copiado y/o duplicado de la información contenida en este ejemplar, siempre que se cite la fuente.

PROTOCOLO PARA LA DETECCIÓN Y SEGUIMIENTO DE *DIDYMOSPHENIA GEMINATA* (LYNGBYE) SCHMIDT EN EL ÁREA ANDINA PATAGÓNICA, ARGENTINA.

Propuesta Técnica elaborada por la

UNIDAD DE GESTIÓN DE CALIDAD DEL AGUA

Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas de los Ríos Limay, Neuquén y Negro (AIC)
Secretaría de Gestión Ambiental (SGA)

Provincia del Neuquén
Subsecretaría de Ambiente y Desarrollo Sostenible (SSAyDS)
Dirección General de Biología Acuática (DGBA)
Dirección Provincial de Recursos Hídricos (DPRH)

Provincia de Río Negro
Departamento Provincial de Aguas (DPA)



Subsecretaría de
Ambiente y Desarrollo
Sostenible



DEPARTAMENTO PROVINCIAL
DE AGUAS DE LA PROVINCIA
DE RÍO NEGRO



AUTORIDAD INTERJURISDICCIONAL DE LAS CUENCAS
DE LOS RÍOS LIMAY, NEUQUÉN Y NEGRO
SECRETARÍA DE GESTIÓN AMBIENTAL

**Protocolo para la detección y seguimiento de *Didymosphenia geminata*
(Lyngbye) Schmidt en el área andina patagónica, Argentina.**

Autoras: Dra. María Adela Casco y Dra. Silvia E. Sala

División Científica Ficología - Cátedra Ficología
Facultad de Ciencias Naturales y Museo.
Universidad Nacional de La Plata

INDICE

I - INTRODUCCIÓN

II - CONSIDERACIONES GENERALES

1. ¿QUÉ ES *Didymosphenia geminata*?
2. ¿DÓNDE VIVE?
3. DISTRIBUCIÓN DE LA ESPECIE A NIVEL MUNDIAL
4. PROBLEMA
 - i. ¿Tiene implicancias para la salud?
 - ii. ¿Produce perjuicios a la pesca?
 - iii. Otros perjuicios
 - iv. ¿Cómo se combate?
5. SITUACIÓN EN ARGENTINA
 - i. Medidas preventivas propuestas en la provincia de Chubut
 - ii. Otras Provincias Patagónicas

III - CONSIDERACIONES PARTICULARES

PAUTAS PARA LA SELECCIÓN DE LOS SITIOS DE MUESTREO

IV - DESARROLLO DEL MUESTREO

Protocolo 1- Localización y fotografía de los sitios para asegurar el seguimiento de la colonización

1. OBJETIVOS
2. DEFINICIONES
3. APARATOS/EQUIPAMIENTO
4. MEDIDAS DE SEGURIDAD/PRECAUCIÓN
5. MÉTODOS
6. PLANILLAS

Protocolo 2- Caracterización de los sitios de muestreo.

1. OBJETIVOS
2. DEFINICIONES
3. APARATOS/EQUIPAMIENTO
 - i. Para el muestreo
 - ii. Para descontaminación del equipo
4. MEDIDAS DE SEGURIDAD/PRECAUCIÓN
5. MÉTODOS
 - i. Ríos y arroyos: Planillas 2.R. y 3.R.
 - ii. Lagos y lagunas: Planillas 2.L. y 3.L.
6. PLANILLAS
 - i. Consideraciones para el llenado de las planillas 2 (R y L)
 - ii. Consideraciones para el llenado de las planillas 3 (R y L)

Protocolo 3- Toma de muestras biológicas (Diatomeas) sobre sustrato duro: Muestra multihábitat

1. OBJETIVOS
2. DEFINICIONES
3. APARATOS/EQUIPAMIENTO
 - i. Para el muestreo
 - ii. Para descontaminación del equipo
 - iii. Para la separación de diatomeas sobre macrófitas (en laboratorio)
4. MEDIDAS DE SEGURIDAD/PRECAUCIÓN
 - i. Procedimiento general para la higiene del muestreo
5. MÉTODOS
 - A. Observaciones generales sobre la metodología
 - B. Colector Húmedo
 1. *Muestreo sobre piedras o rocas*
 2. *Muestreo sobre soporte duro artificial*
 3. *Muestreo sobre soporte vegetal*
 - C. Colector Seco
 - D. En el laboratorio: separación de las diatomeas sobre macrófitas
6. PLANILLAS

Protocolo 4- Toma de muestras biológicas (Diatomeas) en etapas tempranas de colonización: Muestra de fitoplancton.

1. OBJETIVOS
2. DEFINICIONES
3. APARATOS/EQUIPAMIENTO
4. MEDIDAS DE SEGURIDAD/ HIGIENE
5. MÉTODOS
 - A. Colector húmedo
 1. *En ríos o arroyos*
 2. *En lagos y lagunas*
 - B. Colector seco
 - C. Observaciones generales sobre la metodología
6. PLANILLAS

Protocolo 5- Toma de muestras para análisis químicos

V - METODOLOGÍA DE LABORATORIO PARA EL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS

Protocolo 6. Métodos para limpieza de diatomeas: Método del peróxido de hidrógeno en caliente:

1. OBJETIVOS
2. DEFINICIONES
3. APARATOS/EQUIPAMIENTO
4. MÉTODOS

Protocolo 7 -Preparación de muestras permanentes de diatomeas

1. OBJETIVOS
2. DEFINICIONES
3. APARATOS/EQUIPAMIENTO
4. MÉTODOS

Protocolo 8. Identificación de especies y recuento de diatomeas

1. OBJETIVOS
2. DEFINICIONES
3. APARATOS/EQUIPAMIENTO
4. MÉTODOS

VI - BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

VII. ANEXOS

Anexo I. Número de identificación de la muestra.

1. MUESTRAS BIOLÓGICAS
2. MUESTRAS QUÍMICAS

Anexo II. Medidas de seguridad/precaución.

1. SEGURIDAD DEL OPERARIO
2. MEDIDAS DE DESINFECCIÓN E HIGIENE
3. UNA VEZ CONCLUIDA LA TOMA DE MUESTRAS EN CADA SITIO
4. OPCIONES AL USO DE LA SOLUCIÓN DE LAVANDINA PARA DESINFECCIÓN DEL MATERIAL

Anexo III. Aparatos/equipamiento necesario para los protocolos 1-4

1. GENERAL
2. INSTRUMENTAL
3. VESTIMENTA
4. FRASCOS, FIJADORES, RECIPIENTES
5. PARA DESCONTAMINACIÓN DEL EQUIPO
6. PARA EL LABORATORIO

Anexo IV. Planillas de Campo

1. PARA RÍOS Y ARROYOS
- 1.R. LOCALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN GENERAL RÍOS Y ARROYOS**

2.R. DATOS DE CAMPO DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y CALIDAD DEL AGUA. RÍOS Y ARROYOS

3.R. EVALUACIÓN EN CAMPO DEL HÁBITAT EN RÍOS Y ARROYOS

3.R. EVALUACIÓN EN CAMPO DEL HÁBITAT EN RÍOS Y ARROYOS (reverso)

4.R. DATOS DE CAMPO ANEXOS A LAS MUESTRAS. RÍOS Y ARROYOS

2. PARA LAGOS Y LAGUNAS

1.L. LOCALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN GENERAL. LAGOS Y LAGUNAS

2.L. DATOS DE CAMPO DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y CALIDAD DEL AGUA. LAGOS Y LAGUNAS

3.L. EVALUACIÓN EN CAMPO DEL HÁBITAT EN LAGOS Y LAGUNAS

3.L. EVALUACIÓN EN CAMPO DEL HÁBITAT EN LAGOS Y LAGUNAS (reverso)

4.L. DATOS DE CAMPO ANEXOS A LAS MUESTRAS. LAGOS Y LAGUNAS

I - INTRODUCCIÓN

A pedido de la AIC, se propone un protocolo de recolección de muestras de perifiton y plancton, para el análisis microscópico del alga invasiva y exótica, *Didymosphenia geminata*. Este ha sido elaborado considerando la experiencia personal en la planificación y ejecución de un muestreo extensivo en la Cuenca del Río Guadalquivir, España (Toja et al. 2004/2006) y tomando en cuenta las recomendaciones específicas, por la categoría de invasora de la especie en cuestión, de aquellos países en los que más exhaustivamente se ha analizado el problema y donde se implementan medidas de control y prevención, como son Nueva Zelanda (Duncan et al. 2007) y Estados Unidos (Spaulding & Elwell, 2007) .

Este documento incluye una introducción general al conocimiento de la especie *Didymosphenia geminata*, la interpretación de su potencial colonización según las condiciones particulares de la zona andino-patagónica, y los protocolos de campo y de laboratorio que describen los procedimientos para su monitoreo y diagnóstico, cubriendo todos los pasos desde la descripción del hábitat y obtención de las muestras hasta su observación y guardado en un herbario de referencia.

Los presentes protocolos son documentos originales destinados a nuestro país que asimismo siguen los lineamientos generales existentes a nivel internacional para la identificación y cuidados respecto a esta alga invasora. En particular la inclusión de las muestras en el herbario del Museo de La Plata (UNLP) (código LPC) constituye el aval a la base de datos y la disponibilidad de las muestras originales con un respaldo institucional.

Los protocolos establecen la metodología de trabajo para el hallazgo de *Didymosphenia geminata* en su etapa como epífita y en su estado de vida libre, con el objetivo de poder dar un alerta temprana de la presencia de la especie en las cuencas analizadas ya que posibilitan su encuentro aún en los primeros momentos de colonización. Consisten en la obtención de muestras de epífitos sobre los sustratos disponibles (muestras multihábitat; Charles et al., 2002) y muestras de fitoplancton. Las planillas de caracterización del hábitat están destinadas a la interpretación de las zonas de preferencia y riesgo.

Las planillas poseen un formato para su tratamiento estadístico posterior. Cualquier necesidad de modificación debe ser avisada y justificada para mantener la estandarización de los datos. El producto final son las planillas completadas en forma manuscrita y su copia en formato electrónico.

II - CONSIDERACIONES GENERALES

La presencia de *Didymospheniasphenia geminata* en aguas argentinas genera una preocupación especial ya que se trata de un alga es altamente invasora y si encuentra las condiciones para migrar (principalmente transporte por actividad humana o por agentes naturales), rápidamente coloniza nuevos ríos.

1. ¿QUÉ ES *Didymosphenia geminata*?

Didymosphenia geminata es una especie de alga perteneciente al grupo de las Diatomeas. Las diatomeas son el único grupo de algas que posee una cubierta silíceea, llamada frústulo. Estas habitan tanto ambientes marinos como continentales y pueden formar parte del plancton (es decir tener vida libre en la columna de agua) o vivir adheridas a distintos tipos de sustratos.

Los frústulos de *Didymosphenia geminata* se fijan al sustrato por medio de excrecencias mucilaginosas (pies o pedúnculos) que forman grandes matas cuando éstas crecen en grandes densidades. Este tipo de crecimiento característico (que también puede encontrarse en especies de *Gomphonema* y *Gomphoneis*, aunque de menor envergadura) consiste en que cada frústulo secreta un largo pedúnculo. Los pedúnculos se ramifican cuando las células se dividen y cada célula hija continúa secretando el pedúnculo. Cuando las condiciones son favorables, los organismos pueden formar matas que pueden cubrir grandes extensiones del fondo de los arroyos. Las matas son de color amarillo pálido a blanco. Para el observador estas matas tienen la apariencia de fibra de vidrio, cuero de oveja, o alfombras de peluche, y se le da el nombre vulgar de “moco de roca”. En la medida en que los arroyos disminuyen su profundidad las matas se mantienen secas sobre las rocas y pueden ser confundidas con papel higiénico, dando un aspecto desagradable al sitio.



Fig. 1



Fig. 2

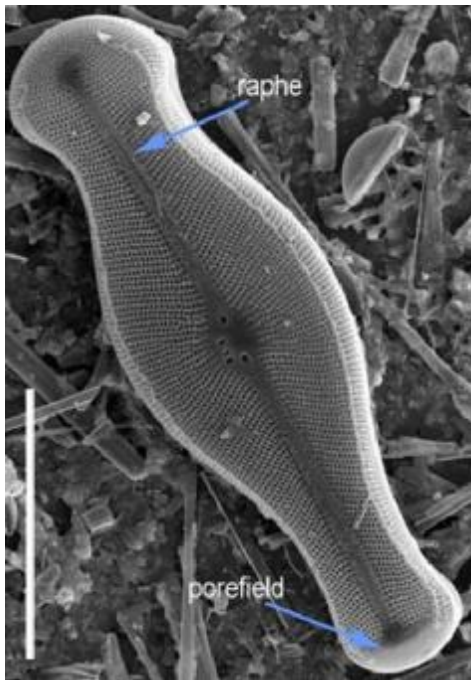


Fig. 3

Fig. 1, Microscopio óptico (MO). Material sin tratar, (http://www.ec.gc.ca/scitech/DD0250A7-22DD-44E1-83E8-206A23891E66/didymo_cell.gif&imgrefurl)

Fig. 2 MO. Material tratado.

Fig. 3 MEB. Frústulo en vista valvar (Spaulding & Elwell, 2007)

Son condiciones del hábito de la especie un estado fijo pedunculado y otro de vida libre, por lo que los individuos pueden ser hallados tanto formando estructuras mucilaginosas sobre sustratos como en forma aislada en la columna del agua y/o en los sedimentos.

Se reporta estacionalidad en la presentación de los estados fijos y libres, encontrándose las formas fijas desde primavera hasta fines del verano, luego liberándose las células para pasar a la forma móvil o libre. Por lo tanto, se espera encontrar la mayor biomasa fija y mayor producción de tractos mucilaginosos entre enero y febrero. Se ha reportado como difícil la producción de pedúnculos durante el invierno.

2. ¿DÓNDE VIVE?

En cuanto al hábitat, la especie prefiere ambientes lóticos pero también ha sido hallada en cuerpos de agua lénticos en aguas someras. Prefiere lugares donde hay mucho movimiento de agua, tales como ríos turbulentos y orillas de lagos batidas por el oleaje. A pesar de que *D. geminata* ocurre en lagos y aguas corrientes, los crecimientos perjudiciales sólo han sido registrados hasta el presente en ríos y arroyos.

La especie coloniza preferentemente las rocas, pero también se halla sobre otros tipos de sustrato (restos vegetales, macrófitas, etc.) y en la forma libre puede hallarse en la columna de agua y en los sedimentos. Como ejemplo se ha reportado que los hábitats fluviales preferidos en Noruega son los rápidos poco profundos con sustrato estable y un régimen de flujo constante (Lindstrøm & Skulberg, 2008).

Didymosphenia geminata aparentemente prefiere aguas claras, poco profundas y pobres en nutrientes y su desarrollo estaría influenciado por el clima y los patrones de lluvia.

Se piensa que la proliferación de *Didymosphenia* podría estar relacionada con el aumento de la radiación ultravioleta (UV) por distintas razones, ya sea por reducir las poblaciones de insectos acuáticos que normalmente limitan las poblaciones de *Didymosphenia*, o porque esta especie está mejor adaptada que otras especies algales a altas intensidades de UV. En este sentido el Ministerio de Ambiente de Columbia Británica, Canadá, comunicó que el aumento de UV, la pérdida de vegetación ribereña y la disminución de las corrientes podrían favorecer el crecimiento de *Didymosphenia* si la hipótesis del UV fuera correcta. Spaulding & Eldwell (2007) señalan que las suposiciones acerca de la tolerancia al UV no han sido debidamente probadas.

En Canadá se ha observado que a medida de que la longitud del día decrece al final del verano *Didymosphenia* deja de crecer y muere.

El crecimiento de la especie en determinado cuerpo de agua es impredecible y puede variar de un año al siguiente.

En sentido amplio las floraciones algales o blooms están asociadas a aguas superficiales impactadas por las actividades humanas. Los aumentos de las concentraciones de nitrógeno y fósforo resultan en efectos adversos debidos a excesivos niveles de producción primaria algal. Las floraciones de cianobacterias son bien conocidos en aguas dulces con altas concentraciones de fósforo, en contraste los blooms de *D. geminata* son diferentes por estar asociados a ambientes pobres en nutrientes (fósforo total < 2 µg/l y nitratos < 1 mg/l), y en muchos casos se han registrado en ambientes prístinos o con disturbios ecológicos limitados (Jónsson et al. 2000 en Spaulding & Elwell, 2007). Sin embargo estos autores señalan que en Polonia la especie produjo blooms en ríos impactados por la entrada de nutrientes de origen antropogénico con concentraciones de nitratos (NO₃) de 1.7 a 3.8 mg/l y fosfatos (PO₄) de 13 a 100 µg/l. El descubrimiento de crecimientos nocivos de la especie demuestra su aparición fuera del rango ecológico reconocido para la especie que plantea aguas pobres en nutrientes. No se conoce si la especie está limitada por alguno de estos nutrientes en USA. Sin embargo, experimentos de enriquecimiento de nutrientes llevados a cabo en Nueva Zelanda indican que con altas concentraciones de alguno de ellos el crecimiento de la especie es estimulado. Aparentemente su presencia se relaciona con aportes de fósforo que incluso pueden ser puntuales o transitorios. Se cita que ocurre a menudo, pero no siempre, en aguas donde la relación N: P es alta durante gran parte del año. Es más, en condiciones con una concentración de fósforo suficientemente baja, prospera donde el P orgánico es predominante. Es decir, son buenas condiciones que sean altas las relaciones N:P y, con escaso fósforo, alta relación fosfato orgánico: inorgánico.

En cuanto a otras características químicas del agua. Spaulding & Elwell (2007) señalan que datos preliminares del oeste de USA muestran que *D. geminata* está presente en un amplio rango de condiciones: temperatura entre 4 y 27 °C, sin embargo las condiciones de pH son más estrechas, siendo encontrada en aguas con pH 7 o superior. En lo que respecta a la conductividad los autores señalan que la especie tiene un amplio rango de tolerancia desde aguas pobres en electrolitos a aguas con altas concentraciones a pesar de lo cual *D. geminata* ocurre más frecuentemente en aguas con bajos valores de conductividad.

Spaulding & Elwell (2007) hablan de una paradoja biológica al observar que en los blooms de *D. geminata* ha resultado que dentro de la masa de pedicelos y células las concentraciones de oxígeno disuelto están sobresaturadas en relación a la concentración atmosférica, a diferencia de lo que sucede en matas de otras especies algales. Esto se debería a la presencia de otras algas epífitas asociadas a los pedicelos de *Didymosphaenia*.

En cuanto a las condiciones hidráulicas se ha observado que densas matas del alga pueden crecer tanto en aguas lentas poco profundas al igual que en aguas profundas y velocidades mayores.

Las crecidas limpian el cauce de los ríos y llevan la biomasa de la especie a bajos niveles. Sin embargo, para reducir la biomasa celular, las crecidas deben ser lo suficientemente grandes para mover las rocas del fondo. En Norteamérica y Europa se ha observado que la especie forma densos blooms aguas abajo de los embalses, experiencias en Canadá muestran que la especie es más frecuente en ríos intervenidos.

Finalmente, la especie requiere o está restringida a buenas condiciones de luz.

3. DISTRIBUCIÓN DE LA ESPECIE A NIVEL MUNDIAL

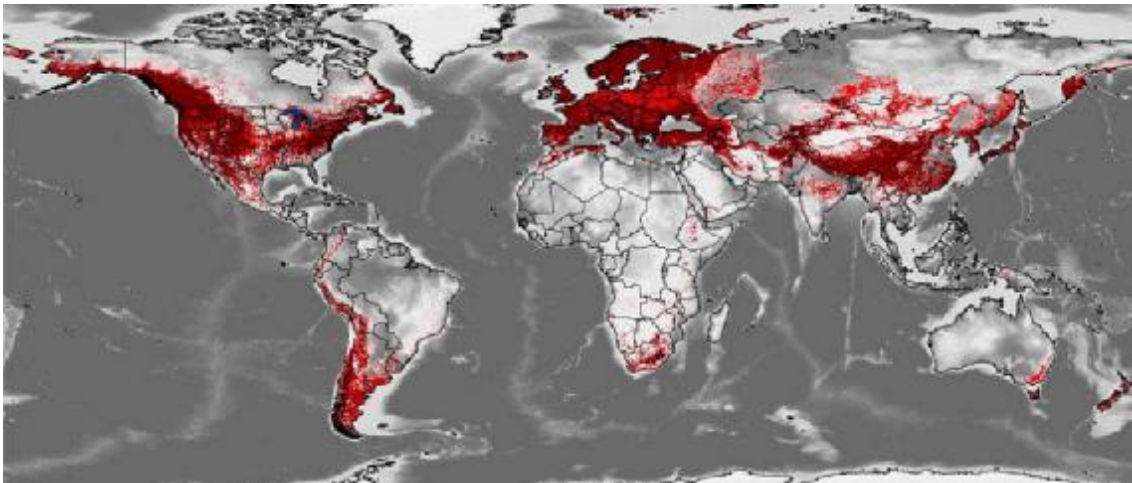
Según Spaulding & Elwell (2007) *Didymosphenia geminata* fue descrita originalmente en las Islas Faroe al norte de Escocia. Esta era una diatomea muy común en Escocia, Suecia y Finlandia (Cleve 1894-1896), así como en China donde formaba acumulaciones masivas. La especie ha expandido su distribución, en una forma preocupante a nivel mundial (Mapa 1).



Mapa 1. Distribución de la especie en 2007. Extraído de Spaulding & Elwell (2007)

Recientemente ha invadido a Nueva Zelanda. Allí la presencia de la especie fue confirmada por primera vez en octubre de 2004, siendo esa la primera cita para el hemisferio Sur (Kilroy 2004 en Spaulding & Elwell, 2007). A pesar de la activa respuesta del gobierno para evitar la contaminación por la especie en Nueva Zelanda, en 18 meses *D. geminata* se expandió a 12 ríos del sur de la isla y formó “blooms” en varios sitios, lo que demuestra que es una especie invasora agresiva con impactos ecológicos, económicos, sociales, en las centrales hidroeléctrica y actividades recreativas (Kilroy et al. 2005a, 2005b, 2005c, 2006, Campbell 2005, Branson 2006 en Spaulding & Elwell, 2007).

En 2007 Spaulding & Elwell habían advertido el riesgo de invasión en países como Perú, Chile y Argentina, y señalado el riesgo de los ríos patagónico de ser invadidos por la especie ya que son destinos atractivos para la pesca con mosca. Estos autores presentaron un mapa de riesgo basado en los ambientes adecuados para el desarrollo de la especie elaborado por McNyset & Julius (2006), (Mapa 2).



Mapa 2. Mapa mostrando las regiones con ambientes adecuados para la localización de *D. geminata*. (McNyset & Julius, 2006 in Spaulding & Elwell, 2007)

Si bien en 1964 la especie fue reportada en Chile como rara, en 2010 se observaron desarrollos masivos de la especie en la Patagonia Chilena y en la primavera del mismo año en la Provincia de Chubut.

Los últimos estudios realizados por científicos del Centro de Investigación en Ecosistemas de la Patagonia (CIEP, Chile) confirmaron la existencia de la especie en aguas de la Región de los Lagos (Burgos Gonzalez, 2010). En octubre del mismo año se resuelve declarar, por el plazo de dos años contados desde la publicación de la resolución, a algunos cuerpos de agua como área de plaga de la especie *Didymosphenia geminata*:

-**Río Espolón**, desde su nacimiento ubicado en los 43°12'50,21" S - 71°56'48,21" O hasta su confluencia con río Futaleufú 43°12'10,33" S - 71°51'29,58" O

- **Río Futaleufú**, desde su inicio en el límite territorial Hito VII-6, 43°10'35,68" S - 71°45'16,25" O hasta su desembocadura ubicada en Lago Yelcho 43°24'41,22" S - 71°12'40,86" O (brazo desembocadura oeste) y 43°24'12,72" S - 72°11'51,56" O (brazo desembocadura noreste), largo 58,5 Km.

Asimismo, se propusieron las medidas pertinentes de control, prevención y concientización y se estableció como parámetro indicativo de **área de plaga** la presencia de *D. geminata* en forma de mucílago y de **zona en riesgo de plaga** aquellos casos en que en un cuerpo de agua se detecte la presencia de células aisladas de *D. geminata* en muestras de plancton. (Diario Oficial de Chile, 2010).

Sastre *et al.* (2010) registraron la presencia de la especie en forma de floración por primera vez en aguas del Río Futaleufú (Chubut) a partir del análisis de muestras colectadas el 31 de Agosto y 2 de Septiembre de 2010 en la cuenca baja del río Futaleufú, tomando muestras perifíticas y epilíticas de las estaciones del plan de monitoreo provincial. Del análisis microscópico preliminar de las muestras resultaron positivas en cuanto a la presencia de *D. geminata*, las muestras correspondientes a las estaciones Piedra del Inglés en el Río Futaleufú (Lat. 43° 10' 44,9" S – Long. 71° 39' 07,7" O) y Puente Río Futaleufú (Lat. 43° 10' 04,3" S - 71° 44' 15,6" O). Las muestras analizadas de estos dos sitios presentaron sólo algunas células sueltas y sin pie de fijación al sustrato, dentro de una floración de *Gomphoneis minuta* (otra especie de diatomea). El 7 de Septiembre se detectaron floraciones de *Gomphoneis minuta* en las cercanías de la estación "Piedra del Inglés" tanto en sustratos vegetales vivos (macrófitas) como también en sustratos vegetales muertos (troncos hundidos), ya que este sitio no presenta un sustrato rocoso. *Didymosphenia geminata* fue encontrada en la estación Puente del R. Futaleufú formando una floración mixta con *Gomphoneis minuta* en parches superpuestos.

4. PROBLEMA

El gobierno de los Estados Unidos, a través de la U.S.EPA (Spaulding & Elwell, 2007) plantea que hay un consenso global por parte de la comunidad científica y los encargados de la gestión de medio ambiente sobre los problemas y riesgos causados por la especie *Didymosphenia geminata*. Sus características relevantes para sostener esta afirmación son:

- es la única diatomea bentónica que exhibe a un comportamiento invasivo a escala global.
- es una especie capaz de producir extraordinaria cantidad de mucopolisacáridos extracelulares.
- su proliferación tiene un impacto significativo en el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos, alterando la estructura de las cadenas alimentarias y las características hidráulicas de ríos y arroyos.
- es un organismo que ha expandido su rango de tolerancia ecológica
- produce un potencial impacto significativo en las economías regionales y nacionales afectando el turismo, las pesquerías y la industria hidroeléctrica.
- se carece de conocimientos básicos acerca de su biología y ecología..

En 2006, en la **Special Session on *Didymosphenia geminata*** de la **Western Division American Fisheries Society Meeting**, Biosecurity de Nueva Zelanda señaló que el impacto económico causado por *Didymosphenia* fue de NZ \$57– 285 million en 8 años. Estos impactos estuvieron relacionados con pérdidas en la pesca comercial, suministros de agua y turismo.

Actualmente la especie tiene una cobertura espacial cada vez mayor y una persistencia temporal muy marcada. Por otra parte, hasta hace poco tiempo estaba restringida a aguas con bajos contenidos de nutrientes, pero ahora ocurre también en ríos y arroyos con mayor concentración de nutrientes. En muchas regiones de América del Norte produce crecimientos bentónicos dañinos que pueden alcanzar hasta 1 km y persistir durante varios meses al año.

Su agresividad y generación de problemas está ligada a su capacidad de expansión y colonización de nuevos sitios. Los mecanismos de expansión de *D. geminata* a nuevas cuencas no son del todo conocidos. En trabajos recientes se muestra la capacidad de esta diatomea de sobrevivir fuera del agua, lo que constituye un potencial vector de dispersión (Spaulding & Eldwell, 2007). Estos autores señalan que las células pueden permanecer viables en condiciones frescas, húmedas y oscuras por lo menos por 40 días. Los equipos de pesca como waders de neoprene y suelas de fieltro proveen condiciones para que la especie se mantenga viable. Al mismo tiempo los destinos de los pescadores se han expandido y es común que se trasladen a destinos múltiples y distantes.

Los pedúnculos de *D. geminata* son resistentes a la degradación en los arroyos. En Colorado, EE UU, se ha observado que persisten hasta 2 meses luego de los picos de crecimiento (Spaulding & Elwell, 2007). Además, estas masas atrapan sedimentos finos y cambian la naturaleza de los sustratos naturales modificando las comunidades algales y de macroinvertebrados.

i. ¿Tiene implicancias para la salud?

Hasta el presente no se ha reportado que la especie sea perjudicial para el agua de bebida aunque puede generar problemas de malos olores y sabores. También ha habido quejas de nadadores de picazón de ojos luego de nadar aguas abajo de zonas con *Didymosphenia*.

ii. ¿Produce perjuicios a la pesca?

Sí. Pueden provocar un impacto físico por irritar y obturar las agallas de los peces. También pueden reducir el hábitat de los salmónidos, ya sea directamente por reducir la posibilidad de desplazamiento del pez o por limitar la cantidad de invertebrados de los que se alimentan. Las matas además provocan la reducción del flujo de agua y su descomposición puede provocar anoxia.

iii. Otros perjuicios

Las tomas de agua para uso doméstico o acuicultura muchas veces se taponan con las matas y las otras algas que viven asociadas.

También la estética de los lugares se ve afectada, ya que las matas pueden alcanzar 3 cm de espesor y hasta 20 km de extensión, cubriendo prácticamente todo el cauce.

iv. ¿Cómo se combate?

Lo único que se puede hacer es implementar medidas de control y de frenado de la expansión de la plaga.

Dada la situación crítica generada por la especie en Nueva Zelanda, este país es modelo de cómo encarar el problema. El departamento de Bioseguridad de Nueva Zelanda ha modificado su reglamento y desde hace algunos años se prohíbe el ingreso de zapatos con suela de fieltro al país. Además, personal de aeropuerto brinda un tratamiento de desinfección a todos los equipos aunque estén completamente secos por dentro y por fuera. Otra alternativa planteada es hervir y congelar los zapatos de los extranjeros y someterlos posteriormente al mismo proceso de desinfección. Además el gobierno de Nueva Zelanda recomienda a los habitantes locales comprar botas con suela de goma, para evitar la propagación de esta y otras plagas.

<http://www.biosecurity.govt.nz/pests/didymo/cleaning-specific>

<http://www.biosecurity.govt.nz/pests/didymo/cleaning/check-clean-dry-dvd>

En América del Sur, Chile es el país más avanzado en cuanto al control. Tal como se señaló anteriormente hay regiones declaradas como áreas de plaga y se han establecido recomendaciones de desinfección de los equipos de pesca y navegación tales como:

-Antes de dejar el río o lago, revisar cuidadosamente el bote y el equipo y remover toda la vegetación, barro y algas adheridas, teniendo mucho cuidado de revisar lugares ocultos. Lo que saque no arrojarlo al suelo sino a la basura.

- Sacar toda el agua del bote y dejarlo al sol para que se seque completamente
- Tratar el equipo y remojar y lavar con un cepillo por lo menos un minuto en una de las posibles siguientes soluciones:

Agua caliente a 60 °C

Solución al 2% de hipoclorito de sodio (A 200ml de lavandina agregar 10 litros de agua)

Solución al 5% de sal

Solución al 5% de un antiséptico de manos (povidona yodada)

Solución al 5% de lavavajillas líquido biodegradable

Una vez usadas, las soluciones NUNCA deben ser vertidas al ambiente.

5. SITUACIÓN EN ARGENTINA

La Provincia de Chubut lleva adelante un “Plan Provincial de Prevención y Monitoreo de *Didymosphenia geminata*” a través del Ministerio de Ambiente y Control del Desarrollo Sustentable en forma conjunta con la Secretaría de Pesca, la Secretaría de Turismo, la Reserva de Biósfera Andino Norpatagónica y la Administración de Parques Nacionales. Esta provincia ha organizado talleres informativos para guías de pesca, guardaparques, guarda faunas, guías de turismo, prestadores turísticos (propietarios y administradores de cabañas, campings, complejos turísticos, agencias, informantes turísticos, etc.).







i. Medidas preventivas propuestas en la provincia de Chubut

Se han tenido en cuenta las recomendaciones internacionales en relación a las medidas preventivas para la dispersión de la especie: desinfección de embarcaciones, indumentaria y equipos de pesca con soluciones de preparación sencilla como agua con lavandina al 2%, agua con sal al 5% o agua caliente por encima de los 60°.

Los administradores de campings, cabañas y alojamientos turísticos deberán disponer de los elementos necesarios para permitir que los pescadores realicen la desinfección de sus equipos en sus predios y se solicitará también la colaboración a las oficinas de información turística y toda aquella institución relacionada con la pesca para la difusión de estas recomendaciones.

El Plan de Prevención contempla también la instalación de equipos de desinfección en los Pasos Internacionales Futaleufú y Palena para lo cual se contará con la colaboración de la Gendarmería Nacional Argentina.

Ejemplos de afiches

Por favor colabore cumpliendo las siguientes indicaciones:		<i>Didymosphenia Geminata</i> puede producir grandes floraciones, cubriendo el fondo de nuestros ríos y lagos, alterando así la cadena alimentaria de las poblaciones de peces y todo el ecosistema.
1 RETIRAR restos de vegetación, barro, algas, sedimento y agua de los equipos y embarcaciones antes de abandonar lagos y ríos.		2 REMOJAR todo lo que estuvo en contacto con el agua durante al menos un minuto en un recipiente de agua con lavandina utilizando un vaso de lavandina (200 ml) cada 10 litros de agua (un balde doméstico), o dos vasos de sal cada 10 litros de agua o en agua caliente por encima de 60°.  Los equipos que absorban agua (chalecos salvavidas, botas de vadeo, waders) deben dejarse en remojo al menos 30 minutos para asegurar su limpieza. REALIZAR LA DESINFECCIÓN EN UN ÁREA URBANA EVITANDO DESECHAR LA SOLUCIÓN UTILIZADA EN EL AMBIENTE NATURAL
		3 SECAR si la limpieza no es posible, dejar secar totalmente los equipos al sol y esperar 48 hs. antes de volver a usar.  De este modo usted colabora con el "Plan de Prevención y Monitoreo de <i>Didymosphenia geminata</i> y evita la llegada de esta especie al país.
		

Ayúdenos a proteger nuestros ambientes acuáticos de organismos invasores



Entre los organismos peligrosos que pueden introducirse en Argentina, se encuentran: el alga *Didymosphenia geminata* originaria del hemisferio norte, el caracol de barro *Potamopyrgus antipodensis* nativo de Nueva Zelanda y el protozoo Europeo *Myxobolus cerebralis* que provoca la letal enfermedad del torneo en peces. La llegada de cualquiera de ellos produce grandes impactos en nuestras poblaciones de peces.



Atención:

sus waders, botas de vadeo y embarcaciones pueden transportar accidentalmente organismos microscópicos invasores, por favor límpielos usando los siguientes métodos:

- Chequear: antes de abandonar el río o lago retirar cuidadosamente restos de algas y sedimentos adheridos a los equipos y embarcaciones. Si encuentra restos después de haberse retirado, extraerlos y posteriormente depositarlos en la basura, no en los desagües domiciliarios.
- Limpiar: remojar y fregar todo lo que estuvo en contacto con el agua por lo menos durante un minuto en cualquiera de las siguientes soluciones:
Lavandina al 2% (un vaso pequeño o 200 ml en 10 litros de agua), o en
Sal al 5% (50 gr de sal en 10 litros de agua), o en
Detergente al 5% (dos vasos pequeños o 500 ml en 10 litros de agua), o
Remojar en agua muy caliente por encima de 60 °C.
- Los equipos que absorban agua (chalecos salvavidas, botas de pescador, waders) deben dejarse en remojo al menos 30 minutos, en algunas de estas soluciones, para asegurar su limpieza.
- Secar: esta opción debe practicarse solo si la limpieza no es posible. El secado solo es efectivo si el material queda totalmente seco, esto se logra si no se advierte humedad al tacto, por dentro y fuera. Una vez secos los equipos se debe dejar pasar al menos 48 hs antes de volver a utilizarlos.



RESERVA DE BIÓSFERA
Andino Norpatagónica
ARGENTINA



Los pescadores que ingresan del extranjero deben utilizar únicamente waders y botas de vadeo nuevas.

ii. Otras Provincias Patagónicas:

Dada la importancia y lo novedoso del tema la generación de información disponible es muy dinámica y se suma permanentemente. A partir de la búsqueda bibliográfica a través de Internet se observa una gran preocupación en todas las provincias patagónicas. Entre otros, los portales de asociaciones de pescadores ofrecen información detallada y acorde sobre el tema.

Asimismo, se encuentran informes sobre la problemática (Buria, 2010) y algunos planes de acción como el elaborado por la Municipalidad de Aluminé y Defensa civil para evitar el ingreso de *Didymosphenia* a la región (Municipalidad de Aluminé, 2010).

III. CONSIDERACIONES PARTICULARES

En vista de expuesto en el apartado anterior se concluye que en el área bajo la jurisdicción de la AIC, el muestreo debería realizarse en los distintos cuerpos de agua (vertientes, arroyos, ríos y lagos) de la zona, durante enero-febrero efectuando muestreos de tipo multihábitat y de plancton en cada sitio.

Sería deseable poder monitorear cualquier río que pudiera tener interés o ser posible sitio problema, pero considerando cuestiones de relación costo/beneficio debe comenzarse por aquellos sitios de alto uso y con alta probabilidad de instalación y desarrollo de la especie. Esto comprende cuencas, tributarios y ríos que provean hábitats adecuados para la especie y/o que sean utilizados con fines recreacionales y comerciales.

De acuerdo con el tipo de ambiente se ajustarán detalles metodológicos pero siguiendo un mismo patrón general de tareas:

El muestreo multihábitat propuesto abarca todos los sustratos y todas las situaciones en una misma muestra para cada sitio.

La condición de especie invasora implica mantener los máximos recaudos en la ejecución de las tareas y mantener la limpieza del operario y todo su instrumental con el objeto de evitar la contaminación tanto entre las muestras como de los sitios y evitar la diseminación de la especie.

La importancia del conocimiento del grado de invasión y de la ejecución del mapa de tiempo cero requiere la obtención de muestras por duplicado. (Réplicas de resguardo de las muestras).

Los resultados obtenidos en esta primera etapa permitirán ajustar las estrategias futuras de muestreo.

PAUTAS PARA LA SELECCIÓN DE LOS SITIOS DE MUESTREO

Para la selección de sitios de muestreo deben considerarse las actividades humanas, la factibilidad de que la especie pueda llegar, instalarse y desarrollarse, la fácil accesibilidad y el valor socio-cultural del sitio.

Se entiende por **sitio** a un tramo de río o de orilla de lago. Se asume que los sitios con más riesgo de contaminación son aquellos puntos de acceso público.

El muestreo regional debe hacerse desde aguas arriba hacia aguas abajo en la cuenca

En cada sitio el muestreo debe hacerse aguas abajo del punto de acceso

Preferentemente localizar el sitio con GPS, en caso de no contar con el instrumental, establecer en el mapa las referencias inequívocas para poder acceder nuevamente al sitio.

IV. DESARROLLO DEL MUESTREO

Por favor leer cuidadosamente el presente documento antes de comenzar el programa de muestreo a fin de asegurar haber comprendido los protocolos de muestreo y desinfección.

Se recomienda que el muestreo lo hagan dos personas como mínimo, una que entre al agua (“Colector húmedo) y la/s otra/s que se mantengan fuera (“Colector seco”) siguiendo las normas de Nueva Zelanda (Hicks et al. 2007).

El muestreo consiste en una serie de pasos a realizar para cumplir con los diferentes requisitos del monitoreo (identificación, localización, mapeo de distribución, evaluación de avance y riesgo).

Tanto los datos de campo como los químicos y biológicos podrán ser volcados en una Sistema de Información Geográfica (SIG) que permitirá realizar mapas de riesgo y seguimiento de la especie en el área afectada.

Para cada sitio de muestreo deben cumplirse los siguientes pasos:

- 1-Localización y fotografía de los sitios para asegurar el seguimiento de la colonización (Planillas 1)
- 2- Caracterización de los sitios de muestreo (Planillas 2 y 3)
- 3- Toma de muestras biológicas (Diatomeas): muestra multihábitat y de fitoplancton (Planillas 4).
- 4- Toma de muestras para análisis químicos

Protocolo 1- Localización y fotografía de los sitios para asegurar el seguimiento de la colonización

1. OBJETIVOS

Asegurar la ubicación exacta de los puntos de muestreo y facilitar el seguimiento de la dinámica de colonización de la especie.

2. DEFINICIONES

Sitio: cualquier tramo de río o tramo de orilla de lago. La longitud del "sitio" es variable, pero debe abarcar las zonas con distintos tipos de sustrato y debe ser de fácil acceso. Se sugiere entre 50 m y 100 m aproximadamente de longitud, dependiendo de las condiciones del río.

Colector seco: aquella persona que no ingresa en el agua y por lo tanto no será un posible dispersor de la especie.

3. APARATOS/EQUIPAMIENTO

Mapa
GPS
Planillas de campo
Lápiz
Cámara fotográfica

Sólo para caso de necesidad por no poder acceder al sitio vía terrestre:

Botas de goma
Waders
Guantes descartables
Elementos de limpieza según las medidas de seguridad

4. MEDIDAS DE SEGURIDAD/PRECAUCIÓN

El trabajo será realizado por el "COLECTOR SECO". Para esta actividad no debe ingresarse al cuerpo de agua por lo tanto no será necesario el uso de waders. Sólo en caso de que no pueda llegarse al sitio por vía terrestre, el colector podrá ingresar al agua con waders y deberá seguir entonces las medidas de seguridad planteadas para el colector húmedo.

5. MÉTODOS

Los sitios de muestreo deberán ubicarse con GPS, la medida debe darse en latitud y longitud y debe precisarse marca del aparato y exactitud. Los puntos de GPS deben bajarse a la computadora utilizando el programa DNGARMIN (de distribución gratuita).

Precisar la forma de acceso a los lugares mediante mapa detallado de caminos y sendas. Asimismo, documentar fotográficamente los sitios.

Es conveniente elegir sitios cuya localización posterior sea fácil, es decir que tengan algún punto de referencia tales como puentes, caminos, etc.

Si la ubicación del sitio propuesto por la referencia del mapa, GPS o descripción del sitio no fuera adecuado, se cambia de sitio por uno de acceso más fácil, siempre y cuando no haya afluentes importantes entre el sitio propuesto y el nuevo sitio.

Abarcar un tramo inmediatamente aguas abajo de los puntos de acceso público, ya que se considera que esos sitios tienen mayor probabilidad de infestación por *Didymosphenia*.

Dado que el sitio se selecciona a priori, su ubicación y coordenadas GPS son definidas en un mapa y volcadas en las planillas en los casilleros sombreados en gris. Luego en el campo deberán volcarse en las planillas los datos de GPS para precisar la ubicación y registrar las coordenadas exactas. Dada la longitud del tramo deben indicarse las coordenadas de ambos extremos.

Si el sitio no es adecuado para el muestreo, igualmente completar el formulario.

En caso de una revisita, si el sitio resulta inadecuado en la ocasión, anotar las causas (aumento de nivel, velocidad de corriente, etc.)

Cada lugar deberá contar con su código de identificación para la consideración en el mapa general.

6. PLANILLAS

De los datos que se solicitan en las planillas, aquellos sombreados en gris se completan en el gabinete antes de salir al campo. El mismo encabezamiento se repetirá en planillas subsiguientes.

1.R. LOCALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN GENERAL. RÍOS Y ARROYOS

1.L. LOCALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN GENERAL. LAGOS Y LAGUNAS

Protocolo 2- Caracterización de los sitios de muestreo.

1. OBJETIVOS

Obtener una descripción completa del sitio para poder extrapolarlo en el análisis posterior de la cuenca y conocer las condiciones de hábitat para *Didymosphenia*. Consiste en realizar una descripción de la morfometría, tipo de sustratos disponibles, porcentaje de cobertura de macrófitas, sombra y presencia de plantas caducifolias, existencia de rápidos y remansos, etc.

2. DEFINICIONES

Sitio: es cualquier tramo de río o tramo de orilla de lago. La longitud del "sitio" es variable, pero debe abarcar las zonas con distintos tipos de sustrato y debe ser de fácil acceso. Se sugiere entre 50 y 100 m de longitud, dependiendo de las condiciones del río.

Coleктор seco: aquella persona que no ingresa en el agua y por lo tanto no será un posible dispersor de la especie.

Coleктор mojado: aquella persona que ingresa al agua y por lo tanto será un posible dispersor de la especie, por lo que deberá tener en cuenta rigurosamente las medidas de limpieza y desinfección.

Elementos de limpieza: son todos los elementos necesarios para limpiar y desinfectar todo el instrumental y vestimenta utilizados en el muestreo con el objetivo de evitar la dispersión de la especie.

Lugar seguro: cuando la velocidad del agua (m / s) x la profundidad (m) es inferior a 1.

3. APARATOS/EQUIPAMIENTO

i. Para el muestreo

Mapa

GPS

Planillas de campo

Lápiz

Cinta métrica

Varilla graduada para medir profundidad

Correntímetro o en su defecto usar método de las naranjas y para ello naranjas (4 por sitio) Cronómetro.

Termómetro

Conductivímetro

pHmetro

oxímetro

Guantes descartables (como mínimo un par por operario para cada sitio)

Botas de goma

Waders (2), preferentemente de goma en lugar de neoprene y con suela de goma para reducir el traslado de la especie de un sitio a otro.

Disco de Secchi

ii. Para descontaminación del equipo

Rollos de toallas de papel

Varios litros de agua potable (calcular 12 litros por sitio de muestreo)

Pulverizador para limpiar waders y equipo con la solución de cloro (lavandina) al 2%. Se ha visto que la exposición por más de 1 minuto, mata las células de *Didymosphenia*. Llevarla preparada.

Bolsas de basura para el material utilizado

Contenedor de plástico grande con tapa segura para guardar objetos húmedos no descartables cuando no estén en uso y durante el transporte.

Recipiente grande con tapa para el baño de pies.

Jarra de medición para medir 200 ml de lavandina, que equivale a un vaso de lavandina.

Balde de 10 L para la preparación de blanqueador al 2%.

Botella de 5 L de lavandina de uso doméstico que contenga hipoclorito de sodio e hidróxido de sodio. Sin embargo, ningún cloro que contenga menos de 31,5 g / l de hipoclorito de sodio es aceptable. Compruebe que el utilizado no esté vencido.

Cepillo de fregado (mango de plástico con plástico de gran espacio cerdas) para ayudar en la aplicación de la solución de lavandina a todos los elementos.

Toallitas descartables con cloruro de benzalconio como ingrediente activo (ej. Ayudin o Espadol).

4. MEDIDAS DE SEGURIDAD/PRECAUCIÓN

El trabajo será realizado mayoritariamente por el "COLECTOR SECO". Para esta actividad no debe ingresarse al cuerpo de agua por lo tanto no será necesario el uso de waders. Sólo en caso de que no pueda llegarse al sitio por vía terrestre, el colector podrá ingresar al agua con waders y deberá seguir entonces las medidas de seguridad planteadas para el colector húmedo.

Las medidas de aquellos parámetros que requieran el ingreso al cuerpo de agua serán realizadas por el COLECTOR MOJADO

Seguridad del operario: las muestras sólo deben ser tomadas en **lugares seguros** para el operario.

Preparar en el balde de 10 L la solución de lavandina al 2% utilizando la jarra de medición: 200 ml de lavandina en 9,8 litros de agua.

En un recipiente grande poner la solución de lavandina y desinfectar por lo menos durante un minuto todos los elementos utilizados que hayan estado en contacto con el agua. Use cepillo para fregar las superficies, según sea necesario.

Baño de pies: en el mismo recipiente grande desinfectar las botas estando de pie.

Rociar con el pulverizador los waders y equipos y cepillar para ayudar en la aplicación de la solución.

Almacenar en el contenedor de plástico grande con tapa segura todos los utensilios mojados.

Colocar en la bolsa de residuos todos los elementos descartables utilizados.

Desinfectar las manos y los brazos utilizando toallitas descartables con cloruro de benzalconio como ingrediente activo.

Descartar el agua de lavado en el suelo en un área alejada al sitio de muestreo, no en el cuerpo de agua.

Es muy importante que todas estas precauciones de higiene se sigan cuidadosamente, después de ingresar al agua en cada sitio, tanto para prevenir la propagación de *Didymosphenia* de una cuenca a otra como para reducir al mínimo la posibilidad de contaminación de muestras con células vivas o muertas que puedan dar lugar a falsos positivos.

5. MÉTODOS

i. Ríos y arroyos: Planillas 2.R. y 3.R.

Para cada punto de muestreo se deberán completar dos planillas en las que se recogerá información sobre la estructura general del tramo y su nivel de antropización. En la primera (planilla 2) se caracteriza el sitio. En la segunda (planilla 3) se establece una escala cuantitativa para caracterizar y evaluar el hábitat. Estas planillas **requieren la unificación de criterios entre los distintos operarios del muestreo debido a que se utilizan algunas valoraciones subjetivas.** Las planillas 3 servirán para obtener un Índice del Valor del hábitat (IVH), basado en los principios utilizados por la EPA (USA) en los monitoreos de integridad biótica y modificados específicamente para la interpretación y evaluación del estado de situación de *Didymosphaenia* en la región.

Para el llenado de las planillas se realizan estimaciones visuales o transectas cuantitativas de determinación del porcentaje de cobertura de cada tipo de sustrato y la abundancia relativa estimada de macrófitas, algas macroscópicas y otras acumulaciones de algas microscópicas u otra biota. Asimismo, se incluyen en ellas mediciones de parámetros físicos y químicos in-situ: velocidad de corriente, profundidad, temperatura, transparencia, conductividad, pH, y oxígeno disuelto del agua etc.

Esto permitirá encuadrar los resultados obtenidos sobre las algas en un marco más general. Así también se obtendrá información adicional que permitirá evaluar las características de los tramos en los que pudiera

encontrarse la especie, aportar a la biología de la especie y dar la alerta sobre los sitios potencialmente en riesgo por cumplir con los requisitos de colonización.

ii. Lagos y lagunas: Planillas 2.L. y 3.L.

Para cada punto de muestreo se deberán completar dos planillas en las que se recogerá información sobre la estructura general del tramo de orilla y su nivel de antropización. En la primera (planilla 2) se caracteriza el sitio. En la segunda (planilla 3) se establece una escala cuantitativa para caracterizar y evaluar el hábitat. Estas planillas **requieren la unificación de criterios entre los distintos operarios del muestreo debido a que se utilizan algunas valoraciones subjetivas.** Las planillas 3 servirán para obtener un Índice del Valor del hábitat (IVH), basado en los principios utilizados por la EPA (USA) en los monitoreos de integridad biótica y modificados específicamente para la interpretación y evaluación del estado de situación de *Didymosphaenia* en la región.

Para el llenado de las planillas se realizan estimaciones visuales cuantitativas de determinación del porcentaje de cobertura de cada tipo de sustrato y la abundancia relativa estimada de macrófitas, algas macroscópicas y otras acumulaciones de algas microscópicas u otra biota. Asimismo, se incluyen en ellas mediciones de parámetros físicos y químicos in-situ: profundidad, temperatura, transparencia, conductividad, pH, oxígeno disuelto del agua, etc.

Esto permitirá encuadrar los resultados obtenidos sobre las algas en un marco más general. Así también se obtendrá información adicional que permitirá evaluar las características de los tramos de orilla en los que pudiera encontrarse la especie, aportar a la biología de la especie y dar la alerta sobre los sitios potencialmente en riesgo por cumplir con los requisitos de colonización.

6. PLANILLAS

2.R DATOS DE CAMPO DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y CALIDAD DEL AGUA. RÍOS	Y
ARROYOS	
2.L. DATOS DE CAMPO DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y CALIDAD DEL AGUA. LAGOS	Y
LAGUNAS	
3.R. EVALUACIÓN EN CAMPO DEL HÁBITAT EN RÍOS Y ARROYOS	
3.L. EVALUACIÓN EN CAMPO DEL HÁBITAT EN LAGOS Y LAGUNAS	

i. Consideraciones para el llenado de las planillas 2 (R y L)

Cuerpo de agua: se refiere a cualquier sistema acuático superficial, tanto léntico (lago, laguna, charca, etc.) como lótico (río, arroyo, vertiente, etc.)

Vegetación riparia: consiste en la vegetación terrestre adyacente al cuerpo de agua hasta una distancia variable. Puede ser notoriamente diferente a la vegetación aledaña (bosque, monte, sembrado, etc.) es decir específicamente relacionada al cuerpo de agua (lago, río, arroyo, etc.), o mantener la misma fisonomía que el ambiente terrestre general.

Altura de evidencia de inundación reciente: se refiere a la apreciación directa de cuál es el nivel del agua máximo que recientemente parece haber alcanzado el cuerpo de agua, respecto al nivel actual. El objetivo de esta medición es conocer si el cambio del nivel del agua ha sido ascendente o descendente y si los sustratos han estado expuestos al aire o, por el contrario, sumergidos en el agua a mayor profundidad que la actual, aproximadamente en el término de los 30 días previos al día de muestreo. Ese nivel puede ser que corresponda a una crecida ordinaria o extraordinaria. Se registra por desgaste en la vegetación, restos vegetales depositados fuera del cuerpo de agua, etc. Se mide como distancia vertical en metros respecto al pelo de agua.

Vegetación acuática: las macrófitas son aquellas plantas vasculares que viven en el agua y pueden ser arraigadas y emerger del espejo de agua (ej. junco), estar completamente sumergidas (ej. cola de zorro) o no ser arraigadas y flotar libremente en la superficie del agua formando "carpetas". Las algas macroscópicas son aquellas que pueden verse a simple vista como cabelleras, almohadillas, etc. De acuerdo al color y al aspecto mucilaginoso pueden verse en forma semejante a las colonias de *Didymosphenia*.

Color por compuestos polifenólicos: se trata de color semejante al del té, desde claro hasta oscuro. Se distingue de la turbidez porque poniendo la mano en el agua se percibe el color pero el agua es transparente

Componentes inorgánicos y orgánicos del lecho: el porcentaje se evalúa en función de la cobertura de cada uno de los elementos. La suma total es de 100%

MOPG: materia orgánica particulada gruesa

MOPF: materia orgánica particulada fina

ii. Consideraciones para el llenado de las planillas 3 (R y L)

Evaluación del hábitat. Estas planillas permite obtener un valor numérico estimativo de la calidad de sitio muestreado. Las categorías de óptimo a pobre no se refieren a los requisitos de *Didymosphaenia*, sino que se refieren a valoración de calidad del hábitat. Estos valores permitirán establecer a posteriori los valores de preferencia del alga tanto totales (índice de valoración del hábitat) como también para cada uno de los ítems o parámetros.

Disponibilidad de hábitat para la epifauna: Se refiere en calidad de óptimo a la mayor variabilidad de sustratos y espacios de carácter estable para la colonización por invertebrados y distintos organismos dentro de la cadena trófica, y por lo tanto también óptimo para refugio y alimento de peces. A medida que el sitio es más inestable ofrece menor disponibilidad de hábitats.

Protocolo 3- Toma de muestras biológicas (Diatomeas) sobre sustrato duro: Muestra multihábitat

1. OBJETIVOS

El objetivo es obtener organismos algales de todos los sustratos y hábitats disponibles para discriminar la presencia de *Didymosphenia geminata* en los ambientes acuáticos de la región.

Para cumplirlo se deben tomar muestras multihábitat en cada sitio de muestreo.

Para el monitoreo de esta especie en Nueva Zelanda se recomienda tomar tres tipos de muestra, una muestra visual, que incluye cualquier crecimiento algal que resulte sospechoso de corresponder a la especie, una muestra bentónica, que es la integración de 5 transectas tomando 5 piedras en cada una, y una muestra de red. En estos protocolos la muestra multihábitat cumple los objetivos de las muestras visual y bentónica. En el protocolo 4 se considera la obtención de la muestra de red.

2. DEFINICIONES

Muestra multihábitat: es una muestra semicuantitativa del total del perifiton que caracteriza las algas asociadas a todos los sustratos de un sitio, representados en diferentes situaciones (pozas, aguas corrientes, luz, sombra, etc.). Está destinada a identificar la presencia de *Didymosphenia geminata* en el sitio, pero no pueden utilizarse para estimar su abundancia. En un solo frasco se reúnen las algas recolectadas en todos los hábitats del sitio de muestreo.

3. APARATOS/EQUIPAMIENTO

i. Para el muestreo

Planillas de campo.

Lápiz.

Marcador indeleble.

Guantes descartables, varios pares por cada sitio.

Guantes largos para examen de vaca para usar debajo de los guantes cortos (sujételos a su cuello, por ejemplo con tiradores elásticos o mediante ligas, para evitar que se muevan hacia abajo y llegue a entrar el agua en ellos)

Pueden adquirirse en una veterinaria local.

Botas de goma.

Waders. Preferentemente de goma en lugar de neoprene y con suela de goma para reducir el riesgo de traslado de la especie de un sitio a otro.

Toallas de papel.

Tijeras.

Fijador: utilizar formol comercial (Formaldehído al 40%). Con gotero colocar una proporción de 4 o 5 gotas en una muestra de 100 ml, de acuerdo a la concentración de material. Si abundan las algas filamentosas puede llegar a agregarse hasta 7 gotas.

Recipiente para recoger raspados, por ejemplo, contenedores de 2 litros, preferentemente bandejas de plástico

Pizeta con agua potable.

Un cuchillo o navaja de metal para raspar superficies.

Un contenedor para el guardado y transporte de las muestras obtenidas.

Una bolsa Ziploc grande conteniendo el quit completo de elementos para cada sitio:

Frascos de 125 ml de boca ancha: 4 por sitio. Se destinaran 2 a la muestra multihabitat y los otros 2 a la muestra de fitoplancton descrita en el Protocolo 4.

Raspadores de madera descartables (2, tipo palito de helado).

Bolsas Ziploc pequeñas (2).

Pipetas descartables para el lavado de las rocas (2).

Guantes de goma cortos (2 pares).

Guantes de goma largos (2 pares).

Toallas de papel de cocina (3).

Etiquetado: Antes de ir al campo preparar para cada estación de muestreo y etiquetar la bolsa Ziploc grande conteniendo el quit completo de elementos para cada sitio. Rotular también los frascos y bolsas pequeñas. Las etiquetas deben incluir: Código de muestra y Colector.

ii. Para descontaminación del equipo

Rollos de toallas de papel.

Varios litros de agua potable (calcular 12 litros por sitio de muestreo).

Pulverizador para limpiar waders y equipo con lavandina al 2%. Se ha visto que la exposición por más de 1 minuto, mata las células de *Didymosphenia*. Llevarla preparada.

Bolsas de basura para el material utilizado.

Contenedor de plástico grande con tapa segura para guardar objetos húmedos no descartables cuando no estén en uso y durante el transporte.

Recipiente grande con tapa para el baño de pies.

Jarra de medición para medir el cloro (lavandina) de 200 ml.

Balde de 10 l para la preparación de blanqueador al 2%.

Botella de 5 l de lavandina de uso doméstico que contenga hipoclorito de sodio e hidróxido de sodio. Sin embargo, ningún cloro que contenga menos de 31,5 g / l de hipoclorito de sodio es aceptable. Compruebe que el utilizado no esté vencido.

Cepillo de fregado (mango de plástico con plástico de gran espacio cerdas) para ayudar en la aplicación de una solución de lavandina a todos los elementos.

Toallitas descartables con cloruro de benzalconio como ingrediente activo.

iii. Para la separación de diatomeas sobre macrófitas (en laboratorio)

Portaobjetos.

Cubreobjetos.

Pinzas.

Espátula de goma.

Cajas de Petri o pequeñas cajas.

Frascos para muestras.

4. MEDIDAS DE SEGURIDAD/PRECAUCIÓN

El trabajo será realizado por ambos colectores. El “COLECTOR SECO no debe ingresar al cuerpo de agua por lo tanto no necesita utilizar waders, pero sí debe usar los guantes cortos descartables para manipular las muestras. Sólo en caso de que no pueda llegarse al sitio por vía terrestre, el colector podrá ingresar al agua con waders y deberá seguir entonces las medidas de seguridad planteadas para el colector húmedo.

Seguridad del operario: las muestras sólo deben ser tomadas en lugares seguros para el operario.

Preparar en el balde de 10 l la solución de lavandina al 2% utilizando la jarra de medición: 200 ml de lavandina en 9,8 litros de agua potable.

En un recipiente grande poner la solución de lavandina y desinfectar por lo menos durante un minuto todos los elementos utilizados que hayan estado en contacto con el agua. Use cepillo para fregar las superficies, según sea necesario.

Baño de pies: en el mismo recipiente grande desinfectar las botas estando de pie.

Rociar con el pulverizador los waders y equipos y cepillar para ayudar en la aplicación de la solución.

Almacenar en el contenedor de plástico grande con tapa todos los utensilios mojados.

Colocar en la bolsa de residuos todos los elementos descartables utilizados.

Desinfectar las manos y los brazos utilizando toallitas descartables con cloruro de benzalconio como ingrediente activo.

Descartar el agua de lavado en el suelo en un área alejada al sitio de muestreo, no en el cuerpo de agua.

Es muy importante que todas estas precauciones de higiene se sigan cuidadosamente, después de ingresar al agua en cada sitio, tanto para prevenir la propagación de *Didymosphenia* de una cuenca a otra como para reducir al mínimo la posibilidad de contaminación de muestras con células vivas o muertas que puedan dar lugar a falsos positivos .

i. Procedimiento general para la higiene del muestreo

1. Mantenga el equipo utilizado y los envases usados lejos de los nuevos o desinfectados y tomar medidas para asegurar que el agua no gotee sobre ellos.
2. Utilice un nuevo conjunto de material desechable en cada río o tributario o lago y coloque directamente en bolsa de basura todo lo descartable después del uso.
3. La inspección y muestreo en ríos y arroyos debe comenzar en el extremo aguas arriba del sitio.
4. Ambos colectores deben utilizar un par de guantes desechables para ayudar a reducir la posibilidad de contaminación cruzada entre los sitios.
5. Retire todo el material macroscópico de las manos, botas / waders, redes, equipos, etc. antes de retirarse de cada sitio.
6. Después de completar el muestreo en cada sitio, pulverización, inmersión y lavado con solución de lavandina al 2% (200 ml a 9,8 litros) todos los elementos potencialmente contaminados / waders, contenedores y equipos, etc. por lo menos durante un minuto bien lejos del agua.
7. Limpie los brazos y las manos con toallitas húmedas o similar con el cloruro de benzalconio como el ingrediente activo.

5. MÉTODOS

A. Observaciones generales sobre la metodología

El muestreo durará aproximadamente dos horas en cada sitio.

En los ríos, las muestras deben tomarse desde aguas arriba a aguas abajo (para evitar cualquier posibilidad de transferir *Didymosphenia*, si está presente, contra la corriente en un sistema).

Siga el orden de toma de muestras: inspección del sitio (Protocolo 2) y colocación de red de plancton (Protocolo 4) y luego toma de la muestra multihábitat (Protocolo 3)

Inspeccione el área de todo el sitio para identificar cualquier colonia de algas que se parezca a *Didymosphenia*. Revise las plantas sumergidas y restos de madera, así como piedras.

Asegúrese de recoger toda alga sospechosa de ser *Didymosphenia* en su muestra multihábitat.

Colecte todos los sustratos presentes provenientes de remansos, pozas y aguas corrientes en áreas que no superen los 0,7 m de profundidad.

Muestree todos los sustratos duros presentes en cada sitio:

Piedras o rocas.

Soportes duros artificiales (como por ejemplo, puentes, pilares, etc.).

Soportes vegetales tanto macrófitas como restos de vegetación terrestre con un tiempo de localización en el agua que permita el desarrollo de algas.

Y todas las zonas diferenciadas:

Pozas

Rápidos

Áreas con características particulares

Como condiciones generales se insiste en que es muy importante que se cubra un sector extenso del lugar de muestreo, ya que pueden darse diferencias respecto al grado de intervención humana, si el lugar está más transitado o no, si es de fácil acceso, etc. Debido a que la colonización puede darse en parches es prioritario que el operario realice su tarea buscando la máxima eficiencia y dando su mayor esfuerzo. Asimismo, es importante que asegure que su muestreo incluya sitios que han estado sumergidos anteriormente y no lo restrinja a franjas de la orilla que puedan tener poco tiempo de inmersión.

A continuación se especifica la metodología de obtención de la muestra respecto a los distintos tipos de sustrato. **Si se diferencian zonas de rápidos y de remansos debe repetirse la colección en cada una de estas zonas.**

La muestra, queda así constituida por el material sumado de lo que se encontró en el tramo, aunque no es condición que se mantenga la proporción según la cantidad relativa de cada sustrato. Se coloca en un frasco de boca ancha para su mejor manipulación, se fija *in-situ* con solución de formol 4 % y se homogeniza para dividirla en dos frascos. Una proporción de formol del 4% es, en general, suficiente, aunque debe ajustarse según la cantidad de materia orgánica que contenga la muestra.

B. Colector Húmedo

1. Muestreo sobre piedras o rocas

Tomar al azar unas 10 piedras provenientes de diferentes sectores de acuerdo a la variabilidad que se observe en el sitio, tomándose en cuenta la zona de aguas rápidas, las pozas, los sitios sombreados y con luz y los afectados por la vegetación ribereña. En el caso de los cantos rodados, evitar aquellos que evidencian justamente “rodar” y ser un mal sustrato debido a su movimiento.

Aunque en apariencia no haya presencia de algas, tomar muestras en todos los ríos y raspar todas las piedras.

2. Muestreo sobre soporte duro artificial

En ausencia de rocas adecuadas (lo que es habitual en grandes cursos de agua, ríos canalizados, etc.), realizar los muestreos sobre soportes duros artificiales como pilares de puentes, muelles, etc.

Raspar un área de aproximadamente 10 cm² y repetir la operación unas 3 o 4 veces, colectándolo en uno de los frascos o en una bolsa ziploc pequeña.

3. Muestreo sobre soporte vegetal

El soporte vegetal puede ser plantas emergentes o sumergidas.

Para la recolección de muestras en **plantas emergentes** (Helófitos) coleccionar hojas y porciones de tallos que no hubieran estado fuera del agua recientemente. Tomar cuatro o cinco porciones de unos 5 centímetros de largo. Para la recolección de muestras en **plantas sumergidas** (limnófitos) tener en cuenta que éstas presentan, a menudo, hojas delicadas y frecuentemente muy finamente divididas. Cortar 5 trozos de aproximadamente 10 cm de longitud. Cuanto más débil (menos desarrollado o evidente) sea el biofilm más porciones se necesitan. Introducir estas porciones en el frasco común de la muestra multihábitat. En el caso de que el volumen de tallos sea muy grande para ser colocado en el frasco multihábitat, usar la bolsa pequeña Ziploc a la que se agrega una mínima cantidad de agua y fijador.

Un tercer sustrato posible son **macroalgas**, que pueden presentar diferentes opciones. En el caso de talos complejos como las Charophyta tratarlas como las plantas sumergidas. En cambio, si se trata de algas filamentosas incluirlas directamente en el frasco multihábitat, eligiendo una cantidad adecuada (sin saturar el frasco) e incorporando los sectores epifitados o rodeados de sedimento.

C. Colector Seco

Completar la Planilla 4

Asegurar el correcto etiquetado de la bolsa Ziploc y su contenido con datos de código de sitio, la fecha y los tipos de muestras.

Ubicar en la bandeja las piedras recogidas y raspar su superficie con espátula de madera descartable a la vez que se vierte un fino chorro de agua de la red con un frasco lavador o pizeta. Se obtiene así una suspensión turbia u opaca, verde o marrón por la presencia de las algas. Esta suspensión constituye la muestra que se transfiere a uno de los frascos de boca ancha. Si el biofilm es muy delgado, utilizar una hoja de metal o cuchillo, en lugar de los raspadores de madera. **Aunque en apariencia no haya presencia de algas, raspar todas las piedras.**

En el caso de existencia de sustrato duro artificial, recibir el raspado realizado por el colector mojado e incorporarlo al frasco multihábitat. Como seguramente recibirá una bolsa ziploc llena de agua tendrá que dejarlo decantar, volcar el sobrenadante e incorporar un pequeño volumen de muestra al frasco general.

Homogeneizar la muestra obtenida y dividirla en dos frascos (submuestras a y b). También colocar en partes iguales entre los dos frascos los trozos de macrófitas. En el caso de que los trozos sean muy grandes para el frasco, mantener estos pedazos de macrófitas en la correspondiente bolsa Ziploc debidamente rotulada (que será subdividida en el laboratorio).

Colocar todas las muestras dentro de la correspondiente bolsa Ziploc grande.

Colocar todos los materiales descartables en la bolsa de basura.

D. En el laboratorio: separación de las diatomeas sobre macrófitas

Un sustrato posible son las **plantas emergentes** (helófitos) Las porciones de plantas recolectadas en el frasco o en la bolsa se rasparán en el laboratorio con un cubreobjetos o pequeña espátula de goma mientras se sujetan con una pinza. Hay que poner énfasis en que el raspado debe ser cuidadoso para no romper los pedúnculos.

En el caso de las **plantas sumergidas** (limnófitos) que a menudo presentan hojas delicadas y frecuentemente muy finamente divididas, que dificultan la obtención de algas por medio del raspado, las porciones de plantas se colocan directamente en un frasco con agua de la red. El frasco se agita enérgicamente al menos un minuto. El agua, antes clara, aparece turbia al haberse desprendido las algas epifitas. En el caso de que se observen a simple vista acúmulos de algas, estos serán separados de la planta mediante raspado o con una pinza de punta fina. Se extraen del frasco las plantas libres de algas y se transfiere el material algal obtenido al frasco común de la muestra multihábitat.

Un tercer sustrato posible son **macroalgas**, que pueden presentar diferentes opciones. En el caso de talos complejos como las Charophyta deben ser tratadas como las plantas sumergidas. En el caso de las algas filamentosas, éstas no requieren tratamiento especial.

Estos sustratos pueden llegar al laboratorio formando parte de las submuestras **a** y **b** o separadas, contenidos en bolsas Ziploc. En estos últimos casos el producto del raspado deberá ser dividido en partes iguales e incorporado en los frascos de las submuestras.

6. PLANILLAS

4.R. DATOS DE CAMPO ANEXOS A LAS MUESTRAS. RÍOS Y ARROYOS

4.L. DATOS DE CAMPO ANEXOS A LAS MUESTRAS. LAGOS Y LAGUNAS

Protocolo 4- Toma de muestras biológicas (Diatomeas) en etapas tempranas de colonización: Muestra de fitoplancton.

1. OBJETIVOS

El objetivo es obtener organismos algales de la masa de agua a fin de detectar la presencia de *Didymosphenia geminata* en una etapa temprana de colonización.

Para cumplirlo se deben tomar muestras de red en cada sitio de muestreo.

2. DEFINICIONES

Muestra de fitoplancton o de red: es el material filtrado de la columna de agua con red de plancton de abertura de malla de 24 a 30 μm de diámetro.

3. APARATOS/EQUIPAMIENTO

Planillas de campo.

Lápiz.

Marcador indeleble.

Guantes descartables, varios pares por cada sitio.

Botas de goma.

Waders. Preferentemente de goma en lugar de neoprene y con suela de goma para reducir el riesgo de traslado de la especie de un sitio a otro.

Red de plancton de abertura de malla de 24 a 30 μm de diámetro con frasco colector extraíble.

Varilla o poste para atar la red de deriva y elementos para conectarle la red.

Recipiente de plástico con tapa segura, para el transporte de la red húmeda con desinfectante, de un sitio a otro.

Frasco contenedor de la muestra de 125 ml de boca ancha. (2 frascos) que está contenido en la bolsa Ziploc grande del quit completo de elementos para cada sitiodescripto en el Protocolo 3.

Fijador: utilizar formol comercial (Formaldehído al 40%). Con gotero colocar una proporción de 4 o 5 gotas en una muestra de 100 ml, de acuerdo a la concentración de material. Si abundan las algas filamentosas puede llegar a agregarse hasta 7 gotas.

Toallas de papel.

Un contenedor para el guardado y transporte de las muestras obtenidas.

4. MEDIDAS DE SEGURIDAD/ HIGIENE

En el primer sitio, utilice la red nueva (sin limpieza previa requerida).

A partir del segundo sitio seguir el siguiente procedimiento para la descontaminación y limpieza de la red. **Es muy importante para reducir la posibilidad de falsos positivos.**

- antes de la toma de muestras, enjuague la unidad de muestreo y la red, en el río o lago para eliminar cualquier material visible atrapado en las grietas, colocando la red para limpiar el copo sin la unidad de muestreo, y permitiendo que el agua fluya a través de ella durante unos 5 minutos. Esto debería eliminar cualquier célula que siga atrapada desde el sitio anterior. En la descontaminación se han matado a las células, por lo que este procedimiento no implica una contaminación del lugar, pero hay que asegurar que ninguna de las células muertas restantes sean una fuente posible de un falso positivo.

- después de la toma de muestras, enjuagar la unidad de muestreo y la red separados en el río para eliminar cualquier material visible atrapado. Luego colocar la red lavada a la barra sin la unidad de muestreo, y permitir que el agua fluya a través de ella durante unos 5 minutos. Esto debería eliminar cualquier célula que pueda seguir atrapada en la red o las costuras.

- transferir las piezas de red y frasco colector separados a un contenedor con al menos 2% de lavandina y dejar durante unos 2 minutos. Asegúrese de que todas las partes de la red y frasco colector estén completamente sumergidas en la solución durante todo el tiempo de remojo.

- rocíe el poste de la inmovilización con una solución de lavandina al 2%.

-coloque todos los elementos húmedos desinfectados en un contenedor o bolsa de basura de plástico para su transporte al sitio siguiente.

- la desinfección con la solución de cloro debe realizarse en un lugar donde el contacto y / o eliminación de la solución utilizada no cause daños al medio ambiente, alejado del cuerpo de agua.

Al final de cada día de muestreo, revise visualmente todos los elementos potencialmente contaminados: botas, waders, ropa y equipo para asegurarse de que estén limpios, desinfectados, secos y listos para la siguiente inspección y muestreo.

5. MÉTODOS

A. Colector húmedo

Conectar el frasco colector, revisar que esté bien sujeto.

1. En ríos o arroyos

Conectar la red (por ej. con abrazadera o gancho "S", mosquetón o similar) a la barra de anclaje. Fijar el poste e inmovilizarlo en el lecho del río en un lugar adecuado (con flujo razonablemente rápido y ubicado hacia el centro del canal). Siempre tener en cuenta las consideraciones de seguridad: recordar que la velocidad (m / s) x la profundidad (m) debe ser <1. El poste de anclaje debe estar situado aguas arriba del área de muestreo multihábitat, para evitar incorporar materiales bentónicos a la red. La profundidad debe ser suficiente para que la parte superior de la apertura neta esté justo debajo de la superficie del agua. El objetivo de la colocación alta en la columna de agua es reducir la cantidad de arena y materia orgánica que pudiera haber a lo largo y por encima del lecho del río que entra en la red. Asegúrese de que no haya burbujas en la red y si el agua fluye rápidamente que la red esté lo suficientemente baja como para evitar la entrada de aire. *Importante:* la red debe contar con una soga suficientemente larga como para ser atada además en la orilla, para evitar su pérdida.

Dejar en el agua durante 10 minutos. Mientras que la red se despliega, puede empezar a completar la recolección de las muestras bentónicas, siempre y cuando queden aguas abajo de la red en todo momento. No camine delante de la red, ya que podría provocar el ingreso de células de *Didymosphenia* provenientes del bentos en la red generando falsos positivos.

Luego de los 10 minutos, levantar la red desde el polo de la abertura y separarla del soporte. Manténgala en posición vertical para que el agua drene hacia fuera. Si el material se ha acumulado en los lados de la red, lavarlo inclinando hacia ambos lados la red de tal modo que el agua acumulada en el interior del vaso colector se filtre a través de la tela desde el lado interno, ayudando a concentrar aún más la muestra.

La mayor parte de la muestra se ha acumulado en la unidad de muestreo.

A medida que desenrosca la parte inferior de la unidad, lave y limpie cualquier material que quede en la red.

2. En lagos y lagunas

Los principios y métodos son iguales a los señalados para ríos. La única diferencia radica en que la red no se fija a un soporte sino que se arroja y arrastra sucesivas veces (no menos de 15 veces) desde la orilla.

B. Colector seco

Compruebe que el frasco esté etiquetado correctamente y figurando la leyenda F (fitoplancton).

Registro de la muestra y el sitio de comentarios en la hoja de muestra de campo de datos (Anexo 2) para el sitio.

Trasvasar la muestra al frasco etiquetado, taparlo de forma segura y colocarlo en la bolsa "Ziplock" grande.

Coloque todos los materiales desechables que se utilizaron en la bolsa de basura.

Complete los datos correspondientes en la Planilla 4

C. Observaciones generales sobre la metodología

Una vez concluido el muestreo biológico, coloque todas las muestras colectadas en el sitio (multihábitat y fitoplancton) dentro de la correspondiente bolsa Ziploc grande. Luego coloque la bolsa en el contenedor.

Si las muestras tienen que ser almacenados sin fijar antes de su envío, manténgalas en un lugar oscuro y fresco.
NO CONGELAR.

6. PLANILLAS

4.R. o 4.L. Se completa conjuntamente con el muestreo multihábitat.

Protocolo 5- Toma de muestras para análisis químicos

En el caso de la toma de muestras para análisis químicos sólo se señala que todas las tareas deben abordarse siguiendo todas las medidas de seguridad. El tipo de análisis y metodología de muestreo será definido por la AIC.

Son condiciones y recursos importantes para comprender los requerimientos de la especie en esta región y por lo tanto deben monitorearse:

pH, temperatura, conductividad, oxígeno disuelto, y formas de nitrógeno y fósforo en el agua.

Se estima necesaria la obtención de los datos de concentración de fósforo total y fósforo reactivo soluble en los distintos sitios de muestreo, tomando en consideración la relación adjudicada entre este nutriente y la presencia del alga. Asimismo, en las planillas de hábitat se registra la eventual presencia de estructuras o procesos que puedan ser fuente de este nutriente. En caso de ser posible se realizará un análisis químico detallado (incluyendo otros nutrientes, aniones y cationes) a fin de poder establecer en un futuro cuales son las condiciones que facilitan y/o favorecen la colonización de sitios.

V - METODOLOGÍA DE LABORATORIO PARA EL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS

Las muestras obtenidas en el campo son:

- muestra multihabitat completa o incompleta por mantenerse las macrófitas en bolsas o frascos ad-hoc. En un primer paso se realizan los raspados para obtener la suspensión de las algas perifíticas, que se incorporan al frasco de la muestra.
- muestra de fitoplancton

Ambas muestras están por duplicado.

En el laboratorio se realiza un tratamiento de una parte de cada muestra para quemar la materia orgánica y luego efectuar un montaje permanente. Estas muestras, junto con las originales obtenidas a campo, sin tratar, se guardan en un herbario.

Protocolo 6. Métodos para limpieza de diatomeas: Método del peróxido de hidrógeno en caliente:

1. OBJETIVOS

Para una adecuada identificación de las diatomeas es necesario eliminar la materia orgánica para que queden las valvas vacías y luego realizar montajes en un medio con un índice de refracción de la luz adecuado (Naphrax).

Se utilizará para la eliminación de materia orgánica el método de peróxido de hidrógeno en caliente. Se complementa con la adición de HCl, útil para eliminar carbonatos.

2. DEFINICIONES

Frústulo: cubierta celular silíceas exclusiva de las diatomeas, que consiste en dos valvas.

3. APARATOS/EQUIPAMIENTO

Campana extractora para la eliminación de gases.

Baño de arena o agua.

Tubos de vidrio.

Elementos para medir 20 ml de reactivos.

Pinzas.

Pipetas *Pasteur* nuevas.

Centrífuga.

Frascos preferentemente de vidrio con tapa hermética.

Reactivos:

peróxido de hidrógeno 100 volúmenes.

HCl diluido (aproximadamente 1 M).

formol 4 %.

4. MÉTODOS

Se agita la muestra, y se transfieren 5 ml a un tubo de ensayo. Parte de las algas filamentosas que pudiera contener la muestra también se incorporan en el tubo de ensayo.

Se agregan 20 ml de peróxido y se calienta a 90 °C hasta que se haya digerido la materia orgánica (aproximadamente 1- 3 hs). Si se han introducido en el tubo macroalgas o macrófitos, los restos grandes pueden retirarse a los 30 minutos. Hay que tener mucho cuidado al manipular el peróxido en todos los pasos y trabajar bajo campana.

Se retira el tubo de la fuente de calor y se agregan unas gotas de HCl, lavando las paredes del tubo con agua destilada. Se deja enfriar bajo campana. Luego se lava 3 veces, con agua destilada. Tras cada lavado se centrifuga, se elimina el sobrenadante y se agrega agua destilada. Una vez terminado el proceso, se montan los preparados según las instrucciones del Naphrax y se almacena el resto de muestra en un frasco rotulado, pequeño, y preferentemente de vidrio, agregando unas gotas de formol al 4 %.

Observaciones: Si la muestra estuvo previamente fijada con formol u otro fijador es necesario hacer uno o dos lavados con agua destilada antes de comenzar el tratamiento.

Protocolo7 -Preparación de muestras permanentes de Diatomeas

1. OBJETIVOS

Obtener montajes permanentes de los frústulos de las diatomeas para su identificación, evaluación de abundancias relativas de diatomeas y guardado en el Herbario. Para una adecuada identificación de las diatomeas es necesario eliminar la materia orgánica para que queden las valvas vacías y luego realizar montajes en un medio con un índice de refracción de la luz adecuado.

Se utilizará Naphrax para la realización de los montajes permanentes, luego de haberse realizado el tratamiento de eliminación de la materia orgánica detallado en el Protocolo 6.

2. DEFINICIONES

Frústulo: cubierta celular silíceas exclusiva de las diatomeas, que consiste en dos valvas.

3. APARATOS/EQUIPAMIENTO

Microscopio.
Centrífuga.
Tubos de centrífuga.
agua destilada.
Pipetas *Pasteur* nuevas.
Portaobjetos.
Cubreobjetos.
Placa térmica.
Naphrax.
Etiquetas acordes al herbario.

4. MÉTODOS

Para realizar muestras permanentes se debe tener la suspensión de diatomeas limpia a una concentración adecuada. La densidad de valvas se verifica con una gota de suspensión en un cubreobjetos, mirando luego al microscopio a 400 aumentos. En caso de ser necesario la muestra se concentrará por centrifugado o se diluirá con agua destilada.

Se agita el vial o frasco que contiene la muestra tratada. Utilizando una pipeta *Pasteur* limpia se recoge líquido de la parte central del tubo. Se ubica la gota sobre un cubreobjetos y se evapora el líquido sobre una plancha caliente. El resultado debe ser una delgada capa gris que ocupe las $\frac{3}{4}$ partes del cubreobjetos. Se agrega el medio de montaje (Naphrax), siguiendo las instrucciones del producto, asegurando que el medio alcance los bordes de la preparación. Se deja enfriar y se revisa al microscopio. Lo deseable es que en un campo a 1000 aumentos el número de valvas sea de 10-15. Si el número de valvas fuera mucho mayor o menor se debe diluir o concentrar la muestra y repetir la operación. Se etiquetan adecuadamente los preparados.

Para evitar las contaminaciones se debe tener un cuidado especial de mantener limpio todo el instrumental; las pipetas *Pasteur* deben ser utilizadas para una sola muestra. No deben utilizarse agitadores para evitar que salte material de una muestra a otra.

Protocolo 8. Identificación de especies y recuento de diatomeas

1. OBJETIVOS

Identificar la presencia de *Didymosphenia geminata* y, en los sitios en que se encuentre, estimar su frecuencia relativa respecto a otras algas.

2. DEFINICIONES

Muestra no tratada: muestra tal como se recogió en el campo. Para estos protocolos son muestras fijadas con solución de formol.

Muestra tratada: muestra a la que se le ha realizado el procedimiento de eliminación de la materia orgánica.

Muestra permanente: muestra montada en Naphrax sobre un portaobjetos. Para estos protocolos la muestra montada ha sido previamente tratada.

3. APARATOS/EQUIPAMIENTO

Bibliografía taxonómica diatomológica completa y actualizada.

Microscopio óptico con contraste de fase o contraste de interferencia.

Muestra montada en Naphrax/ muestra sin tratar.

Aceite de inmersión.

Hojas de cálculo.

Para las muestras sin tratar:

Pipeta.

Pinzas.

Portaobjetos.

Cubreobjetos.

Opcional: microscopio electrónico de barrido (MEB)

4. MÉTODOS

La identificación de la especie debe ser realizada por personal entrenado teniendo en cuenta la importancia de la correcta diagnosis. En relación con la evaluación de esta especie invasora este punto es de fundamental importancia.

La identificación de diatomeas se hace sobre el preparado tratado (Naphrax). Requiere el uso de aceite de inmersión y preferentemente microscopía con contraste de fase o contraste de interferencia. En caso de ser necesario (por la presencia en el área de especies similares morfológicamente) se deberá recurrir al microscopio electrónico de barrido.

Las muestras sin tratar, las tratadas y los preparados fijos deben ser incorporados a un herbario oficial, en este caso se sugiere el Herbario de la División Científica Ficología del Museo de La Plata. Todas las muestras deben ser debidamente etiquetadas con número de muestra, fecha, sitio, colector y luego incorporadas a la base de datos de la Colección.

En caso de hallar la especie debe ser fotografiada y la imagen también incorporada a la base de datos de la División de modo de ponerla a disponibilidad y facilitar la comparación morfológica con otros materiales.

Dado que el tipo de muestra planteada en estos protocolos es semicuantitativa en el caso de la muestra multihábitat y cualitativa en el caso de la muestra de red, no es posible cuantificar la abundancia de la especie. Sin embargo, es posible establecer su frecuencia relativa respecto de otras algas.

En el caso de las muestras sin tratar es posible establecer mediante el análisis bajo microscopio de alícuotas de la muestra cuál es la proporción de la especie respecto a otros grupos algales.

En el caso de las muestras tratadas, sólo se puede establecer la frecuencia relativa de la especie respecto de otras diatomeas. Los preparados fijos se analizan bajo microscopio óptico con un aumento de x100, realizando barridos

contiguos hasta contabilizar 400 individuos. Luego en base a los resultado se calcula la frecuencia relativa en la muestra expresada como porcentaje:

$$\mathbf{FR\ sp\ 1 = \frac{n\ sp1}{N} \times 100}$$

FR sp 1: frecuencia relativa de la especie 1

n sp1: número de individuos de la especie 1

N: número total de individuos en la muestra

VI. BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

Bhatt J. P., A. Bhaskar & M.,K. Pandit, 2008. Biology, distribution and ecology of *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) Schmidt an abundant diatom from the Indian Himalayan rivers. *Aquat Ecol* 42:347–353

Blanco, S. & L. Ector, 2009. Distribution, ecology and nuisance effects of the freshwater invasive diatom *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) M. Schmidt: a literature review. *Nova Hedwigia* 88 3—4 347—422

Burgos González, J. M., 2010. Presencia de *Didymospheniasphenia geminata* en Río Espolón y Río Futaleufú, Región de los Lagos. Propuesta de área de plaga. Informe técnico D. AC. 2064/2010. Subsecretaría de Pesca. Gobierno de Chile.

Buria, L. M. Reporte Técnico. Delegación Regional Patagonia Administración de Parques Nacionales

CEN/TC 230. Water quality-Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers. European Standard.

Charles, D.F., C. Knowles & R. S. Davis, 2002. Protocols for the analysis of algal samples collected as part of the U.S. Geological Survey national Water-Quality Assessment Program. Report No. 02-06. The Academy of Natural Sciences. www.acnatsci.org. 215/299-1000.

Duncan M., C. Kilroy, C. Vieglaiss & F. Velvin, 2007. Protocol for the collection of samples for delimiting surveys for *Didymospheniasphenia geminata* for microscopic analysis NIWA Client Report: CHC2007-110 NIWA Project: MAF07506 NIWA Client Report: CHC2007-110

Hicks, B. J., C. Craig Cary & M. E. Barnett, 2007. Field guide for didymo DNA sample Collection. CBER Contract Report 65. Centre for Biodiversity and Ecology Research Department of Biological Sciences School of Science and Engineering. The University of Waikato. New Zealand

Kelly, M. G., Cazaubon, A., Coring, E., Dell'Uomo, A., Ector, L., Goldsmith, B., Guasch, H., Hürlimann, J., Jarlman, A., Kawecka, B., Kwadrans, J., Laugaste, R., Lindstrom, E.A., Leitao, M., Marvan, P., Padisák, E., Pipp, E., Prygiel, J., Rott, E., Sabater, S., van Dam, H. & Vizinet, J., 1998. Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe. *Journal of Applied Phycology*, 10, 215-224.

Ministerio de de Ambiente de Columbia Británica, Canada.

http://www.env.gov.bc.ca/wat/wq/didy_bcstrms.html

Larned S.,D. Arscott, N. Blair, B. Jarvie, D. Jellyman, K. Lister, M. Schallenberg, S. Sutherland, K. Vopel & B. Wilcock, 2007. Ecological studies of *Didymosphenia geminata* in New Zealand, 2006-2007. NIWA Client Report: CHC2007-070. NIWA Project: MAF07507

Miller, M. P., McKnight D. M., J. D. Cullis, A. Greene, K. Vietti &D. Liptzin, 2009. Factors controlling streambed coverage of *Didymosphenia geminata* in two regulated streams in the Colorado Front Range. *Hidrobiología* DOI 10.1007/s10750-009-9793-x

Municipalidad de Aluminé, 2010. PLAN DE ACCIÓN SUGERIDO

Núñez, P., 2010. Resultado de los análisis de las algas muestreadas en la zona de la Boca Del Río Chimehuín. Informe Final (Noviembre De 2010). Ministerio de Desarrollo Territorial, Centro PyME-Adeneu - Dirección General Regional Sur. Junín de los Andes, Neuquén, Argentina.

Sastre, V., 2010 (junio). INFORME SOBRE LA PRESENCIA DE *DIDYMOSPHENIA GEMINATA* EN AMBIENTES CORDILLERANOS. Realizado para el Ministerio de Ambiente y Control del Desarrollo Sustentable de la Provincia de Chubut

Sastre, A. V., G. Bauer, Ayestarán M. G., 2010. MONITOREO DE *DIDYMOSPHENIA GEMINATA*. INFORME N° 8.RESULTADOS MUESTREO 21 DE SEPTIEMBRE DE 2010. Lab. de Hidrobiología – FCN –UNPSJB – Sedes Trelew y Esquel, 2010)

Segura, P., 2011. A Slimy Invader Blooms in the Rivers of Patagonia. News of the week. *Science* 331: 18

Spaulding, S. & Elwell, L., 2007. Increase in nuisance blooms and geographic expansion of the freshwater Diatom: *Didymosphenia geminata*. Recommendations for response. White paper. EPA. USA.

Spaulding, S., C. Kilroy & Edlund, 2010. Diatoms as no native species. In J. Smol & E. Stoermer (eds.) The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences. New York: Cambridge University Press.

Toja, J., P. Candau Fernández-Mensaque; G. Martín Farfán; E. Reyes Bárbara; V. Ogalla García; M. A. Casco & S. E. Sala. (2004/ 2006). Diseño de una red de diatomeas para la cuenca del Río Guadalquivir. Informes correspondientes al convenio de colaboración entre la Confederación Hidrográfica del Guadalquivir y el Departamento de Biología Vegetal y Ecología de la Universidad de Sevilla.

Whitton B. A., Æ N. T. W. Ellwood & Æ B. Kawecka, 2009. Biology of the freshwater diatom *Didymosphenia*: a review. Hydrobiologia 630:1–37. DOI 10.1007/s10750-009-9753-5

Sitios de interés:

Global invasive species database:

<http://www.issg.org/database/species/contacts.asp?si=775&fr=1&sts=&lang=EN>

<http://www.biosecurity.govt.nz/pests/didymo/research>

Control de dymo: <http://www.niwascience.co.nz/>

<http://www.salmonidospatagonia.com.ar/Didymo.htm>

Videos:

Fish and game New Zeland

<http://www.youtube.com/watch?v=Wcp719utyms&NR=1>

Tasmania:

<http://www.youtube.com/watch?v=8xxWI2WGxyY&NR=1>

Chile, Río Espolón:

http://www.youtube.com/watch?v=wN3v_2PTFKQ&feature=player_embedded#!

USA

<http://www.youtube.com/watch?v=Hcmc4EmT7Sw&NR=1>

Argentina:

Monitoreos Chubut

<http://organismos.chubut.gov.ar/ambiente/category/plan-provincial-de-prevencion-y-monitoreo-de-didymosphenia-geminata/campanas-de-monitoreos/>

Charla brindada en la Asociación Argentina de Pesca con Mosca por Daniel Wegrzyn y Silvia Ortubay

<http://vimeo.com/15178732>

VII. ANEXOS

ANEXO I. Número de identificación de la muestra

Se obtienen dos tipos de muestras: biológicas y químicas.

1. MUESTRAS BIOLÓGICAS

El número de identificación de la muestra está constituido por:

4 dígitos destinados a la abreviatura del sitio de muestreo. Se recomienda utilizar las cuatro primeras letras del nombre, salvo superposiciones.

4 dígitos destinados a la fecha, correspondiendo los dos primeros al mes y los dos segundos al año. El día quedará registrado en la planilla.

1 dígito destinado a definir si es la muestra para el análisis microscópico de la diatomea *Didymosphenia*: D.

1 dígito destinado a registrar el medio de fijación utilizado: f (fijador formol).

1 dígito destinado a establecer el tipo de muestra: M (de multihábitat) o F (de fitoplancton).

1 dígito destinado a determinar cuál submuestra es: a o b.

Ejemplo:

CHIM0111DfMa

Chimehuin, enero 2011, *Didymosphenia*, formol, multihábitat, submuestra a.

Es importante establecer el nombre de los sitios para evitar superposiciones.

Aclaración: El número de dígitos será establecido de acuerdo con las necesidades del monitoreo en su conjunto. Por ejemplo podrían destinarse 6 al sitio para incluir la inicial de la cuenca y el último para más de un sitio de muestreo en un mismo río

2. MUESTRAS QUÍMICAS

El número de identificación de la muestra está constituido por:

4 dígitos destinados a la abreviatura del sitio de muestreo. Se recomienda utilizar las cuatro primeras letras del nombre, salvo superposiciones.

4 dígitos destinados a la fecha, correspondiendo los dos primeros al mes y los dos segundos al año. El día quedará registrado en la planilla.

1 dígito destinado a definir que es la muestra química : Q.

1 dígito destinado a registrar si ha sido filtrada por filtro de fibra de vidrio para quitar los sólidos: SF (sin filtrar), F (filtrada).

Ejemplo:

CHIM0111QSF

Chimehuin, enero 2011, Química, Sin filtrar.

Aclaración: El número de dígitos será establecido de acuerdo con las necesidades del monitoreo en su conjunto. Por ejemplo podrían destinarse 6 al sitio para incluir la inicial de la cuenca y el último para más de un sitio de muestreo en un mismo río

ANEXO II. Medidas de seguridad/precaución

Se recomienda que el muestreo lo hagan dos personas, una que entre al agua (“Colector húmedo”) y la otra que se mantenga fuera (“Colector seco”) siguiendo las normas de Nueva Zelanda (Hicks et al. 2007).

1. SEGURIDAD DEL OPERARIO

Las muestras sólo deben ser tomadas en lugares seguros para el operario.

2. MEDIDAS DE DESINFECCIÓN E HIGIENE

Para sus actividades el “COLECTOR SECO” no debe ingresar al cuerpo de agua, por lo tanto no será necesario el uso de waders. Sólo en caso de que no pueda llegar al sitio por vía terrestre, el colector podrá ingresar al agua con waders y deberá seguir entonces las medidas de seguridad planteadas para el “COLECTOR HÚMEDO”.

Mantener el equipo utilizado y los envases usados lejos de los nuevos o desinfectados y tomar medidas para asegurar que el agua no gotee sobre ellos.

Utilizar un nuevo conjunto de material desechable en cada río o tributario o lago y colocar directamente en bolsa de basura todo lo descartable después del uso.

3. UNA VEZ CONCLUIDA LA TOMA DE MUESTRAS EN CADA SITIO

Colocar todas las muestras colectadas en el sitio dentro de la correspondiente bolsa Ziploc grande.

Colocar la bolsa Ziplock con todas las muestras (2 o 4) del sitio en su contenedor. Si las muestras tienen que ser almacenados sin fijar antes de su envío, manténgalas en un lugar oscuro y fresco. NO CONGELAR.

Retirar todo el material macroscópico de las manos, botas / waders, redes, equipos, etc, antes de retirarse de cada sitio.

Después de completar el muestreo en cada sitio, realizar la pulverización, inmersión y lavado con solución de lavandina al 2% de todos los elementos potencialmente contaminados / waders, contenedores y equipos, etc.

Procedimiento: Preparar en el balde de 10 l la solución de lavandina al 2% utilizando la jarra de medición: 200 ml de lavandina en 9,8 litros de agua. Luego, en un recipiente grande poner la solución de lavandina y desinfectar por lo menos durante un minuto bien lejos del cuerpo de agua todos los elementos utilizados que hayan estado en contacto con el agua. Use cepillo para fregar las superficies, según sea necesario

Rociar con el pulverizador los waders y equipos y cepillar para ayudar en la aplicación de la solución.

Almacenar en contenedores de plástico grande con tapa segura todos los utensilios mojados.

Colocar en la bolsa de residuos todos los elementos descartables utilizados.

Baño de pies: en el mismo recipiente grande desinfectar las botas estando de pie.

Desinfectar las manos y los brazos utilizando toallitas descartables con cloruro de benzalconio como ingrediente activo.

Descartar el agua de lavado en el suelo en un área alejada al sitio de muestreo, no en el cuerpo de agua.

Es muy importante que todas estas precauciones de higiene se sigan cuidadosamente, después de ingresar al agua en cada sitio, tanto para prevenir la propagación de *Didymosphenia* de una cuenca a otra como para reducir al mínimo la posibilidad de contaminación de muestras con células vivas o muertas que puedan dar lugar a falsos positivos .

4- OPCIONES AL USO DE LA SOLUCIÓN DE LAVANDINA PARA DESINFECCIÓN DEL MATERIAL

- Solución al 5% de sal.
- Solución al 5% de lavavajillas líquido biodegradable.
- Agua caliente a 60 °C.

Para el desarrollo de estos protocolos proponemos el uso de la solución de lavandina porque conocemos su efectividad específicamente en la supervivencia de las diatomeas. Sin embargo, atendiendo a la dificultad de su implementación en algunos casos y al deterioro que pudiera ocasionar en determinados instrumentales, pueden seguirse las recomendaciones internacionales utilizando alternativamente las soluciones arriba mencionadas.

En el laboratorio la limpieza de la red de plancton y otros elementos no descartables puede hacerse con lavavajillas.

Los electrodos de los aparatos son especialmente frágiles y para ellos es conveniente rociarlos con fuerza con agua para barrer los microorganismos que pudieran quedar adheridos (por ejemplo con un frasco lavador) y utilizar un paño limpio, o utilizar la solución salina.

Para la ejecución de otros tipos de muestreos realizados con otros fines que igualmente ponen en riesgo la diseminación de esta alga por involucrar la interacción con el cuerpo de agua, se recomienda enfáticamente el uso de por lo menos alguna de estas opciones en la limpieza del instrumental, embarcaciones y vestimenta de los operarios.

|

ANEXO III. Aparatos/equipamiento necesario para los protocolos 1-4

1. GENERAL

- Mapa.
- Planillas de campo.
- Lápiz.
- Marcador indeleble.

2. INSTRUMENTAL

- GPS.
- Cámara fotográfica.
- Cinta métrica.
- Varilla graduada para medir profundidad.
- Correntímetro o en su defecto usar método de las naranjas y para ello naranjas (4 por sitio) Cronómetro.
- Termómetro.
- Conductivímetro.
- pHmetro.
- Oxímetro.
- Disco de Secchi.
- Red de plancton de abertura de malla de 24 a 30 μm de diámetro con frasco colector extraíble.
- Varilla o poste para atar la red de deriva y elementos para conectarle la red.
- Tijeras.
- Cuchillo o navaja de metal para raspar superficies.

3. VESTIMENTA

- Botas de goma (1 par por operario).
- Waders (2) Preferentemente de goma en lugar de neoprene y con suela de goma para reducir el traslado de la especie de un sitio a otro.
- Guantes descartables (varios pares por operario para cada sitio).
- Guantes largos para examen de vaca para usar debajo de los guantes cortos (sujételos a su cuello, por ejemplo con tiradores elásticos o mediante ligas, para evitar que se muevan hacia abajo y llegue a entrar el agua en ellos) Pueden adquirirse en una veterinaria local (por lo menos un par por operario para cada sitio).

4. FRASCOS, FIJADORES, RECIPIENTES

- Fijador: formol comercial (Formaldehído al 40%) colocado en un frasco con gotero.
- Recipiente para realizar raspados, por ejemplo, contenedores de 2 litros, preferentemente bandejas de plástico.
- Pizeta con agua potable.
- Recipiente de plástico con tapa segura, para el transporte de la red de plancton húmeda con desinfectante, de un sitio a otro. Ej. Caja de 17x28x35 cm o Caja de 13x23x32 cm.
- Un contenedor para el guardado y transporte de las muestras obtenidas. Caja de 17x28x35 cm o mayor, de acuerdo con el número de sitios de muestreo. En él se acomodarán las bolsas Ziploc grandes con las muestras ya obtenidas.
- **Una bolsa Ziploc grande conteniendo el quit completo de elementos para cada sitio:**
 - Frascos de 125 ml de boca ancha: 4 por sitio. Se utilizarán 2 para las muestras multihábitat, 2 para la muestra de red, 1 más por cualquier eventualidad.
 - Raspadores de madera descartables (2 tipo palito de helado).
 - Bolsas Ziploc pequeñas (2).
 - Pipetas descartables para el lavado de las rocas (2).
 - Guantes de goma cortos (2 pares).
 - Guantes de goma largos (2 pares).
 - Toallas de papel de cocina (3).

Etiquetado: Antes de ir al campo preparar para cada estación de muestreo y etiquetar la bolsa Ziploc grande conteniendo el quit completo de elementos para cada sitio. Rotular también los frascos y bolsas pequeñas. Las etiquetas deben incluir: Código de muestra y Colector.

5. PARA DESCONTAMINACIÓN DEL EQUIPO

- Rollos de toallas de papel.
- Varios litros de agua potable (calcular 12 litros por sitio de muestreo).
- Pulverizador para limpiar waders y equipo con lavandina al 2%. Se ha visto que la exposición por más de 1 minuto, mata las células de *Didymosphenia*. Llevarla preparada.
- Bolsas de basura para el material utilizado.
- Contenedor de plástico grande con tapa segura para guardar objetos húmedos no descartables cuando no estén en uso y durante el transporte.
- Contenedor para lavar los elementos no descartables. Ej. de 10 litros.
- Recipiente grande con tapa para el baño de pies. Ej. de 10 litros.
- Jarra de medición para medir el cloro (lavandina) de 200 ml.
- Balde de 10 l para la preparación de blanqueador al 2%.
- Botella de 5 l de lavandina de uso doméstico que contenga hipoclorito de sodio e hidróxido de sodio. Sin embargo, ningún cloro que contenga menos de 31,5 g / l de hipoclorito de sodio es aceptable. Compruebe que el utilizado no esté vencido.
- Cepillo de fregado (mango de plástico con plástico de gran espacio para las cerdas) para ayudar en la aplicación de una solución de lavandina a todos los elementos.
- Toallitas descartables con cloruro de benzalconio como ingrediente activo.

6. PARA EL LABORATORIO

- Cubreobjetos.
- Portaobjetos.
- Toallas de papel.
- Espátulas de goma.
- Pinzas de punta fina.
- Cajas de Petri o pequeñas bandejas.
- Frascos de boca ancha para agitar las macrófitas.

ANEXO IV. Planillas de campo

1. PARA RÍOS Y ARROYOS

1.R. LOCALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN GENERAL. RÍOS Y ARROYOS

2.R. DATOS DE CAMPO DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y CALIDAD DEL AGUA. RÍOS Y ARROYOS

3.R. EVALUACIÓN EN CAMPO DEL HÁBITAT EN RÍOS Y ARROYOS

3.R. EVALUACIÓN EN CAMPO DEL HÁBITAT EN RÍOS Y ARROYOS (reverso)

4.R. DATOS DE CAMPO ANEXOS A LAS MUESTRAS. RÍOS Y ARROYOS

2. PARA LAGOS Y LAGUNAS

1.L. LOCALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN GENERAL. LAGOS Y LAGUNAS

2.L. DATOS DE CAMPO DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y CALIDAD DEL AGUA. LAGOS Y LAGUNAS

3.L. EVALUACIÓN EN CAMPO DEL HÁBITAT EN LAGOS Y LAGUNAS

3.L. EVALUACIÓN EN CAMPO DEL HÁBITAT EN LAGOS Y LAGUNAS (reverso)

4.L. DATOS DE CAMPO ANEXOS A LAS MUESTRAS. LAGOS Y LAGUNAS

PLANILLA 1.R. LOCALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN GENERAL. RÍOS Y ARROYOS

RÍO		LOCALIZACIÓN (Lat. y Long.) <i>Indicar coordenadas 1^{er} muestreo</i>
CÓDIGO del Sitio		ORDEN DEL TRAMO
LAT. inicial del tramo	LAT. final del tramo	CUENCA
LONG. inicial del tramo	LONG. final del tramo	
Marca GPS	Exactitud	FECHA
ALTITUD		HORA
COLECTOR		

CONDICIONES AMBIENTALES	ACTUAL	24 horas anteriores	semana anterior
	<input type="checkbox"/> tormenta <input type="checkbox"/> lluvia <input type="checkbox"/> llovizna <input type="checkbox"/> % nubes <input type="checkbox"/> despejado	<input type="checkbox"/> tormenta <input type="checkbox"/> lluvia <input type="checkbox"/> llovizna <input type="checkbox"/> % nubes <input type="checkbox"/> despejado	<input type="checkbox"/> si ¿ha habido lluvias fuertes? <input type="checkbox"/> no Otras incidencias: _____
Temp. aire _____			

Observaciones: Nutrientes= 48 hs antes no tiene que llover para tomar la muestra

RUTA DE ACCESO <i>Imagen Google Earth 1^{er} muestreo</i>	ESQUEMA Y/O FOTO DEL SITIO INDICANDO EL ÁREA MUESTREADA UNA PROPUESTA ES QUE SE TOMEN AL MENOS 4 FOTOS: 1. desde el mojón de aguas arriba una vista hacia aguas abajo 2. desde el mojón de aguas abajo una vista hacia aguas arriba 3. una vista del lecho en general 4. una vista del lecho en detalle
--	--

CARACTERIZACIÓN DEL RÍO	Régimen hidrológico <input type="checkbox"/> sin regular (natural) <input type="checkbox"/> regulado <input type="checkbox"/> Permanente <input type="checkbox"/> intermitente <input type="checkbox"/> Nival <input type="checkbox"/> manantial <input type="checkbox"/> Pluvial <input type="checkbox"/> humedal <input type="checkbox"/> otros _____	<input type="checkbox"/> Agua fría <input type="checkbox"/> agua cálida
	Área de drenaje de la cuenca hasta el sitio _____ Km ²	

PLANILLA 3.R. EVALUACIÓN EN CAMPO DEL HÁBITAT EN RÍOS Y ARROYOS

RÍO		LOCALIZACIÓN (Lat. y Long.) <i>Indicar coordenadas 1^{er} muestreo</i>	
CÓDIGO del Sitio		ORDEN DEL TRAMO	
LAT. inicial del tramo	LAT. final del tramo	CUENCA	
LONG. inicial del tramo	LONG. final del tramo		
Marca GPS	Exactitud	FECHA	
ALTITUD		HORA	
COLECTOR			

A. PARÁMETROS A SER EVALUADOS EN EL TRAMO MUESTREADO

PARÁMETRO DEL HÁBITAT	CATEGORÍA																				
	ÓPTIMA					SUBÓPTIMA					MARGINAL					POBRE					
ESTABILIDAD DEL HÁBITAT Y DESARROLLO DE LA BIOTA	Más del 70 % del hábitat es estable y favorece el asentamiento de la biota, incluyendo áreas potenciales para el refugio de peces. Presencia de sustratos y espacios variados y diversos (hábitat mixto).					Hasta un 40 % del hábitat es una mezcla de un hábitat estable mixto con un sustrato adicional reciente, aún no adecuado para la colonización por la biota (el porcentaje puede estar en el límite superior de la escala)					Hasta un 20 % del hábitat es una mezcla de un hábitat estable con un sustrato frecuentemente perturbado o removido					Menos del 20 % del hábitat es estable. La falta de hábitat es obvia, el sustrato es inestable o falta.					
PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
FIJACIÓN DEL SUSTRATO (comp. inorgánicos del lecho)	Tamaños 1, 2 y 3 rodeados como máximo por un 25% de sedimentos finos.					Tamaños 1, 2 y 3 ocupan del 50 al 75 % y los sedimentos finos que los rodean ocupan del 25 al 50 % .					Tamaños 1, 2 y 3 ocupan entre 25 y 50 % y los sedimentos finos que los rodean ocupan del 50 al 75 %.					Tamaños 1, 2 y 3 ocupan menos del 25 % y los sedimentos finos más del 75 %.					
PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
VELOCIDAD/ PROFUNDIDAD	Todas las velocidades/ profundidades (lento-profundo, lento-somero, rápido-profundo, rápido-somero) (lento es menor a 0,3 m/seg., profundo es mayor a 0,5 m)					Sólo 3 de los 4 regímenes presentes (si el rápido-somero falta el valor baja más que si faltan los otros regímenes)					Sólo 2 de los 4 regímenes presentes (si rápido-somero o lento-somero faltan, el valor baja)					Dominado por 1 régimen de velocidad/profund. (usualmente lento-profundo)					
PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
DEPOSITACIÓN DE SEDIMENTOS	Menos del 5% del fondo afectado por depositación de sedimentos. Sin o pocas islas o barras puntuales					Del 5 al 30 % del fondo afectado por depositación de sedimentos. Ligera depositación en los pozones. Indicios de formación de barras, principalmente de tamaño 3 y menores (sedimentos finos).					Del 30 al 50 % del fondo con sedimentos; depósitos en curvas, obstrucciones, constricciones; en los pozones predomina una depositación moderada. Presencia evidente de depósitos nuevos de sedimentos finos sobre barras viejas o nuevas.					Más del 50% del fondo cambiando frecuentemente. Fuertes depósitos de material fino. Aumento del desarrollo de las barras. Pozones casi ausentes debido a una depositación sustancial de sedimento.					
PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
ESTADO ACTUAL DEL NIVEL DEL AGUA	El nivel del agua alcanza la base de ambas riberas y una mínima cantidad de los sustratos están expuestos					El área mojada ocupa más del 75% del cauce disponible o menos del 25% de los sustratos están expuestos.					El área mojada comprende entre un 25 y el 75% del cauce disponible y los sustratos están expuestos en su mayoría.					Muy poco agua en el cauce. Presencia mayoritaria de pozones quietos.					
PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

P 3.R. EVALUACIÓN EN CAMPO DEL HÁBITAT EN RÍOS Y ARROYOS

Código del sitio:

Fecha:

B. PARÁMETROS A SER EVALUADOS EN UN ÁREA MÁS EXTENSA QUE EL TRAMO MUESTREADO

PARÁMETRO DEL HÁBITAT	CATEGORÍA																				
	ÓPTIMA					SUBÓPTIMA					MARGINAL				POBRE						
ALTERACIONES ANTRÓPICAS DEL CAUCE	Obras (p/ej. canalización y/o defensas) ausentes o mínimas. Cursos con un desarrollo normal. Sin tomas de agua o las que existen no interfieren con el normal escurrimiento del curso					Algunas obras, usualmente en áreas de puentes y/o evidencias de obras pasadas.					Obras extensivas con estructuras en ambas orillas; de un 40 a 80% del tramo modificado.				Orillas cementadas. Más del 80% del tramo del curso de agua modificado. Los hábitats están muy alterados o han sido totalmente eliminados.						
PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
FRECUENCIA DE RÁPIDOS	Rápidos relativamente frecuentes, distancia entre rápidos/ancho del arroyo < 7:1 (generalmente 5-7). La variedad de hábitats es la clave. En arroyos donde los rápidos son continuos es importante la ubicación de los bloques u otros obstáculos grandes.					Rápidos poco frecuentes, distancia entre rápidos/ancho del arroyo entre 7 y 15.					Rápidos o curvas ocasionales. Los contornos del fondo proveen algunos hábitats. Distancia entre rápidos/ancho del arroyo entre 15 y 25.				Generalmente todo es somero o los rápidos son someros. Hábitat pobre. Distancia entre rápidos/ancho del arroyo mayor a 25						
PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
ESTABILIDAD DE LAS RIBERAS (determinar derecha o izquierda mirando aguas abajo)	Orillas estables. Ninguna o mínima evidencia de erosión. Poca probabilidad de futuros problemas de erosión (<5% de las orillas afectadas)					Orillas moderadamente estables. Pequeñas áreas de erosión. 5-30% de las riberas con áreas de erosión.					Orillas moderadamente inestables. 30-60% de las riberas con áreas de erosión. Alta erosión potencial durante las crecidas.				Orillas inestables. Muchas áreas erodadas. 60-100% de las riberas tienen marcas de erosión.						
PUNTUACIÓN	Orilla derecha	10	9			8	7	6			5	4	3			2	1	0			
	Orilla izquierda	10	9			8	7	6			5	4	3			2	1	0			
PROTECCIÓN VEGETAL	Más del 90% de las riberas y de la zona riparia inmediata cubierta por vegetación nativa, incluyendo árboles, arbustos o macrófitas, no modificada o poco modificada (pastoreo, movimientos mínimos)					70-90% de las riberas cubiertas por vegetación nativa, pero una clase de plantas no está bien representada. Alguna disrupción evidente que no afecta completamente el crecimiento potencial de las plantas.					50-70% de las riberas cubiertas por vegetación. Disrupción obvia. Parches de suelo desnudo. Menos de la mitad del crecimiento potencial de las plantas se mantiene.				Menos del 50% de las riberas cubiertas por vegetación. La vegetación ribereña está muy modificada e incluso puede faltar.						
PUNTUACIÓN	Orilla derecha	10	9			8	7	6			5	4	3			2	1	0			
	Orilla izquierda	10	9			8	7	6			5	4	3			2	1	0			
ALTERACIÓN DE LA ZONA CON VEGETACIÓN RIPARIA	Las actividades humanas no han impactado la zona					Las actividades humanas han impactado mínimamente en esta zona.					Las actividades humanas han impactado en gran medida en esta zona.				Debido a las actividades humanas la zona riparia es pequeña o no existe.						
PUNTUACIÓN	Orilla derecha	10	9			8	7	6			5	4	3			2	1	0			
	Orilla izquierda	10	9			8	7	6			5	4	3			2	1	0			

PUNTUACIÓN TOTAL:.....

PLANILLA 4.R. DATOS DE CAMPO ANEXOS A LAS MUESTRAS. RÍOS Y ARROYOS

RÍO		LOCALIZACIÓN (Lat. y Long.) Indicar coordenadas 1 ^{er} muestreo
CÓDIGO del Sitio		ORDEN DEL TRAMO
LAT. inicial del tramo	LONG. inicial del tramo	CUENCA
LAT. final del tramo	LONG. final del tramo	
Marca GPS	Exactitud	FECHA
ALTITUD		HORA
COLECTOR		

TIPO DE HÁBITAT	<p>Indicar el porcentaje de cada tipo de hábitat disponible para el perifiton (la suma debe dar 100%)</p> <p>___% Sedimento fino ___% Bloques-cantos rodados ___% Roca madre</p> <p>___% Restos pequeños de madera ___% Restos grandes de madera ___% Plantas y raíces</p> <p>___% Cobertura de plantas emergentes ___% Cobertura de plantas sumergidas</p> <p>___% Macroalgas ___% otros</p>
CARACTERÍSTICAS HIDRÁULICAS DEL TRAMO	<p>___% Rápidos ___% Corriente laminar ___% Poza</p>
RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA MULTIHÁBITAT	<p>Contabilice (detallar cantidad) los tipos de hábitat de los que tomó muestras</p> <p><input type="checkbox"/> Bloques-cantos rodados <input type="checkbox"/> Roca madre</p> <p><input type="checkbox"/> Restos pequeños de madera <input type="checkbox"/> Restos grandes de madera <input type="checkbox"/> Plantas y raíces</p> <p><input type="checkbox"/> Plantas emergentes <input type="checkbox"/> Plantas sumergidas <input type="checkbox"/> Macroalgas <input type="checkbox"/> otros</p> <hr/> <p>Marque los tipos de hábitat de los que tomó muestras</p> <p><input type="checkbox"/> Rápidos <input type="checkbox"/> Corriente casi laminar <input type="checkbox"/> Poza</p>
RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA DE FITOPLANCTON	<p>Tiempo de filtrado o número de tiradas de la red: (mínimo 15 minutos o 15 tiradas)</p> <p>Posición de la red respecto al ancho del río:</p> <p>Tipo de red (abertura de malla - micras):</p>
COMENTARIOS GENERALES	

PLANILLA 1.L. LOCALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN GENERAL. LAGOS Y LAGUNAS

LAGO/LAGUNA		LOCALIZACIÓN (Lat. y Long.) <i>Indicar coordenadas 1^{er} muestreo</i>
CÓDIGO del Sitio		Área de drenaje del lago hasta el punto de desagüe:
LAT. inicial del tramo	LAT inicial del tramo	CUENCA
LONG. final del tramo	LONG. final del tramo	
Marca GPS	Exactitud	FECHA
ALTITUD		HORA
COLECTOR		

CONDICIONES AMBIENTALES	ACTUAL <input type="checkbox"/> tormenta <input type="checkbox"/> lluvia <input type="checkbox"/> llovizna <input type="checkbox"/> % nubes <input type="checkbox"/> despejado	24 horas anteriores <input type="checkbox"/> tormenta <input type="checkbox"/> lluvia <input type="checkbox"/> llovizna <input type="checkbox"/> % nubes <input type="checkbox"/> despejado	semana anterior <input type="checkbox"/> si ¿ha habido lluvias fuertes? <input type="checkbox"/> no Otras incidencias: _____
Temp. aire _____			

Observaciones: Nutrientes= 48 hs antes no tiene que llover para tomar la muestra

RUTA DE ACCESO Imagen Google Earth 1^{er} muestreo	ESQUEMA Y/O FOTO DEL SITIO INDICANDO EL ÁREA MUESTREADA UNA PROPUESTA ES QUE SE TOMEN AL MENOS 4 FOTOS: <ol style="list-style-type: none"> 1. desde el mojón de aguas arriba una vista hacia aguas abajo 2. desde el mojón de aguas abajo una vista hacia aguas arriba 3. una vista del lecho en general 4. una vista del lecho en detalle
--	--

CARACTERIZACIÓN DEL CUERPO DE AGUA	Régimen hidrológico <input type="checkbox"/> sin regular (natural) <input type="checkbox"/> regulado <input type="checkbox"/> Permanente <input type="checkbox"/> intermitente <input type="checkbox"/> Nival <input type="checkbox"/> manantial <input type="checkbox"/> Pluvial <input type="checkbox"/> humedal <input type="checkbox"/> otros _____ <input type="checkbox"/> Agua fría <input type="checkbox"/> agua cálida Área de drenaje de la cuenca hasta el sitio _____ Km ²
---	---

PLANILLA 2.L. DATOS DE CAMPO DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y CALIDAD DEL AGUA. LAGOS Y LAGUNAS

Código del sitio: _____

Fecha: _____

CARACTERÍSTICAS DEL ENTORNO INMEDIATO AL TRAMO	Principales usos del suelo <input type="checkbox"/> bosque natural <input type="checkbox"/> ganadería ext. <input type="checkbox"/> Plantación forestal <input type="checkbox"/> ganadería estabulada <input type="checkbox"/> regadío <input type="checkbox"/> comercial <input type="checkbox"/> pastizal <input type="checkbox"/> industrial <input type="checkbox"/> matorral <input type="checkbox"/> residencial <input type="checkbox"/> vega <input type="checkbox"/> secoano <input type="checkbox"/> recreativo	Contaminación: <input type="checkbox"/> ninguna <input type="checkbox"/> difusa <input type="checkbox"/> puntual algunas fuentes potenciales evidentes <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Erosión local <input type="checkbox"/> ninguna <input type="checkbox"/> puntual <input type="checkbox"/> moderada <input type="checkbox"/> fuerte
USO RECREATIVO DEL TRAMO	<input type="checkbox"/> pesca <input type="checkbox"/> balneario <input type="checkbox"/> navegación a motor <input type="checkbox"/> otros deportes náuticos <input type="checkbox"/> camping <input type="checkbox"/> otros.....	
VEGETACIÓN RIPARIA (junto o directamente influenciada por el cuerpo de agua)	Indicar los tipos fisionómicos presentes (%) y citar las especies dominantes ___% árboles ___% árboles achaparrados ___% arbustos ___% pastizal especies dominantes: (Tomar una muestra de vegetación si se desconoce la sp.)	
CARACTERÍSTICAS MORFOMÉTRICAS DEL TRAMO	Largo estimado del tramo _____ m Dosel de vegetación Ancho estimado del tramo _____ m (hasta donde se mete el colector humedo) <input type="checkbox"/> abierto <input type="checkbox"/> parcialmente sombreado <input type="checkbox"/> sombreado Área del tramo muestreado _____ m ² Profundidad máxima estimada del tramo al momento del muestreo _____ m (hasta donde se mete el colector humedo) Altura de evidencia de inundación reciente (altura resaca) _____ m presencia de <input type="checkbox"/> puente <input type="checkbox"/> muelle <input type="checkbox"/> otros: _____	
RESTOS LEÑOSOS GRANDES (RLG)	Cobertura de RLG _____% de cobertura de RLG respecto del área del tramo	
VEGETACIÓN ACUÁTICA (macrófitas y algas macroscópicas)	_____ % del área del tramo cubierta por vegetación acuática Indicar el % de cada tipo respecto al total de plantas (el total debe dar 100%) ___% plantas emergentes ___% plantas sumergidas ___% plantas flotantes ___% algas filamentosas adheridas ___% algas filamentosas flotantes Especies dominantes: (Tomar una muestra de vegetación si se desconoce la sp.)	
CALIDAD DEL AGUA	Temperatura °C <hr/> Conductividad mS/cm <hr/> pH <hr/> Oxígeno mg/l <hr/> % saturación <hr/> Instrumental	Olor del agua <input type="checkbox"/> Normal/ninguno <input type="checkbox"/> cloaca <input type="checkbox"/> Hidrocarburos <input type="checkbox"/> Pescado <input type="checkbox"/> Químico <input type="checkbox"/> Otros _____ Aceite en la superficie <input type="checkbox"/> ausente <input type="checkbox"/> ligero <input type="checkbox"/> moderado <input type="checkbox"/> fuerte Turbidez <input type="checkbox"/> claro <input type="checkbox"/> ligeramente turbio <input type="checkbox"/> turbio <input type="checkbox"/> opaco <input type="checkbox"/> sin turbidez <input type="checkbox"/> otro _____ Color por compuestos polifenólicos (Color té) <input type="checkbox"/>
SEDIMENTO	Olor <input type="checkbox"/> Normal/ninguno <input type="checkbox"/> cloaca <input type="checkbox"/> sulfhídrico <input type="checkbox"/> Hidrocarburos <input type="checkbox"/> Pescado <input type="checkbox"/> Químico <input type="checkbox"/> Otros _____	Presencia de depósitos de <input type="checkbox"/> lodo <input type="checkbox"/> aserrín <input type="checkbox"/> fibra de papel <input type="checkbox"/> arena <input type="checkbox"/> restos de valvas <input type="checkbox"/> otros: (ceniza) _____ El color de la parte baja de las piedras y sedimento, ¿es negro? <input type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no Aceite <input type="checkbox"/> ausente <input type="checkbox"/> poco <input type="checkbox"/> mucho
COMPONENTES DEL LECHO (la suma total debe ser 100%)		
INORGÁNICOS		
TIPO	DIÁMETRO	% en tramo
Roca madre		
Tamaño 1	> 256 mm	
Tamaño 2	64 - 256 mm	
Tamaño 3	2 - 64 mm	
Tamaño 4	0,06 – 2,00 mm	
Tamaño 5	0,004 – 0,060 mm	
Tamaño 6	< 0,004 mm	
ORGÁNICOS		
TIPO	ESPECIFICACIONES	% en tramo
Restos	Ramas, hojarasca, etc. (MOPG)	
Lodo y detritos	Orgánico fino, negro (MOPF)	
Otros	Restos de valvas	

PLANILLA 3.L. EVALUACIÓN EN CAMPO DEL HÁBITAT EN LAGOS Y LAGUNAS

LAGO/LAGUNA		LOCALIZACIÓN (Lat. y Long.) Indicar coordenadas 1 ^{er} muestreo									
CÓDIGO del Sitio		SUPERFICIE DEL CUERPO DE AGUA									
LAT. inicial del tramo	LONG. inicial del tramo	CUENCA									
LAT. final del tramo	LONG. final del tramo										
Marca GPS	Exactitud	FECHA									
ALTITUD		HORA									
COLECTOR											

A. PARÁMETROS A SER EVALUADOS EN EL TRAMO MUESTREADO

PARÁMETRO DEL HÁBITAT	CATEGORÍA																				
	ÓPTIMA					SUBÓPTIMA					MARGINAL					POBRE					
ESTABILIDAD DEL HÁBITAT Y DESARROLLO DE LA BIOTA	Más del 70 % del hábitat es estable y favorece el asentamiento de la biota, incluyendo áreas potenciales para el refugio de peces. Presencia de sustratos y espacios variados y diversos (hábitat mixto).					Hasta un 40 % del hábitat es una mezcla de un hábitat estable mixto con un sustrato adicional reciente, aún no adecuado para la colonización por la biota (el porcentaje puede estar en el límite superior de la escala)					Hasta un 20 % del hábitat es una mezcla de un hábitat estable con un sustrato frecuentemente perturbado o removido					Menos del 20 % del hábitat es estable. La falta de hábitat es obvia, el sustrato es inestable o falta.					
	PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
FIJACIÓN DEL SUSTRATO (comp. inorgánicos del lecho)	Tamaños 1, 2 y 3 rodeados como máximo por un 25% de sedimentos finos.					Tamaños 1, 2 y 3 ocupan del 50 al 75 % y los sedimentos finos que los rodean ocupan del 25 al 50 % .					Tamaños 1, 2 y 3 ocupan entre 25 y 50 % y los sedimentos finos que los rodean ocupan del 50 al 75 %.					Tamaños 1, 2 y 3 ocupan menos del 25 % y los sedimentos finos más del 75 %.					
	PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
PENDIENTE	0° - 20°					20° - 45°					45° - 70°					70° - 90°					
	PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
DEPOSITACIÓN DE SEDIMENTOS	Menos del 5% del fondo afectado por depositación de sedimentos. Sin o pocas islas o barras puntuales					Del 5 al 30 % del fondo afectado por depositación de sedimentos. Ligera depositación en los pozones. Indicios de formación de barras, principalmente de tamaño 3 y menores (sedimentos finos).					Del 30 al 50 % del fondo con sedimentos; depósitos en curvas, obstrucciones, constricciones; en los pozones predomina una depositación moderada. Presencia evidente de depósitos nuevos de sedimentos finos sobre barras viejas o nuevas.					Más del 50% del fondo cambiando frecuentemente. Fuertes depósitos de material fino. Aumento del desarrollo de las barras. Pozones casi ausentes debido a una depositación sustancial de sedimento.					
	PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
ESTADO ACTUAL DEL NIVEL DEL AGUA	Nivel del agua máximo o cercano al máximo, una mínima o ninguna cantidad de los sustratos están expuestos.					Buen nivel del agua, menos del 25% de los sustratos están expuestos.					Bajo nivel del agua, los sustratos están expuestos en su mayoría.					Muy bajo nivel del agua, sustratos mayormente expuestos. Pozas aisladas.					
	PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1

P 3.L. EVALUACIÓN EN CAMPO DEL HÁBITAT EN LAGOS Y LAGUNAS (reverso)

Código del sitio:

Fecha:

B. PARÁMETROS A SER EVALUADOS EN UN ÁREA MÁS EXTENSA QUE EL TRAMO MUESTREADO

PARÁMETRO DEL HÁBITAT	CATEGORÍA																				
	ÓPTIMA					SUBÓPTIMA					MARGINAL					POBRE					
ALTERACIONES ANTRÓPICAS DE LA ORILLA	Sin alteraciones o mínimas modificaciones realizadas por el hombre					Algunas modificaciones, tales como puentes, muelles, rampas, instalaciones para acampar con leve afectación del hábitat.					Grandes y extensas modificaciones. Hábitat notoriamente alterado.					Los hábitats están muy alterados o han sido totalmente eliminados. Presencia de efluentes y/o grandes construcciones.					
PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
ESTABILIDAD DE LA ORILLA	Orillas estables. Ninguna o mínima evidencia de erosión. Poca probabilidad de futuros problemas de erosión (<5% de las orillas afectadas)					Orillas moderadamente estables. Pequeñas áreas de erosión. 5-30% de las riberas con áreas de erosión.					Orillas moderadamente inestables. 30-60% de las riberas con áreas de erosión. Alta erosión potencial durante las crecidas.					Orillas inestables. Muchas áreas erodadas. 60-100% de las riberas tienen marcas de erosión.					
PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
PROTECCIÓN VEGETAL	Más del 90% de las riberas y de la zona riparia inmediata cubierta por vegetación nativa, incluyendo árboles, arbustos o macrófitas, no modificada o poco modificada (pastoreo, movimientos mínimos)					70-90% de las riberas cubiertas por vegetación nativa, pero una clase de plantas no está bien representada. Alguna disrupción evidente que no afecta completamente el crecimiento potencial de las plantas.					50-70% de las riberas cubiertas por vegetación. Disrupción obvia. Parches de suelo desnudo. Menos de la mitad del crecimiento potencial de las plantas se mantiene.					Menos del 50% de las riberas cubiertas por vegetación. La vegetación ribereña está muy modificada e incluso puede faltar.					
PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
ALTERACIÓN DE LA VEGETACIÓN RIPARIA	Las actividades humanas no han impactado la zona					Las actividades humanas han impactado mínimamente en esta zona.					Las actividades humanas han impactado en gran medida en esta zona.					Debido a las actividades humanas la zona riparia es pequeña o no existe.					
PUNTUACIÓN	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

PUNTUACIÓN TOTAL:.....

PLANILLA 4.L. DATOS DE CAMPO ANEXOS A LAS MUESTRAS. LAGOS Y LAGUNAS

LAGO/LAGUNA		LOCALIZACIÓN (Lat. y Long.) Indicar coordenadas 1 ^{er} muestreo
CÓDIGO del Sitio		SUPERFICIE DEL CUERPO DE AGUA
LAT. inicial del tramo	LONG. inicial del tramo	CUENCA
LAT. final del tramo	LONG. final del tramo	
Marca GPS	Exactitud	FECHA
ALTITUD		HORA
COLECTOR		

TIPO DE HÁBITAT	<p>Indicar el porcentaje de cada tipo de hábitat disponible para el perifiton (la suma debe dar 100%)</p> <p>___% Sedimento fino ___% Bloques-cantos rodados ___% Roca madre</p> <p>___% Restos pequeños de madera ___% Restos grandes de madera</p> <p>___% Plantas y raíces</p> <p>___% Cobertura de plantas emergentes ___% Cobertura de plantas sumergidas</p> <p>___% Macroalgas</p>
CARACTERÍSTICAS MORFOMÉTRICAS	Pendiente _____%
RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA MULTIHÁBITAT	<p>Contabilice (detallar cantidad) los tipos de hábitat de los que tomó muestras</p> <p><input type="checkbox"/> Bloques-cantos rodados <input type="checkbox"/> Roca madre</p> <p><input type="checkbox"/> Restos pequeños de madera <input type="checkbox"/> Restos grandes de madera <input type="checkbox"/> Plantas y raíces</p> <p><input type="checkbox"/> Plantas emergentes <input type="checkbox"/> Plantas sumergidas <input type="checkbox"/> Macroalgas <input type="checkbox"/> otros</p>
RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA DE FITOPLANCTON	<p>Tiempo de filtrado o número de tiradas de la red: (mínimo 15 tiradas)</p> <p>Método de filtrado:</p> <p>Tipo de red (abertura de malla - micras):</p>
COMENTARIOS GENERALES	