



PERÚ

Ministerio
del Ambiente

Métodos de colecta, identificación y análisis de comunidades biológicas: plancton, perifiton, bentos (macroinvertebrados) y necton (peces) en aguas continentales del Perú



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Museo de Historia Natural
Departamentos de Limnología e Ictiología



Centro de Documentación Ambiental – Catalogación en la fuente

578.7685

U42 Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Museo de Historia Natural
Métodos de colecta, identificación y análisis de comunidades biológicas: plancton, perifiton, bentos (macroinvertebrados) y necton (peces) en aguas continentales del Perú / Departamento de Limnología, Departamento de Ictiología -- Lima: Ministerio del Ambiente, 2014.

75 p.: il.

1. RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS 2. AGUAS CONTINENTALES 3. ECOSISTEMAS ACUÁTICOS 4. DIVERSIDAD DE ESPECIES 5. PERÚ I. Perú. Ministerio del Ambiente. II. Título.

Métodos de colecta, identificación y análisis de comunidades biológicas: plancton, perifiton, bentos (macroinvertebrados) y necton (peces) en aguas continentales del Perú.

Autores:

Plancton: Iris Samanez Valer

Perifiton: Vania Rimarachín Ching

Bentos (macroinvertebrados): Carlos Palma Gonzales, Jerry Arana Maestre

Necton (peces): Hernán Ortega Torres, Vanessa Correa Roldán, Max Hidalgo Del Águila

Diseño y diagramación:

Zona Comunicaciones S.A.C.

Fotografías:

Max Hidalgo Del Águila

Vania Rimarachín Ching

Jerry Arana Maestre

Iris Samanez Valer

Carlos Palma Gonzales

Revisión técnica:

Dirección General de Diversidad Biológica

Viceministerio de Desarrollo Estratégico de los Recursos Naturales

Ministerio del Ambiente

Impreso en:

Zona Comunicaciones S.A.C.

Jr. Neón 5665, Urbanización Industrial Infantas - Los Olivos, Lima

Diciembre 2014

Hecho el Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N° N° 2014-16861

ISBN: 978-612-4174-15-5

Primera Edición, Diciembre 2014

Tiraje: 500 ejemplares

© Ministerio del Ambiente

Dirección General de Diversidad Biológica

Av. Javier Prado Oeste 1440 - San Isidro

Teléfono: 611 - 6000

www.minam.gob.pe - dgdb@minam.gob.pe

©Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Museo de Historia Natural

Departamentos de Limnología e Ictiología

Av. Arenales 1256 - Jesús María

museohn.unmsm.edu.pe - museohn@unmsm.edu.pe

Todos los derechos de autoría y edición reservados conforme a la Ley. No está permitida la reproducción total o parcial de los textos y fotografías, por ningún medio sin la autorización escrita de los autores y editores en la presente edición.



PERÚ

Ministerio
del Ambiente

Métodos de colecta, identificación y análisis de comunidades biológicas: plancton, perifiton, bentos (macroinvertebrados) y necton (peces) en aguas continentales del Perú

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Museo de Historia Natural
Departamentos de Limnología e Ictiología

Índice

PRESENTACIÓN	7
1. ECOSISTEMAS DE AGUAS CONTINENTALES	10
2. COMUNIDADES BIOLÓGICAS	11
3. PLANCTON	12
3.1 Metodologías de colecta	12
3.1.1 Equipos y materiales	12
3.1.2 Técnicas de colecta	13
3.1.3 Preservación y etiquetado	17
3.1.4 Metodología de colecta de zooplancton	18
3.1.5 Técnicas de colecta	19
3.2 Identificación y análisis de las muestras	20
3.2.1 Identificación de fitoplancton	20
Equipo y material de laboratorio	20
3.2.2 Técnicas de análisis	21
Cualitativo	21
Cuantitativo	21
Semicuantitativo	22
Método para análisis de pigmentos (clorofila "a")	22
3.2.3 Identificación de zooplancton	23
Equipo y material de laboratorio	23
3.2.4 Técnicas de análisis	24
Cualitativo	24
Cuantitativo	24
Semicuantitativo	24
3.3 Aseguramiento de la calidad	25
3.3.1 Colecta	25
3.3.2 Identificación y análisis de la muestra	25
4. PERIFITON	26
4.1 Metodología de colecta	27
4.1.1 Equipos y materiales	27
4.1.2 Técnicas de colecta	28

4.1.2.1 Colecta por tipo de sustrato	30	6. NECTON (PECES)	44
4.1.2.2 Área de colecta	31	6.1 Metodología de colecta	45
4.1.3 Preservación y etiquetado	31	6.1.1 Equipos y materiales	45
4.2 Identificación y análisis de las muestras	32	6.1.2 Diseño del muestreo	48
4.2.1 Identificación	32	6.1.3 Objetivos de la colecta	49
Equipo y material de laboratorio	33	6.1.3.1 Investigación taxonómica	49
Técnicas específicas de acuerdo al taxa	33	6.1.3.2 Evaluaciones rápidas	50
4.2.2 Técnicas de análisis	35	6.1.4 Frecuencia del muestreo	50
Cualitativo	35	6.1.5 Pautas para pesca con redes	51
Cuantitativo	35	6.1.6 Preservación y etiquetado	52
Semicuantitativo	35	6.2 Identificación y análisis de las muestras	53
4.3 Aseguramiento de la calidad	36	6.2.1 Identificación	53
4.3.1 Colecta	36	Equipo y material de laboratorio	53
4.3.2 Identificación y análisis de la muestra	36	6.2.2 Técnicas de análisis	55
5. BENTOS (Macroinvertebrados)	37	6.3 Comprobación de la calidad	56
5.1 Metodología de colecta	37	6.3.1 Colecta	56
5.1.1 Equipos y materiales	37	6.3.2 Identificación y análisis de la muestra	56
5.1.2 Técnicas de colecta	38	7. BIBLIOGRAFÍA	57
5.1.2.1 Métodos de recolección cualitativos	39	ANEXOS	
5.1.2.2 Métodos de recolección cuantitativos	40	Anexo 1: Datos de campo: GENERAL	60
5.1.3 Preservación y etiquetado	41	Anexo 2: Datos de campo: PLANCTON	61
5.2 Identificación y análisis de las muestras	42	Anexo 3: Datos de campo: PERÍFITON	62
5.2.1 Identificación	42	Anexo 4: Limpieza de frústulos de diatomeas	63
Equipo y material de laboratorio	42	Anexo 5: Datos de campo: BENTOS (macroinvertebrados)	64
5.2.2 Técnicas de análisis	42	Anexo 6: Registro de datos ictiológicos	65
Cualitativo	43	Anexo 7: Bibliografía para la identificación	66
Cuantitativo	43	Anexo 8: Manejo estadístico de la información	69
Semicuantitativo	43	GLOSARIO DE TÉRMINOS	73
5.3 Aseguramiento de la calidad	43		
5.3.1 Colecta	43		
5.3.2 Identificación y análisis de la muestra	43		



Pesca con atarraya en el río Alto Madre de Dios

Presentación

En cumplimiento de los principios de de sostenibilidad y de gobernanza ambiental establecidos en la Ley General del Ambiente, el Ministerio del Ambiente responde a la necesidad de establecer los métodos a través de los cuales se puedan estudiar los diversos ecosistemas acuáticos continentales de nuestro país, los cuales son utilizados por parte de las crecientes poblaciones y los diversos sectores para sus múltiples operaciones.

El Ministerio del Ambiente, con la contribución de los departamentos de Limnología e Ictiología del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, decidió publicar este documento, que representa una importante herramienta sin precedentes, con la cual se propone una actualización y estandarización de los métodos de colecta, preservación y análisis de la biota proveniente de aguas continentales, y por ende un mejor seguimiento a la calidad ambiental.

El trabajo realizado por el departamento de Limnología, para el estudio del plancton, perifiton y bentos; y por el departamento de Ictiología, para la evaluación del necton (peces), cubren los métodos que se consideran los más idóneos para la realización de cualquier estudio hidrobiológico continental. Ellos incluyen, además de los métodos de colecta en campo, el análisis posterior de acuerdo al tipo de comunidad colectada, aspectos espacio-temporales y considerando el tipo de muestras obtenidas.

Este aporte está dirigido a un público variado, interesado y vinculado con los estudios hidrobiológicos; el que puede incluir tanto a profesionales e instituciones relacionados a las evaluaciones acuáticas, así como a miembros de la sociedad peruana en general, en particular aquellos cuyas decisiones podrían afectar a los ecosistemas de aguas continentales, nuestro bienestar y el de las próximas generaciones.

Manuel Pulgar-Vidal
Ministro del Ambiente


Introducción

Dada la promoción de directivas sobre validaciones de colecta para flora y fauna terrestres del Perú debido a su importancia, se ha considerado también la implementación de criterios metodológicos referidos a evaluaciones de las comunidades acuáticas continentales. Para estas comunidades los criterios incluyen aspectos de colecta, identificaciones, interrelaciones con otros parámetros, análisis estadístico, uso de indicadores biológicos de calidad de agua, entre otros, considerando los servicios ambientales que proveen y del contexto nacional relacionado a estos ecosistemas.

Actualmente, entidades estatales como privadas intentan seguir métodos establecidos o protocolos de otros países (APHA, EPA, artículos científicos, etc.) para realizar evaluaciones de distinta índole en aguas continentales. Sin embargo, una gran proporción de estos estudios raramente emplea los métodos adecuados y, mucho menos, siguen con precisión los criterios internacionales, basándose incluso en criterios particulares. Por ello, mientras estos métodos no sean estandarizados y validados para el Perú, las evaluaciones de las comunidades biológicas de aguas continentales van a ejecutarse en forma muy heterogénea y, en múltiples casos, reflejarán vagamente la realidad.

En los departamentos de Limnología e Ictiología del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos se estudian, desde hace 35 años, a las comunidades acuáticas continentales (plancton, perifiton, bentos (macroinvertebrados) y nécton (peces), en aspectos de taxonomía, sistemática, distribución y ecología. Además, en los últimos siete años, a través de diversos proyectos de investigación, se vienen realizando trabajos cooperativos y se tiene la oportunidad de evaluar a las comunidades biológicas en diversos ecosistemas acuáticos de gran parte del país.

La constancia de estos estudios está dando como resultado la formación de profesionales especializados en distintos componentes de las comunidades acuáticas. Por otro lado, esta fortaleza no sólo radica en el conocimiento adquirido



sino también en el respaldo de Colecciones Científicas como la Colección Ictiológica MUSM – cuyo catálogo posee más de 48,000 registros, incluyendo más de mil especies de peces – además, de las Colecciones de Plancton, Perifiton, Diatomeas y Macroinvertebrados.

Empleando este acervo, el Ministerio del Ambiente pone a disposición de los profesionales e instituciones este manual de Métodos para el estudio de las comunidades biológicas más representativas de los ecosistemas acuáticos continentales, el mismo que servirá de guía a los diferentes agentes de estudio dedicadas a las evaluaciones hidrobiológicas y a las actividades económicas que necesitan de su caracterización.

Objetivos

- Dar a conocer los métodos de colecta, identificación y análisis estandarizados para conseguir que los muestreos de plancton, perifiton, bentos y peces sean válidos, confiables y comparables.
- Describir y aplicar los métodos específicos para la colecta, identificación y análisis de cada comunidad acuática de acuerdo a diversos propósitos de estudio.

ECOSISTEMAS DE AGUAS CONTINENTALES DEL PERÚ

El Perú es un país megadiverso, cuya riqueza natural incluye a poblaciones de organismos de flora y fauna terrestre y acuática, y su integración a los ecosistemas. Dentro de éstos destacan los acuáticos continentales. Distribuidos en la costa en forma de humedales costeros, lagunas, pantanos, la mayoría de estos ecosistemas se originan por filtraciones fluviales y con evidente influencia marina; mientras que los ríos tienen su origen en la región altoandina mayoritariamente de glaciares. Ello hace diferentes de los ecosistemas altoandinos representados por sistemas lénticos de origen glaciar, bofedales, ríos, arroyos y quebradas los que fluyen en dos direcciones: hacia la vertiente occidental en el océano Pacífico, ó hacia la vertiente oriental formando finalmente los grandes ríos de la cuenca amazónica. Excepcionalmente, la cuenca del Lago Titicaca es endorreica determinando así la presencia de especies acuáticas que no ocurren en otra parte del mundo.

En la región Amazónica, además de los ríos se cuenta con ambientes lénticos (cochas), mayormente de origen fluvial y de agua blanca (meandros abandonados) muchos de permanencia corta y con influencia directa de los ríos en la época de máximas lluvias (creciente), así como lagunas de origen tectónico con formas dendríticas y otras originadas en aguajales, principalmente de agua negra.

Este enorme complejo de aguas continentales es fuente de vida no sólo para los pobladores de estas regiones sino que albergan una enorme diversidad de organismos desde los microscópicos (protozoarios y algas), los cuales forman la base de las redes tróficas hasta los grandes peces, reptiles y mamíferos.

Las aguas continentales del Perú se clasifican de acuerdo a sus características físicas, como **lóticas y lénticas**, pero también de acuerdo al estado trófico (riqueza de nutrientes) en: **oligotróficas** como aquellas lagunas o ríos que presentan escasos nutrientes, con poco o nulo impacto antropogénico, aguas por lo general prístinas; **mesotróficas**, con moderado contenido de nutrientes y, por lo tanto, una producción igualmente moderada; y las **eutróficas**, con abundante concentración de nutrientes y alta producción.

Por otro lado, muchos de los ríos y lagunas ubicados indistintamente en costa, sierra o selva reciben fuertes presiones de las poblaciones aledañas, ya sea como fuente directa de agua (uso doméstico, bebida para animales, riego, minería, etc.) como también por el uso desmedido e inadecuado del recurso (contaminación urbana o industrial).

Los inventarios de recursos hídricos son necesarios, pero serían más completos si son complementados con el conocimiento de sus componentes biológicos. De esta manera, tendrían mayor respaldo para dictar medidas de conservación de aquellos ecosistemas que muestren deterioro o pérdida de diversidad de componentes bióticos y calidad hídrica.

Las aguas continentales tanto lóaticas como lénticas, de acuerdo a sus características físico-químicas, albergan una serie de organismos agrupados en comunidades, las cuales desempeñan roles importantes como productores (fitoplancton, algas filamentosas, macrofitas) consumidores primarios, secundarios, terciarios (zooplancton, peces, zoobentos) y los descomponedores (bacterias, hongos, y algunos organismos del zoobentos).

Algunas de estas comunidades como las del perifiton, bentos (macroinvertebrados) y la mayoría del necton (peces) estarán mejor representadas en ecosistemas de aguas lóaticas (ríos, arroyos, quebradas); mientras que la comunidad del plancton tendrá un mejor desarrollo y representatividad en ecosistemas de aguas lénticas o quietas (lagos, lagunas, embalses, estanques, etc.).

Colecta de comunidades acuáticas

¿Qué hacer antes de salir al campo?

1. Planificar adecuadamente los muestreos, utilizando mapas altitudinales y de accesos, que muestren las cuencas y subcuencas del área a evaluarse, así como el área de estudio directo e indirecto. De lo contrario, utilizar croquis del área de estudio y referencias escritas, si las hubiera. Asimismo, seguir un cronograma detallado basado en el número de estaciones de muestreo y la accesibilidad a éstos.
2. Organizar los materiales y equipos adecuados, en variedad y número.
3. Elegir los métodos apropiados de acuerdo al propósito que persigan: estudio taxonómico, inventarios biológicos, estudio ecológico, monitoreo hidrobiológico o línea base.



Laguna Yanacocha, Ayacucho

El plancton es una comunidad acuática constituida por organismos vegetales fotosintéticos (fitoplancton), representado principalmente por microalgas, las cuales forman parte de varios grupos (algas verdes, rojas, diatomeas, fito flagelados, cianobacterias). La mayoría vive sin movimiento, en la zona fótica, suspendidos y a merced de los movimientos del agua. El otro constituyente de esta comunidad es el zooplancton, representado por organismos animales invertebrados, cuya característica distintiva es su tamaño, mayormente microscópico, con movilidad limitada y dependientes de los movimientos verticales y horizontales del agua.

Ambos componentes de esta comunidad se encuentran muy bien representados en ambientes acuáticos que no poseen corriente (lénticos) como lagunas, lagos, bofedales, embalses y estanques.

3.1 Metodología de colecta

3.1.1 Equipos y materiales



De protección personal

- ✓ Botas.
- ✓ Guantes de látex.
- ✓ Chaleco salvavidas (cuando el muestreo se hace desde una embarcación).



Para la colecta de muestras

- ✓ GPS.
- ✓ Ficha de campo (anexo I).
- ✓ Lápices y marcadores de tinta indeleble.
- ✓ Etiquetas de papel resistente al agua.
- ✓ Frascos de 50, 100 y 200 ml para las muestras.
- ✓ Botellas de vidrio color ámbar (150 ml).
- ✓ Viales de vidrio o plástico con tapa hermética (fitoplancton de red).
- ✓ Botellas de 2 litros de capacidad (muestras de agua para análisis químico).
- ✓ Botella hidrogáfica (Van Dorn, para muestras verticales, clorofila "a").



Para la colecta de muestras

- ✓ Baldes de 5 litros de capacidad.
- ✓ Red de plancton (nytal de 10 μ , 20 μ , 35 μ , de abertura de poro) para muestras de arrastre horizontal o vertical).
- ✓ Disco de Secchi (útil para determinar la transparencia del agua y la profundidad de iluminación).
- ✓ Equipo multiparámetro portátil (análisis físico-químicos in situ: temperatura, pH, conductividad eléctrica).



Reactivos para la fijación de muestras

- ✓ Solución de formol al 4-5 %.
- ✓ Lugol (para periodos de conservación cortos).
- ✓ M3: mezcla de formol, yoduro de potasio y ácido acético glacial.

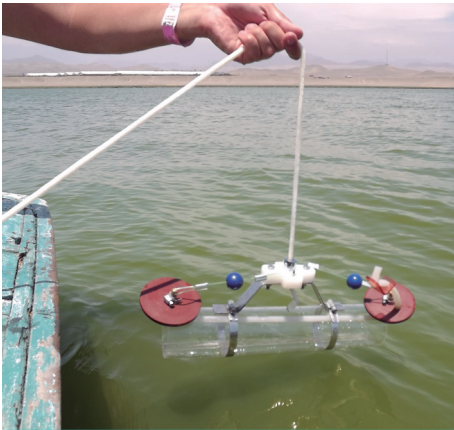


Figura 1: Muestreo con botella Van Dorn

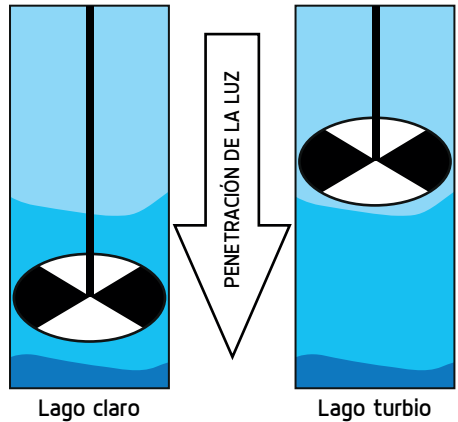


Figura 2: Disco Secchi

3.1.2 Técnicas de colecta

En la ficha de campo incluir:

- Localización del área de muestreo fijando las coordenadas (GPS).
- Descripción de la morfología y morfometría del lago (ancho, largo, tipo de orilla, profundidad promedio).

- Observación y descripción de las entradas y salidas de agua, vertidos puntuales, estado trófico del ecosistema y cobertura vegetal (macrófitos).
- Fijación de estaciones de muestreo, cuyo número dependerá del propósito del estudio. Deberán estar ubicadas en las orillas y en la parte central del ambiente acuático.
- Previo a la colecta de las muestras, se deberán medir algunos parámetros físico-químicos (transparencia, temperatura, conductividad eléctrica y pH), pues constituyen datos importantes que servirán en la interpretación de resultados.

Colecta de muestras cuantitativas

a. Muestras de superficie

Serán tomadas directamente con una botella de 150 ml de capacidad, de preferencia color ámbar, a 20-30 cm de profundidad. Llenar el frasco hasta el 90% de su capacidad.

b. Muestras estratificadas a diferentes profundidades

Se empleará una botella hidrográfica (Van Dorn) de volumen conocido. Pueden integrarse varias muestras, siempre y cuando tengan el mismo volumen.

c. Muestras concentradas

Mediante filtrado de un volumen conocido de agua a través de la red de plancton (Branco, 1978). La cantidad de agua filtrada dependerá del estado trófico del ecosistema: Oligotrófico (30 - 40 litros) y meso a eutrófico (10 - 20 litros). Este método se utiliza también para propósitos cualitativos.

Se puede estandarizar el método de modo, que los resultados sean semi-cuantitativos (en porcentaje de abundancia). Esto se realiza conociendo el volumen filtrado o realizando arrastres en distancias horizontales o profundidades pre establecidas.

Colecta de muestras cualitativas para estudios taxonómicos

Para este propósito es importante fijar varias estaciones, ya que el muestreo debe ser exhaustivo, tratando de abarcar la mayor extensión posible del lago, en orillas y zona abierta del ecosistema. Los métodos serán:

- Por arrastre horizontal y vertical, con el empleo de una red de plancton y desde una embarcación, hasta conseguir un filtrado visible. También desde la orilla efectuando lances repetidos.
- Filtrando volúmenes conocidos de agua a través de la red de plancton.

Equipos empleados:

- Cuando el muestreo se realiza en **lagos oligotróficos**, como es el caso de muchas lagunas alto andinas, se debe emplear redes de 10 y 15 μm de abertura de malla.



Figura 3: Laguna altoandina (Laguna Chun Chun, Lima)

- En **lagos mesoeutróficos**, como es el caso de lagunas “cochas” amazónicas y bofedales altoandinos, se emplearán redes de 20 μm - 35 μm de abertura de malla.



Figura 4: Laguna amazónica (Yanacocha)

○ Número de muestras

La colecta de muestras tanto cualitativas como cuantitativas deberá tener réplicas. Cuanto mayor sea el número de muestras por estación, será mejor (entre 3 a 6).

La finalidad de tener varias muestras por punto de muestreo es la de asegurar la correcta identificación, para que éstas puedan ser certificadas por otros especialistas (control de calidad) cuando se tienen algunas dudas en las identificaciones.

○ Periodos de muestreo

Estará sujeto a la finalidad del estudio.

Para estudios taxonómicos y líneas base se recomienda coleccionar dos veces por año, coincidentes con las épocas lluviosa y seca. Además, se recomienda la evaluación de parámetros fisicoquímicos (mencionados en el acápite 3.1.2).

Para estudios de productividad primaria, dos veces por año.

Para monitoreos, la frecuencia puede variar desde muestreos mensuales (en el caso de que se haga un seguimiento de vertidos al ecosistema), trimestrales, dos veces al año y anuales.

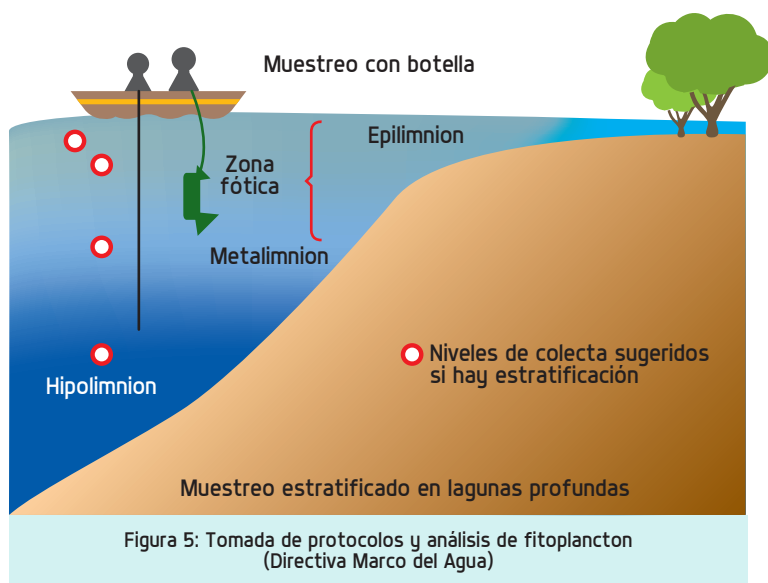
Es recomendable que el muestreo sea efectuado por la misma persona o equipo que inició el estudio.

Ejemplo de muestreo con requerimientos específicos

Para conocer el estado trófico del ecosistema (productividad primaria)

- Este método incluye el muestreo para análisis de clorofila "a".
- El método aplicado es del tipo cuantitativo. Para ello se emplean botellas hidrográficas (por ejemplo Van Dorn) con volúmenes determinados.
- Tomar muestras representativas de 0,5 a 2 l en puntos de superficie y a distintos niveles de profundidad, con ayuda del disco Secchi para determinar la zona fótica.
- Mantener la muestra en frío hasta el momento de ser filtrada.





3.1.3 Preservación y etiquetado

Muestras frescas o mantenidas en vivo

- Son de gran utilidad para la observación e identificación de fitoflagelados.
- Las muestras colectadas deberán ser mantenidas en refrigeración a 4 °C, en lugares sin luz y en frascos color ámbar. Conservarlas solo por espacio de 12 horas.

Muestras preservadas

- Los preservantes más usados son solución de formol al 4-5%, así como la solución de Lugol al 1% (0,5 ml/100 ml de muestra).
- Una vez colectada la muestra, ésta se vierte a un frasco por lo general de 200 ml, el cual deberá ser llenado con la muestra hasta las $\frac{3}{4}$ partes. Posteriormente, añadir el preservante hasta completar el volumen total, agitar la muestra y homogeneizar, para así evitar el enquistamiento de algunos organismos.
- Se recomienda que las muestras fijadas se guarden en lugares frescos y protegidos de la luz.

Etiquetado

- Todas las muestras deberán ser etiquetadas para facilitar su identificación.
- El papel de las etiquetas deberá ser especial (resistente al agua), ya que se colocarán dentro del frasco que contiene la muestra.
- Usar lápiz para anotar con letra legible (imprescible) los datos o código de: procedencia, colector, fecha y hora de colecta, tipo de muestra (cualitativa-cuantitativa) y método de colecta (directa, arrastre, filtrada).
- Estos mismos datos serán anotados en la libreta de campo.
- El código de muestra servirá de enlace en la base de datos de acuerdo al tipo de estudio.
- Proceder al cierre hermético y protección adecuada (sellar con cinta adhesiva) de cada una de las muestras para su transporte.

3.1.4 Metodología de colecta de zooplancton

El zooplancton es el componente animal del plancton y está conformado por organismos generalmente microscópicos y con movilidad limitada (protozoarios tecados, ciliados y flagelados, rotíferos, cladóceros y copépodos). Por lo general el zooplancton se encuentra asociado al fitoplancton pues la mayoría de estos organismos son filtradores.

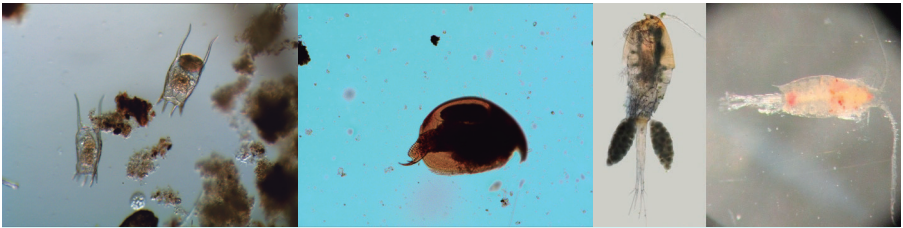


Figura 6: Algunos organismos del zooplancton: rotíferos, cladóceros y copépodos

Equipos y materiales



De protección personal

- ✓ Botas.
- ✓ Guantes de látex.
- ✓ Chaleco salvavidas (cuando el muestreo se hace desde una embarcación).



Para la colecta de muestras

- ✓ GPS.
- ✓ Ficha de campo (anexo I).
- ✓ Lápices y marcadores de tinta indeleble.
- ✓ Etiquetas de papel resistente al agua.
- ✓ Frascos de 50, 100 y 200 ml para las muestras.
- ✓ Baldes de 5 litros de capacidad.
- ✓ Red de plancton (nytal 60 μ , 70 μ , de abertura de poro).
- ✓ Equipo multiparámetro portátil (para análisis físico-químicos in situ: temperatura, oxígeno disuelto, pH, conductividad eléctrica).
- ✓ Cinta de embalaje.



Reactivos para la fijación de muestras

- ✓ Solución de formol al 4-5%.

3.1.5 Técnicas de colecta

La colecta del componente animal del plancton, cuando se trata de estudios taxonómicos (cualitativo), se realizará mediante arrastres horizontales y verticales, los cuales serán intensivos y deberán abarcar gran parte del ecosistema en el caso de lagos oligotróficos, disminuyendo la intensidad cuando se trata de lagos meso y eutróficos.

Si se quiere conocer la producción secundaria del zooplancton, el método empleado será el defiltrado de volúmenes de agua a través de las redes de plancton de 60 o 70 μ de abertura de malla. El volumen de agua filtrado también dependerá del estado trófico del ecosistema.

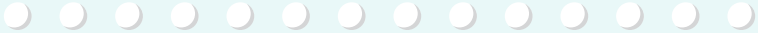
La preservación de las muestras de zooplancton se realiza empleando una solución de formol al 4%.

El etiquetado de las muestras es similar al empleado para el fitoplancton.

3.2 Identificación y análisis de las muestras

3.2.1 Identificación de fitoplancton

Equipo y material de laboratorio

- 
- ✓ Microscopio compuesto equipado con oculares de 10 o 12.5, y objetivos de 10x, 40x y 100x.
 - ✓ Cámara digital acoplada al microscopio.
 - ✓ Láminas y laminillas de 22 x 40 o 22 x 22.
 - ✓ Cámara de Sedgwick-Rafter.
 - ✓ Lámina o placa de Palmer.
 - ✓ Goteros.
 - ✓ Pipetas.
 - ✓ Colorantes (Lugol, azul de metileno, tinta china).
 - ✓ Formularios para anotar la lista de taxones.
 - ✓ Guías y claves de identificación. En la bibliografía (anexo 5), se presenta una relación de las referencias específicas para cada grupo de algas. Es importante la comprobación de las descripciones escritas de las especies (no basta comparar con dibujos o fotos) y tener en cuenta la información ecológica (distribución, hábitat, requerimientos, etc.).
 - ✓ Se recomienda realizar dibujos y/o fotos de utilidad como colección de referencia.
 - ✓ En caso sea necesario, realizar montajes permanentes o semipermanentes en Karo o Glicerina al 33 %, o también realizar cultivos para observar fases de desarrollo. Se recomienda revisar las metodologías específicas para cada grupo de organismos disponible en la literatura.

El trabajo de identificación debe realizarlo personal especializado (formación acreditada y experiencia comprobada). Para identificar muestras de referencia, procurar apoyo de expertos.

Técnicas específicas de acuerdo al taxa

Dependiendo de los grupos presentes y el nivel taxonómico requerido a identificar (familia, género y especie) es preciso aplicar diferentes técnicas de tinción con colorantes específicos como azul de metileno, Lugol o tinta china. Algunos grupos de algas, como las *diatomeas*, requieren tratamientos especiales de destrucción de estructuras, en donde se oxidan las algas y se montan en una resina de alto índice de refracción para poder determinar la especie.

3.2.2 Técnicas de análisis

a. Cualitativo

Consiste en realizar una identificación de los taxa presentes en la muestra, sin importar su cantidad. Se pueden hacer observaciones al microscopio con lámina-laminilla y realizar tratamientos específicos para cada grupo. Se recomienda hacer revisiones completas de cada lámina con un mínimo de 3 a 5 repeticiones por muestra (el número de repeticiones dependerá de la densidad de la muestra).

b. Cuantitativo

La cuantificación del fitoplancton es realizada estadísticamente, ya que no es posible contar todos los individuos que se encuentran en la muestra.

Se recomienda realizar una visualización de la muestra antes de iniciar el recuento, con la finalidad de confeccionar una lista de los taxa presentes en la muestra y tener una idea general de la densidad de organismos.

Existen varios métodos, uno de ellos es el de Sedgwick-Rafter. Para ello, se emplea la placa o cámara del mismo nombre, cuyas dimensiones son de 5 cm de largo por 2 cm de ancho y 1 mm de altura, con capacidad para 1 ml de muestra. El recuento de organismos puede hacerse por campos o por franjas. Se sugiere abarcar el mayor número de campos o franjas para que los resultados sean confiables. Los resultados se dan en número de individuos/ml. (APHA-AWWA-WEF; Branco, 1978).

Otros métodos válidos de conteo de algas incluyen:

- **Método de Palmer**, empleando la lámina o placa de Palmer, con capacidad para 0,1 ml de muestra (Branco, 1978). El conteo se realiza empleando objetivos de 40x.
- **Método de Lackey** (conteo entre lámina y laminilla), la capacidad es de 1/20 ml de muestra (aproximadamente 1 gota de muestra). Este método ayuda a contar nanoplancton (algas muy pequeñas) empleando aceite de inmersión para su visualización (100x) (Branco, 1978).

c. Semicuantitativo

Se aplica cuando no se necesita conocer el número exacto de organismos. Se realiza una identificación de la especie y se puede utilizar escalas de abundancia relativa en porcentaje, frecuencia relativa (muy abundante-abundante, frecuente, escaso) o porcentual, en base a un conteo aleatorio o a un estimado en el campo visual de por lo menos 3 a 5 láminas.

d. Método para análisis de pigmentos (clorofila "a")


La concentración de clorofila "a" es una medida indirecta de la biomasa del fitoplancton útil para determinar la productividad primaria de un determinado ecosistema. El procedimiento para su análisis incluye la concentración de fitoplancton, la extracción de pigmentos con una solución acuosa de acetona (90%) y la determinación de la densidad óptica (absorbancia) del extracto mediante un espectrofotómetro (Standard Methods APHA, 2005). Los resultados se dan en $\mu\text{g/L}$.

Equipos y reactivos

- Equipo de filtración.
- Bomba de vacío.
- Filtros de fibra de vidrio (0,4 – 0,6 μm de poro).
- Solución de carbonato magnésico.
- Solución de acetona (90%).
- Equipo necesario para mantener la muestra entre 4 °C-8 °C en el transporte al laboratorio.
- Espectrofotómetro.

3.2.3 Identificación de zooplancton

Equipo y material de laboratorio

- 
- ✓ Microscopio compuesto equipado con oculares de 10 o 12.5, y objetivos de 10x, 40x y 100x.
 - ✓ Cámara digital acoplada al microscopio.
 - ✓ Láminas y laminillas de 22x40 y 22x22.
 - ✓ Cámara de Sedgwick-Rafter.
 - ✓ Goteros.
 - ✓ Pipetas.
 - ✓ Estiletes y pinzas.
 - ✓ Colorantes (Rojo de Bengala).
 - ✓ Glicerina (1 %).
 - ✓ Guías y claves de identificación. En anexo 5, ver relación de referencias para cada grupo de zooplancton. Es importante la comprobación de las descripciones originales y considerar la información ecológica (distribución, hábitat, etc.). Se recomienda realizar dibujos y/o fotos, como colección de referencia.

Además del empleo de claves específicas para una adecuada identificación de los organismos, se recomienda seguir los siguientes procedimientos:

- a. Para identificar rotíferos, en la mayoría de casos, cuando no se tiene mucha experiencia, es necesario separar el mastax para determinar las especies.
- b. En el caso de cladóceros, se necesita separar el post abdomen además de realizar observaciones y mediciones de las características externas (forma del cuerpo, rostro, valvas, decoraciones).
- c. Cuando se trata de identificar copépodos, es preciso separar el quinto par de patas (modificado) de especímenes hembras para Cyclopoida y machos para Calanoida, además del primer par de anténulas de especímenes machos tanto de Cyclopoida y Calanoida.

Aquí el nivel taxonómico a determinar dependerá del objetivo de estudio.

3.2.4 Técnicas de Análisis

a. Cualitativo

Consiste en realizar una identificación de los taxa presentes en la muestra sin importar su cantidad. Se pueden hacer observaciones al microscopio con lámina-laminilla. Se recomienda hacer revisiones completas de cada lámina con un mínimo de 3 a 5 repeticiones por muestra.

En el caso de que la muestra sea escasa o rala, se recomienda analizarla íntegramente.

b. Cuantitativo

Previamente, se recomienda realizar una visualización de la muestra antes de iniciar el recuento, con la finalidad de confeccionar una lista de los taxa presentes en la muestra y tener una idea general de la densidad de organismos.

Para el recuento se utiliza la placa o lámina de Sedgwick-Rafter, cuyas dimensiones son de 5 cm de largo por 2 cm de ancho y 1 mm de altura, con capacidad para 1 ml de muestra. El recuento de organismos puede hacerse por campos o por franjas y en el caso de muestras ralas-escasas el conteo debe ser total.

Se sugiere abarcar el mayor número posible de campos o la totalidad de la muestra para que los resultados sean confiables.

Los resultados se dan en número de individuos/ml. (APHA-AWWA-WEF).

c. Semicuantitativo

Se aplica cuando no se necesita conocer el número exacto de organismos, se realiza una identificación de la especie y se puede utilizar escalas de abundancia relativa en porcentaje, frecuencia relativa (muy abundante-abundante, frecuente, escaso) o porcentual, en base a un conteo aleatorio o a un estimado en el campo visual de por lo menos 3 a 5 láminas.

3.3 Aseguramiento de la calidad

3.3.1 Colecta

- Preparar un formato que resuma de forma clara y didáctica los procedimientos a desarrollar en el trabajo de campo.
- Documentar los trabajos indicando la localización de las estaciones de muestreo (coordenadas GPS, profundidad de disco Secchi, tipo de muestra, datos físico-químicos que deben ser totalmente fiables).
- Asegurar la correcta conservación de las muestras para ser identificadas y para los análisis de pigmentos (clorofila "a").

3.3.2 Identificación y análisis de la muestra

- Redactar los métodos usados en laboratorio incluyendo todos los pasos a seguir.
- Capacitar al personal en la aplicación correcta de cada procedimiento o uso de equipos.
- Calibrar los equipos y los métodos de forma regular.
- Enviar muestras duplicadas para el análisis (identificación y recuento) a laboratorios externos, de ser posible a un especialista en taxonomía y recuento de plancton.
- Participar en pruebas de inter calibración.
- Todos los resultados de las medidas efectuadas en campo y de los análisis en laboratorio se confrontaran para identificar el grado de correspondencia.

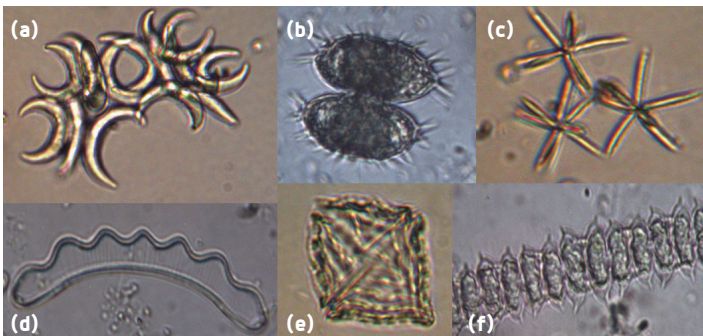


Figura 7: (a) Selenastrum, (b) Staurastrum, (c) Actinastrum, (d) Eunotia, (e) Lophodinium, (f) Onychonema

Perifiton es la matriz de algas y microorganismos heterótrofos adherida a estructuras sumergidas en casi todos los ecosistemas acuáticos.

Son los productores primarios y, por lo tanto sensibles, al cambio ambiental en ambientes lóticos. Esta cualidad ha adquirido un valor importante en el estudio de los lagos, ya que se utilizan como bioindicadores debido a que miden y cuantifican la magnitud del estrés, así como las características del hábitat y la respuesta ecológica al daño de un ecosistema (De la Lanza *et al.* 2000). Las microalgas que lo conforman son sensibles a las fluctuaciones internas del cuerpo de agua y a las condiciones ambientales que prevalecen, viéndose afectada su distribución (Margalef 1983).

Debido a que esta comunidad se adjunta al sustrato, se puede integrar de forma física y química a las perturbaciones de la corriente y de los nutrientes.

Características de la comunidad del perifiton:

- De manera natural presenta un gran número de especies.
- Identificación de especies a un nivel experimentado por los biólogos.
- Facilidad de la toma de muestras, ya que si bien se requiere personal capacitado no se necesitan muchas personas.

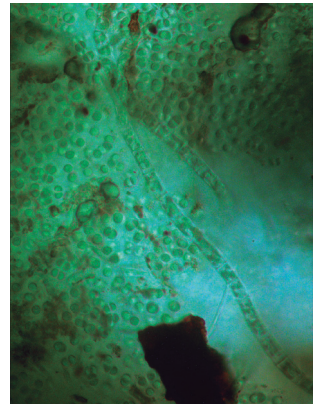


Figura 8: Microalgas del perifiton

4.1 Metodología de colecta

Se define en base a los objetivos del estudio y en base a los sustratos disponibles a lo largo del tiempo, en los diferentes ecosistemas acuáticos que presenta nuestro país.

Además, debe tomarse en cuenta que la ubicuidad, diversidad, eficiencia de muestreo y respuesta a un estrés físico o químico son atributos que presentan las microalgas del perifiton para su uso en evaluaciones biológicas (Patrick 1973, Stevenson and Lowe 1986).

Para los estudios de Línea Base o inventarios biológicos, la metodología se basa en tipos de sustrato disponibles y para monitoreos ambientales en sustratos duraderos en el tiempo.

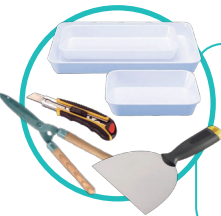
Aquí hay que decidir si se realizará una colecta de multi hábitat o por hábitat específico, ya que en el primero se puede obtener un mejor conocimiento de la diversidad, mientras que en el segundo podríamos tener una imagen de lo que sucede en torno a la calidad de agua y un hábitat específico. Sin embargo, se podría estar perdiendo información de otros hábitats presentes en el ecosistema.

4.1.1 Equipos y materiales



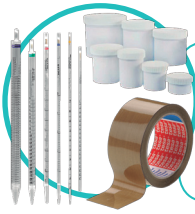
De protección personal

- ✓ Botas.
- ✓ Traje para agua.
- ✓ Chalecos salvavidas.
- ✓ Línea de vida, etc.



Para la colecta de muestras

- ✓ Espátula.
- ✓ Cuchillas de diferentes tamaños.
- ✓ Cepillo.
- ✓ Tubo de PVC de dos pulgadas de diámetro por 10-15 cm de largo.
- ✓ Pincel de pelos de marta N° 0.
- ✓ Tijera de podar de jardinero (para plantas acuáticas).
- ✓ Bandeja.



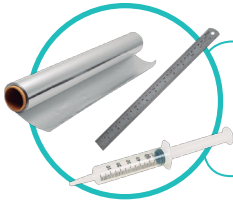
Para la colecta de muestras

- ✓ Pipetas de plástico.
- ✓ Frascos de plástico de diferente capacidad con doble tapa (50, 100, 250 ml).
- ✓ Etiquetas.
- ✓ Cinta de embalaje fuerte (color plomo).
- ✓ Libreta de campo.



Reactivos para la fijación de muestras

- ✓ Formol 4-5 % o la solución M3 (recomendada por la APHA).
- ✓ Lugol 1 %.
- ✓ Agua destilada (calcular al menos medio litro por cada estación ya que hay que enjuagar los materiales de colecta).



Adicionales

- ✓ Jeringa de succión.
- ✓ Papel aluminio.
- ✓ Escala métrica.

4.1.2 Técnicas de colecta

¿Cómo elegir la zona de muestreo?

Para elegir la zona de muestreo, primero se debe tener en cuenta que la zona sea accesible, estable y que no exista riesgo de daño personal.



Figura 9: Colecta de muestras del perifiton

Ambientes lóticos: ríos, quebradas, arroyos

- Preferir las zonas sin sombra, a no ser que ésta sea la característica distintiva del punto a evaluar.
- Los sustratos de zonas emergidas o que presumiblemente lo hubieran estado en algún momento reciente, no son los más representativos, ya que es posible que no se haya desarrollado una comunidad madura.
- Las muestras deben ser obtenidas de preferencia del punto medio del río, en zona de corriente y no en la orilla.



Figura 10: Río andino (Cangalle)

Ambiente lénticos: lagos, lagunas

- Los sustratos elegidos deben haber estado en zonas ya inundadas para el momento de la colecta y no inundadas recientemente. Esto se puede corroborar por ejemplo en los Andes, no menos 3 a 6 semanas, y en la amazonía, 1 a 2 semanas. La variación en el tiempo va a depender de la intensidad luminosa y la temperatura.



Figura 11: Laguna andina (Querococha, Ancash)



Figura 12: Laguna amazónica

4.1.2.1 Colecta por tipo de sustrato

Sustratos duros removibles (rocas, cantos rodados)

Raspado de la superficie de las rocas. Se recomienda sobre todo en sustratos con superficie rugosa; proceder luego del raspado a realizar un cepillado suave de la zona muestreada y enjuagar con agua destilada, ya que algunas microalgas pueden haberse quedado en las hendiduras. En caso se pueda realizar un transecto en las quebradas, puede tomarse sustratos de diferentes tamaños o, en su defecto, un área definida en cada roca.



Figura 13: Perifiton en sustrato duro removible



Figura 14: Perifiton en sustrato duro no removible

Sustratos duros no removibles (rocas mayores a 256 mm, árboles, arbustos, raíces)

Se raspa o se succiona una porción de la roca. Para el caso de tallos gruesos o raíces largas, se retira la parte superficial de tejido, asegurándose que ésta haya estado sometida a la humedad. En zonas tropicales, la recomendación sería ver la huella de humedad y tomar 10 cm por debajo. Si la inundación ha sido reciente, no se observará la huella de humedad en el árbol o arbusto y se corre el riesgo que se colecta una comunidad que recién se está estableciendo.

Sustratos blandos (musgos, macroalgas, plantas vasculares acuáticas, raíces)

Corte de una porción de la planta que se encuentre sumergida, dependiendo del tipo de planta y nivel de corriente. Se puede ayudar con un frasco colector o una bolsa para aislar el área colectada. Posteriormente, en la medida de lo posible, retirar en el mismo lugar de muestreo la comunidad con la ayuda de un pincel, navaja o cuchilla, según sea el caso; de no ser posible fijar con lugol y realizar este trabajo en el campamento antes de agregar el formol.

Sedimento superficial (arena, limo, materia particulada orgánica)

La recomendación general es tomar la muestra con una placa Petri; sin embargo, para el fácil transporte de los implementos sugerimos tener un tubo de PVC de dos pulgadas el cual con la ayuda de una espátula hace posible la colecta del sedimento superficial.



Figura I5: Sedimento superficial

Se debe realizar un registro fotográfico de cada sustrato.

4.1.2.2 Área de colecta

Si los estudios van a ser cuantitativos, se necesita conocer el área colectada de todos los sustratos. Esto se obtiene calculando la superficie del sustrato, llevándola a la forma de un cuerpo geométrico (por ejemplo: cilindro para tallo, cilindros y conos para raíces ramificadas, etc.). Para calcular superficies en piedras, se cubre la superficie con papel de aluminio y luego se calcula el área por papel milimetrado o analizador de imágenes. Para este fin se pueden usar diferentes escalas.

4.1.3 Preservación y etiquetado

Preservación de la muestra

Cada muestra será depositada en diferentes frascos. Si el estudio es cuantitativo, la cantidad de agua destilada utilizada debe ser conocida, para poder realizar los cálculos de individuos por área. Si los estudios son semi-cuantitativos, la cantidad de agua destilada necesaria debe ser suficiente para que cubra la muestra en el doble de volumen de la misma. Si los estudios son cualitativos, se procede de igual manera que los semi-cuantitativos.

El fijador más utilizado en nuestro medio sería el formol al 4-5%; sin embargo, se recomienda fijar previamente con una solución de Lugol (0.5-1 ml dependiendo de la cantidad de material) agitar suavemente y de manera homogénea luego de quince minutos agregar el formol al 4%. La APHA recomienda utilizar también el fijador M3. Para otros estudios como clorofila, cenizas o peso seco no se necesita utilizar ningún fijador, pero sí mantener la muestra en frío.

Etiquetado:

Se procederá a rotular y etiquetar cada frasco consignando:

- Código de la estación de muestreo.
- Nombre del cuerpo de agua.
- Tipo de sustrato o sustratos.
- Fecha de la recolección.
- Fijador utilizado.
- Área en caso esta se encuentre determinada.
- Datos del colector.

Posteriormente se sellarán para su transporte. El código de muestra servirá de enlace en la base de datos de acuerdo al tipo de estudio.

Colecta multihábitat o en un solo hábitat

Dependiente del tipo y objetivo de evaluación. En los estudios de biodiversidad con enfoque cualitativo, se consideran diferentes sustratos naturales de la zona (macrofitas, piedra, arena, limo, etc.).

En este caso, se procederá a tomar muestras por tipo de sustrato, pudiendo hacerse compuestas o mantenerse por separado en la medida en que los datos sean utilizados posteriormente para planes de manejo o monitoreo en donde el sustrato debe ser idealmente el mismo.

4.2 Identificación y análisis de las muestras

4.2.1 Identificación

La identificación de los componentes de esta comunidad se debe realizar, siempre que sea posible, a nivel de especie aunque hay análisis que pueden realizarse a nivel de género. Es recomendable para un inventario de biodiversidad llegar a cada especie y, de no ser esto posible, tener en cuenta una clasificación alterna como sp.1, sp.2.

Equipo y material de laboratorio

- ✓ Microscopio compuesto equipado con oculares de 10 o 12.5, y objetivos de 10x, 40x y 100x.
- ✓ Cámara digital acoplada al microscopio.
- ✓ Láminas y laminillas de 22 x 40 o 22 x 22.
- ✓ Goteros.
- ✓ Pipetas.
- ✓ Estiletes y pinzas.
- ✓ Placas Petri de diferentes tamaños.
- ✓ Colorantes (Lugol, azul de metileno, Rojo de Bengala, etc.).
- ✓ Formularios para anotar la lista de taxones.
- ✓ Guías y claves de identificación.

En la bibliografía (anexo 6), se presenta una relación de las referencias específicas para cada grupo de algas. Es importante la comprobación de las descripciones escritas de las especies (no basta comparar con dibujos o fotos) y tener en cuenta la información ecológica (distribución, hábitat, requerimientos, etc.). Se recomienda realizar dibujos o fotos de utilidad como colección de referencia.

Técnicas específicas de acuerdo al taxa

Algas blandas (no diatomeas)

En ocasiones es necesario agregar azul de metileno o tinta china para notar los mucílago, cuando éstos sean un carácter taxonómico. Por ejemplo, Cyanophyceae. O realizar un montaje semipermanente en Karo o en Glicerina 33% por ejemplo, Chlorophyceae, Zygnematothyceae.

Si el estudio es cuantitativo o semicuantitativo, se deben contar los filamentos como un individuo. En caso se usen cámaras de conteo o placas Petri para filamentos largos, se debe contar toda el área.

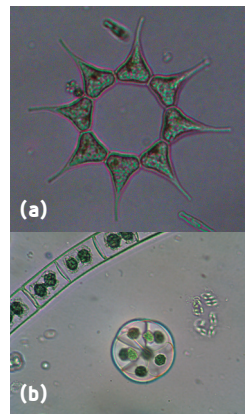


Figura 16: Algas blandas.
(a) Pedicellium,
(b) Zygnema Gloeocystis

Diatomeas

Se deben limpiar los frústulos mediante un proceso de oxidación con un ácido o base fuertes para posteriormente realizar láminas de montaje permanente en una resina de alto índice de refracción (Naphrax, Zrax, Hyrax, etc.). Para este grupo se puede requerir un microscopio con contraste de fase para la identificación de géneros de menor tamaño. Se recomienda ver el anexo. 2 Limpieza de los frústulos.

Para análisis de diatomeas se debe realizar un conteaje de los frústulos, este se recomienda realizarlo en 500 a 600 valvas, aunque algunos estudios han utilizado hasta 1000 valvas. En estudios profundos de biodiversidad es mejor contar la totalidad de la lámina a 100 x (Morales, 2008).

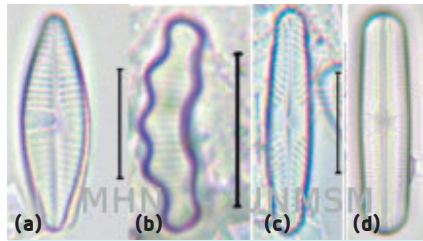


Figura 17: Diatomeas. (a) Phlanothidium, (b) Eunotia, (c) Pinnularia, (d) Sellaphora

Microorganismos

En caso sea necesario tratar especialmente algunos grupos para su identificación, se deben separar de la fracción algal y proceder según sea necesario: disecciones, destrucción de estructuras, tinción con Rojo de Bengala, etc.

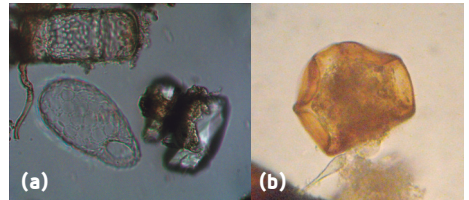


Figura 18: Organismos Protozoarios. (a) Trinema, (b) Arcella

Estudios detallados de biodiversidad pueden requerir la utilización de microscopía electrónica o el cultivo de algunos organismos aislados para poder obtener todos los estadios de desarrollo, necesario para una adecuada taxonomía.

4.2.2 Técnicas de análisis

a. Cualitativo

Consiste en realizar la identificación de los taxa presentes en la muestra sin importar su cantidad. Se pueden realizar observaciones al microscopio con lámina-laminilla y tratamientos específicos para cada grupo. Es necesaria aquí al menos una revisión completa de la lámina con 3 a 5 repeticiones dependiendo del tamaño de la laminilla a utilizar. La bibliografía consultada debe ser especializada, como en Perú aún no poseemos claves taxonómicas nacionales, se deben tener en cuenta claves regionales y mundiales con el cuidado de que no todas las algas son cosmopolitas y que existen especies propias para los Andes y la Amazonia.

b. Cuantitativo

Para este análisis es indispensable conocer el área de la colecta teniendo en cuenta el tipo de sustrato para el cálculo así como la cantidad de agua destilada utilizada en la preservación de la muestra. El resultado es expresado en **densidad absoluta**: número de individuos/unidad de superficie. Se pueden utilizar cámaras de conteo como la de Sedgwick- Rafter o se puede calcular el volumen de muestra analizada en otro tipo de lámina siempre y cuando se analice todo el campo, se pueden usar laminillas de 22x22 o 22x40.

c. Semicuantitativo

Este análisis se puede expresar en **densidad relativa** y se puede llegar a él por el cálculo del número de individuos de la especie A/número total de todos los individuos de todas las especies presentes. También se puede aplicar el **área mínima** por el método gráfico de área por especies adicionadas, el cual llega al área mínima en cada muestra cuando un incremento del 10% en los campos observados corresponde a un aumento menor al 10% de taxa adicionados (taxa nuevos).

La metodología de la SMEWW 21st Ed. 2005. Part 10300C. Pág 10-34. APHA-AWWA-WEF. Periphyton Sample Analysis, requiere el uso de una cámara Sedgwick-Rafter (recomendada para organismos por encima de 200 micras). Sin embargo, para organismos más pequeños, que son los más abundantes en el perífiton, se sugiere hacer un preparado sobre una lámina y una laminilla y proceder a la identificación; la parte 10300E menciona que no existe un método universalmente aceptado.

Para una identificación específica se realizan tratamientos correspondientes a cada uno de los diferentes grupos que pueden integrar el perífiton, constituida en su mayoría por microalgas.

4.3 Aseguramiento de la calidad

4.3.1 Colecta

- Precisión: hábitat definido.
- Rango de performance: diferencia vs eficiencia de diferentes tipos de sustrato.
- Interferencias: limitantes físicas (velocidad de la corriente, profundidad).
- Clima.
- Personal entrenado.
- Etiquetado correcto.

4.3.2 Identificación y análisis de la muestra

- Calibración de los equipos regularmente.
- Manejo adecuado de las muestras en el laboratorio mediante un protocolo interno.
- El personal debe demostrar una capacitación constante.



BENTOS (MACROINVERTEBRADOS)

Se consideran como macroinvertebrados a todos los animales invertebrados que tienen un tamaño superior a 500 μ . Constituyen el grupo dominante en los ríos, aunque también se encuentran en la zona litoral y el fondo de lagos y lagunas. Los macroinvertebrados que habitan en los ecosistemas fluviales están ampliamente representados por diferentes familias de moluscos y larvas de insectos, aunque dependiendo del tipo de río también pueden ser comunes los crustáceos, oligoquetos, anélidos, nematodos e hirudíneos.

5.1 Metodología de colecta

Al igual que las anteriores comunidades, la metodología de colecta se define en base a los objetivos del estudio y en base a los sustratos disponibles en los diferentes ecosistemas acuáticos.

5.1.1 Equipos y materiales



Básico

- ✓ Protección personal (botas, traje para agua, chalecos salvavidas, línea de vida, etc.).
- ✓ Redes de muestreo.
- ✓ Bandejas blancas (mínimo 20 x 30 cm).
- ✓ Pinzas entomológicas.
- ✓ Frascos de plástico con tapón hermético de ¼ de litro como mínimo.
- ✓ Viales de plástico o vidrio (para el recojo de ejemplares aislados).
- ✓ Bolígrafo o rotulador permanente (para etiquetar las muestras).
- ✓ Etiquetas de papel vegetal u otro resistente a la humedad.
- ✓ Lápiz, tijeras, cinta aislante.
- ✓ Cámara digital.
- ✓ Alcohol 70 %.
- ✓ Hojas de campo y cartografía.



Figura 19: Tamiz y bandeja

5.1.2 Técnicas de colecta

El objetivo fundamental del muestreo consiste en recolectar la mayor diversidad posible de macroinvertebrados. Para ello deben explorarse cuidadosamente cada uno de los hábitats posibles en cada lugar de muestreo, esto incluye el sustrato de fondo (piedra, arena, lodo, restos de vegetación), macrofitas acuáticas (flotantes, emergentes y sumergidas), raíces sumergidas de árboles y sustratos artificiales (restos de basura que puedan estar presentes, diques, etc.). Para obtener resultados comparables, el esfuerzo de muestreo debe cubrir un área entre 100 m y hacerse durante 20 o 30 minutos.

Muestreo en aguas poco profundas

La red de pantalla es la ideal para obtener en estos hábitats la mayor diversidad posible. Para las orillas es recomendable la red D-net.

Muestreo en aguas profunda

En la mayoría de los casos el muestreo debe hacerse en las orillas hasta un metro de profundidad, moviendo la red de mano (D-net) en forma de barrido sobre la vegetación y el fondo. También se usa la draga de Eckman para fondos lodosos.

Muestreo en aguas de poca corriente o estancada

Conviene usar la red de mano de la misma manera que para aguas profundas. El fondo debe barrerse solo superficialmente. Adicionalmente, deben recogerse piedras, ramas, hojas y otros objetos que pueda haber en el lugar.

Recomendaciones:

- No muestrear después de lluvias intensas, pues puede haber pérdida de organismos locales o encontrarse otros arrastrados por la corriente.

- b. En grandes ríos debe muestrearse en ambas orillas, pues la fauna puede ser diferente debido a la sombra, meandros, composición del fondo y eventual contaminación.
- c. No debe muestrearse en la confluencia inmediata de dos ríos, sino más abajo de la zona de mezcla.
- d. Recolectar plantas flotantes o sumergidas para posterior análisis en el laboratorio.

5.1.2.1 Métodos de recolección cualitativos

Red tipo D-net

Esta red se usa para hacer un “barrido” a lo largo de las orillas o recodos de la corriente donde no es posible llegar con la red de pantalla. Tiene la ventaja de que su forma triangular se adapta bien a las superficies irregulares de las orillas. Su uso debe ser intensivo hasta cubrir un área representativa del lugar de muestreo (10 m a lo largo de ambas orillas). El material recolectado se vacía sobre un cedazo, o simplemente sobre una red, para lavar el exceso de lodo o arena, luego se guarda en una bolsa plástica o un recipiente de plástico con alcohol al 70% para ser examinado posteriormente en el laboratorio.

Red de mano o pantalla

Consiste en usar una red de más o menos 1 m² con un ojo de malla de 500 μm aproximadamente; la red esta sujeta a dos mangos de madera o aluminio. Una persona se coloca en contra de la corriente y sostiene la red con ambas manos, mientras la otra, colocada en dirección de la corriente, remueve el fondo con los pies o con las manos (se recomienda usar guantes fuertes). El material removido se acumula en la red y con él, las larvas que haya en el sustrato. Este procedimiento debe repetirse por lo menos tres veces o hasta que se haya cubierto un área de unos 6 m² aproximadamente. Es recomendable examinar en el mismo campo el material acumulado en la red; de no ser posible por razones de tiempo, se procede de la misma manera descrita para la red D-net.

Recolección manual

Consiste en levantar rocas, piedras, ramas sumergidas y troncos en cuya superficie se encuentran numerosos organismos adheridos. Los organismos deben ser tomados con pinzas de aluminio u otro material suave o con la ayuda de pinceles con el fin de no dañar las estructuras externas de los organismos recolectados. El material se guarda directamente en viales o frascos pequeños con alcohol al 70%. Esta práctica debe repetirse muchas veces hasta cubrir un área que se considere representativa (10 a 15 m²). El muestreo se considera suficiente cuando comienzan a aparecer de manera repetitiva los mismos organismos.



Figura 20: D-net



Figura 21: Red pantalla

5.1.2.2 Métodos de recolección cuantitativos

Red Surber

Consta de un marco metálico de 30 x 30 cm, al cual está sujeta una red de unos 80 cm de longitud y con una abertura de malla de aproximadamente 500 μ . El marco se coloca sobre el fondo y en contra de la corriente y con las manos se remueve el material del fondo, quedando atrapados los organismos en la red. Esta operación se repite al menos tres veces en cada estación de muestreo, pudiéndose calcular el número de organismos por m^2 . El material colectado se vacía luego en un recipiente con alcohol al 70% para ser separado en el laboratorio. El material biológico recolectado también puede convertirse en peso seco y expresado en g/m^2 .



Figura 22: Muestreo con red Surber

La red Surber también puede usarse para recolección cualitativa colocándose indiscriminadamente sobre varios lugares de la corriente, pero es importante saber que ésta ha sido diseñada para uso cuantitativo.

Draga Eckman

Es una de las más utilizadas para tomar muestras de fondo blando. Consiste de dos estructuras en forma de pala que se cierran mediante el envío de un mensajero o plomada, a través de una cuerda. Las muestras son cuantitativas ya que toman un área de 225 cm^2 cada vez. Este procedimiento, como los anteriores, debe repetirse mínimo tres veces en cada estación de muestreo. El sedimento colectado se deposita en un cernidor (los orificios varían de acuerdo al tipo de sedimento) donde se lava quedando atrapados los organismos recolectados.

Draga Petersen

Se usa para muestrear fondos pedregosos. El modelo estándar es bastante pesado por lo que normalmente requiere de botes con polea mecánica o manual para operarla. Debido a su peso y forma causa una fuerte onda de choque en sedimentos blandos cuando se baja rápidamente. Las palas pueden fácilmente quedar abiertas y por ello lavarse el material al subirla.

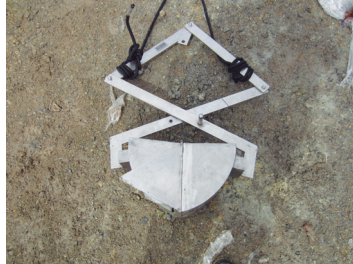


Figura 23: Draga Petersen

Draga Tamura

Ideal para muestreo en ríos profundos, con fondo arenoso. En sustratos duros o irregulares la draga cae volteada y su cierre es obstruido por rocas, perdiéndose el material colectado.



Figura 24: Draga Tamura

5.1.3 Preservación y etiquetado

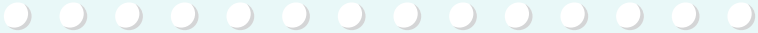
- Las muestras deben conservarse en alcohol etílico al 70%.
- La cantidad utilizada del preservante debe ser la suficiente para que cubra toda la muestra colectada. Los frascos deben estar rotulados, etiquetados con datos de localidad, cuenca, fecha, tipo de sustrato, colector.

El código de muestra servirá de enlace en la base de datos de acuerdo al tipo de estudio.

5.2 Identificación y análisis de las muestras

5.2.1 Identificación

Equipo y material de laboratorio

- 
- ✓ Equipos de protección personal (guantes, mascarilla, gafas).
 - ✓ Lavatorio.
 - ✓ Bandejas blancas de plástico (mínimo 30 x 20 cm).
 - ✓ Tamices de 5 mm, 1 mm y 0,5 mm (Metodología Multimétricos).
 - ✓ Placas Petri.
 - ✓ Pinzas entomológicas y/o aspirador entomológico.
 - ✓ Viales de plástico y otros recipientes con tapones herméticos.
 - ✓ Contadores.
 - ✓ Estéreo-microscopio.
 - ✓ Rotulador resistente al agua.
 - ✓ Etiquetas.
 - ✓ Formularios previamente preparados para anotar la identificación y recuentos. Pueden contener una lista de taxa con espacios en los que se indica su presencia en la muestra y anotar el recuento; también puede usarse un programa de ordenador preparado para la entrada directa de datos.
 - ✓ Guías de identificación: adecuadas al ámbito de estudio.

5.2.2 Técnicas de análisis

Las muestras colectadas se colocan en bandejas blancas, bien iluminadas, y con la ayuda de pinzas de aluminio de punta fina se procede a la separación de los organismos. El sedimento se va removiendo cuidadosamente de un extremo a otro de la bandeja, hasta asegurarse de que

no queden organismos. Debe tenerse en cuenta que cuando no se tiene suficiente experiencia muchos organismos pueden pasar inadvertidos, bien sea por su tamaño o por estar camuflados con los restos de vegetación o sustratos minerales. Este trabajo debe ser realizado o supervisado por personas debidamente capacitadas.

Cualitativo

La identificación de los organismos debe ser hasta el nivel taxonómico más bajo posible; sin embargo, en la mayoría de casos se puede determinar hasta el rango de familia o género.

Cuantitativo

Luego de la identificación se realiza un conteo de todos los organismos de la muestra, teniendo en cuenta el área total de la colecta.

Semicuantitativo

Se puede utilizar placas con divisiones para hacer un conteo aproximado teniendo en cuenta porcentajes de abundancia relativa o la utilización de escalas de abundancia como referencia (muy abundante, abundante, frecuente, escasa).

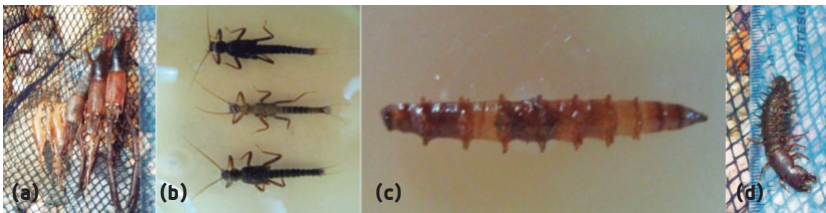


Figura 25: Muestras de bentos. (a) Decapoda, (b) Plecoptera, (c) Diptera, (d) Megaloptera

5.3 Aseguramiento de la calidad

5.3.1 Colecta

- Hábitat definido.
- Personal capacitado.
- Etiquetado correcto.

5.3.2 Identificación y análisis de la muestra

- Manejo adecuado de las muestras en el laboratorio mediante un protocolo interno.
- El personal debe demostrar una capacitación constante.

Los peces de aguas continentales en nuestro país habitan todos los ambientes posibles desde el nivel del mar, cerca de la desembocadura de los ríos en el Océano Pacífico, hasta altitudes aproximadas a 4700 m en lagunas alto andinas (Tinquicocha, Raura).

La gran diversidad de especies válidas llega a 1064, de acuerdo a nuestra más reciente lista oficial (Ortega *et al.*, 2012). Comprendiendo formas adultas desde 15 mm de longitud estándar (*Tytocharax tambopataensis*) hasta poco más de dos metros de longitud total (*Electrophorus electricus*) o más de 100 kg como ocurre con *Arapaima*. Los peces están representados en las tres regiones del país, desatacándose la riqueza que existe en aguas amazónicas y las formas endémicas de las cuencas alto andinas y costa norte. Además, existen peces que viven entre la mezcla de agua, arena y hojarasca en playas de quebradas y arroyos de bosque (*Brachyhypopomus*, *Scoloplax*, *Rivulus*, *Pariolius*). Los estudios sobre peces en nuestro país abarcan aspectos taxonómicos, sistemáticos y ecológicos; evidenciados en diferentes publicaciones.

La colecta de peces se puede realizar a través de varios métodos y empleando diversos aparejos, los cuales varían de acuerdo al objetivo del estudio: inventarios biológicos intensivos o rápidos, evaluaciones hidrobiológicas para estudios de impacto ambiental, muestreos de ecología trófica u obtener muestras para realizar análisis en laboratorios especializados (metales pesados en tejidos u órganos, componentes sanguíneos, composición bioquímica, información genética, mediante cromosomas o fracciones de ADN, etc.).

Por otro lado, es muy importante contar con datos descriptivos del ambiente acuático que en lo posible deben incluir datos fisicoquímicos básicos como pH, oxígeno disuelto, conductividad y temperatura, los que deben ser tomados al momento de las colectas de peces. Esta información se puede relacionar a la **composición y abundancia** de peces permitiendo ser utilizados como indicadores comunitarios del estado ecológico de los cuerpos de agua evaluados.

El protocolo que se pone a consideración, tiene como principal objetivo precisar las pautas metodológicas para llevar a cabo los principales tipos de muestreo de campo, trabajo en laboratorio, identificación de los peces, analizar la información relacionada y llegar a determinar el estado de conservación del ecosistema fluvial.

6.1 Metodología de colecta

Es importante buscar información previa a la salida de colecta, sobre la zona geográfica, mapas, libretas de campo, fotografías aéreas, imágenes satelitales, características del clima, contactos con gente de la región, rutas de acceso, etc. Esto permitirá decidir mejor las zonas de evaluación y la accesibilidad a las mismas.

La captura básica de peces se realiza empleando métodos físicos (redes y trampas) y la idea de estandarización se enfatiza por la calidad de datos y la obtención de muestras biológicas. Además, es necesario determinar las dimensiones de las redes a emplearse, la malla y precisar número de lances, o el tiempo – esfuerzo, empleado en las colectas.

Por otro lado, una corriente de estandarización internacional viene recomendando la inclusión del método de **“muestreo de peces mediante electricidad”** (o electropesca) con equipos especializados (conocidos como “electrofisher”). Esta normativa debería ser desarrollada localmente y que permita caracterizar la composición, abundancia y clases de edad de la ictiofauna de ríos, aunque debe estar relacionado con los valores de conductividad óptimos para ser verdaderamente útiles. En nuestro país, el empleo de equipos de este tipo solo es realizado por algunas empresas consultoras que cuentan con presupuesto para adquirir estos instrumentos que son de alto valor económico, y que están por ello fuera del alcance de la mayoría de instituciones nacionales como universidades e incluso ONGs.

Contrario a lo mencionado previamente, se resalta que no debe emplearse ningún método de colecta que implique el vertimiento de sustancias químicas al hábitat acuático, los que incluyen tanto métodos de pesca tradicional (barbasco, huaca o cualquier otra planta) como químicos (rotenona, insecticidas, etc.). Tampoco debe considerarse el uso de explosivos. Estos métodos no son selectivos y sus efectos permanecen en el ecosistema por más tiempo, teniendo efectos negativos, fuertes y directos en el tamaño poblacional de la mayoría de especies acuáticas (incluyendo peces).

6.1.1 Equipos y materiales



De protección personal

- ✓ Indumentaria adecuada dependiendo del lugar y clima.
- ✓ Guantes descartables.
- ✓ Guantes gruesos para manipulación de muestras sumergidas en soluciones de fijación.



Básico

- ✓ Permisos de colecta pertinentes, carta de presentación, etc.
- ✓ Cintas métricas (50 m mínimo).
- ✓ Redes de arrastre de malla fina (5 x 2.5 m y 10 x 3m, malla 5 mm.).
- ✓ Redes de cerco para delimitar los tramos (para estimar abundancia).
- ✓ Redes de lance (atarrayas).
- ✓ Redes de mano: jamu o calcal.
- ✓ Líneas y anzuelos.
- ✓ Baldes de plástico de 20 litros.
- ✓ Ictiómetro.
- ✓ Balanza de campo.
- ✓ Formularios de campo (papel resistente al agua).
- ✓ Bolsas de plástico de tamaño variado (Ziploc).
- ✓ Pinzas.
- ✓ Rotulador de etiquetas plásticas y lápices.
- ✓ Cuerdas y flotadores para fijar transectos.
- ✓ Cinta métrica lastrada para medir profundidades.
- ✓ Adicionalmente se puede disponer de una cámara fotográfica sumergible.



Reactivos para la fijación de muestras

- ✓ Alcohol etílico al 70 % y 96 %.
- ✓ Reactivos químicos para fijación (formol).
- ✓ Anestésico para peces (por ejemplo, MS-222 o Euglenol).



Si se realiza pesca eléctrica

- ✓ Equipo de pesca eléctrica (por ejemplo modelo Smith-Root LR24).
- ✓ Redes de mano o calcales (al menos 3), con mangos no conductores.
- ✓ Guantes dieléctricos.
- ✓ Baldes plásticos de 20 litros (para anestésico y para recuperación).
- ✓ Ropa aislante adecuada para cada integrante (por ejemplo: trajes de pescador o "waders").
- ✓ Aireadores portátiles.
- ✓ Conductímetro.

Antes de comenzar cada campaña de muestreo debe asegurarse la disponibilidad de todo el equipo de colecta en buenas condiciones y los materiales de campo necesarios.



Figura 26: Pesca con atarraya



Figura 27: Pesca con red de espera



Figura 28: Pesca con electricidad

6.1.1.2 Indumentaria

En caso de muestreos en aguas frías: ropa impermeable o aislante (musleras, “waders”), guantes aislantes de neopreno o goma gruesos, arneses, sogas, etc. En aguas cálidas, de selva por ejemplo: ropa delgada de algodón (camisas y pantalones largos, zapatos de campo, sombreros, etc.), chalecos salvavidas para el transporte fluvial.

6.1.2 Diseño del muestreo

Si el objetivo del muestreo es obtener un estimado sobre la composición (riqueza) y abundancia se tendrá en cuenta la superficie evaluada, el número de lances empleados, los que deben ser similares para las comparaciones de los resultados. Es necesario tener en cuenta que cada tipo de método de pesca debería estar asociado a un esfuerzo de colecta específico.

Si se considera el tamaño poblacional de la comunidad de peces que se encuentran en los tramos de estudio, así como, obtener información sobre el estado de salud de las mismas, entonces, la estrategia de muestreo a seguir va a depender de las características del hábitat acuático a muestrear.

El método empleado para la obtención de estimados relativos de peces es el de **captura por unidad de esfuerzo** (CPUE). Este método implica la captura de los ejemplares de peces en el campo con un determinado arte de pesca, siendo la unidad de esfuerzo empleada el factor para obtener el valor estandarizado de las colectas (por ejemplo, el área de la parte del tramo que se ha muestreado en cada caso, el número de lances de atarraya realizado o el tiempo de uso del equipo de pesca eléctrica, etc.).

Selección del tramo de estudio

La selección del tramo de estudio para la caracterización de la ictiofauna se hace procurando que el tramo de estudio incluya todos los hábitats donde se distribuyen las especies de peces dominantes, sin descartar hábitats potenciales (por ejemplo, troncos sumergidos). Sin embargo, dada la alta movilidad de los peces, para garantizar una buena representatividad de la comunidad hay que respetar una superficie mínima de muestreo, la cual varía en función de las características de la sección escogida para evaluar.

La longitud mínima del tramo de muestreo en el que se va a realizar la pesca se establece en función del ancho, siguiendo la siguiente tabla N° 1.

Tabla N° I: Criterios para selección de longitud mínima del tramo de muestreo de peces

Ancho del río	Longitud mínima de muestreo	Ancho mínimo de muestreo	Abundancia
< 5 m	20 m	Completa	Absoluta
5-15 m	50 m	Completa	Absoluta
>15 m	>50 m	Margen fluvial	Relativa

Además de estas indicaciones, en aquellos tramos en los cuales la abundancia de peces sea elevada, será suficiente capturar 200 individuos, fijándose un área mínima de muestreo de 100 m² (siempre y cuando se haya observado que se tiene la mayoría de especies o un buen número de ellas, por lo cual se considera importante que el colector tenga experiencia en la identificación de peces).

6.1.3 Objetivos de la colecta

6.1.3.1 Colectas para inventarios taxonómicos y casos particulares

Pueden ser cualitativos y muy intensivos, especialmente cuando se trata de lugares que previamente no hubieran sido estudiados. Se aplican todas las técnicas de colecta físicas y cubriendo todos los hábitats existentes en la zona y de ser posible incluir colectas nocturnas empleando anzuelos, espineles, redes de espera, detectores especiales de peces, para ampliar las posibilidades de mayores registros.

Protocolo para la pesca de arrastre

En el método de pesca con red arrastre, que es el más difundido, la red esta provista de una línea de plomos y otra de flotadores de manera que permanece vertical y la operación de pesca es como sigue:

1. Participan como mínimo dos personas para redes no mayores de 15 metros de largo y 2 m de alto, uno ingresa al cuerpo de agua llevando la red adherida al sustrato y avanzando hacia el centro aprovechando la corriente haciendo un semicírculo (se requiere que la profundidad no sea mayor de la altura del pecho para facilitar la maniobrabilidad de la red).
2. La segunda persona permanece relativamente fija al inicio, pero avanza despacio hacia la orilla siguiendo el avance del primero que lleva la red en la parte de mayor profundidad y coordinando ambos, con más celeridad, recogen la red arrastrando la red hacia la orilla con la línea pesada siempre pegada al piso y reduciendo la red alternadamente la sección de los plomos y flotadores hasta concentrar los peces en una parte media.

3. Los peces serán colocados en un recipiente plástico con agua si van a ser evaluados previamente (medición, marcaje, determinación de sexo por presión abdominal y liberación de productos, etc.) o liberados (para identificación y fotografiado solamente); o colocados en reactivo fijador previo al paso por anestésico.
4. El objetivo del estudio determinará el proceso que se seguirá.

Es el caso de las expediciones dirigidas a cuencas escasamente evaluadas también puede aplicarse metodología estandarizada para las estimaciones cuantitativas (colecta con número de lances o capacidad de esfuerzo debidamente registrados).

Evaluaciones especiales incluyen las colectas con métodos físicos en eventos de migración (“mijanos” o cardúmenes multi específicos de peces) que ocurren al inicio de la época lluviosa (noviembre) para procesos reproductivos y en procesos alimenticios (julio-agosto), y colectas de individuos cuando han ocurrido floraciones de microalgas tóxicas (cianofitas) que causan contaminación del agua y eventualmente mortalidad masiva de peces.

6.1.3.2 Evaluaciones rápidas para estudios de impacto ambiental

Son colectas estandarizadas en el contexto de evaluaciones hidrobiológicas empleándose para la pesca, redes de arrastre de 10 x 3 m y de malla fina (5 mm). Se realizarán cinco lances en la zona ribereña de los ríos, en todo el ancho de las quebradas y en diversos sectores de las lagunas, comprendiendo una superficie aproximada de 150 m².

En estos estudios en zonas altoandinas el empleo de pesca eléctrica es usualmente el más común y efectivo dadas las características de los hábitats (aguas muy frías, poblaciones de peces más escasas o dispersas). La sección del hábitat donde se aplica este tipo de pesca variará dependiendo del tamaño del hábitat y pueden aplicarse criterios similares a los mostrados en el tabla N° 1. El esfuerzo de muestreo se anota como el tiempo de electropesca en segundos (máximo 1000).

Paralelamente deben registrarse datos geográficos (coordenadas), ecológicos y características físicas y químicas de los ambientes acuáticos (incluir registros fotográficos).

6.1.4 Frecuencia de muestreo en los monitoreos ambientales

Muestreo trimestral por dos a tres años, coincidente con las épocas climáticas marcadas e intermedias. Eventualmente y recomendado es que estas evaluaciones puedan realizarse simultáneamente con los monitoreos de calidad de agua (que son de requerimiento obligatorio por parte de las autoridades correspondientes en temas ambientales). Estos permitirán contar con datos asegurados fisicoquímicos para enlazar los resultados obtenidos para peces.

Posteriormente se recomienda realizar, anualmente, muestreos semestrales, en las épocas representativas (épocas secas y épocas húmedas o lluviosas).



Figura 29: Pesca con red de arrastre

6.1.5 Pautas para la pesca con redes

En general, en embalses, lagunas y lagos de altura considerable se usan **redes de espera**. Estas se instalan en las estaciones previamente elegidas en gabinete, generalmente al atardecer y se revisan en las primeras horas del día siguiente. Para determinados estudios (especialmente en aguas amazónicas) se mantienen durante 24 horas y se revisan cada dos horas, para evitar que los peces depredadores dañen los especímenes capturados, o también para evitar que otros vertebrados mayores (reptiles, mamíferos acuáticos) puedan quedar atrapados en las redes de manera accidental.

Nasas y redes trampa

Se escogen puntos someros de la orilla y se sitúan las redes junto al fondo, entre la vegetación o en una quebrada cubriendo el ancho del cauce. Las nasas pueden tener varios compartimentos que impidan el regreso de los peces capturados. Este tipo de red suele mantenerse unas 24 horas, en caso de mantenerlas durante un mayor periodo se deben revisar periódicamente para extraer las capturas.

Redes agalleras y trasmallos

Se instalan en las áreas elegidas en diferentes posiciones para aumentar la eficiencia de pesca. En general, se pueden situar algunas unidades perpendiculares a la orilla, otras paralelas y otras en la masa libre de agua a diferentes profundidades. Cuando se emplean varios paños con diferente medida se conforma las redes de trasmallo y se usan boyas y anclajes para mantener la posición de las redes. Transcurrido el tiempo de captura se procede a extraer los peces de las redes para su posterior identificación, recuento y mediciones biométricas.

Pesca eléctrica

En esta operación deberán participa como mínimo tres personas, con trajes especialmente aislantes.

1. El primero será responsable de llevar el equipo de pesca eléctrica portátil que consta del equipo electrónico propiamente dicho (el computador y la batería), y los accesorios como el ánodo formado por un anillo metálico que se sitúa al final de un bastón o vara (madera) y el cátodo (cable expuesto) que se mantiene sumergido en el agua para poder establecer el circuito de la corriente.
2. Las otras dos personas sujetan la red de cerco o están provistos de redes de mano para capturar los peces adormecidos por las descargas. En todos los casos, deben llevar puestos guantes que aislen la corriente eléctrica.
3. Otros colaboradores reciben los peces para identificar, tomar fotografías, medir y pesarlos o destinarlos para otros propósitos (por ejemplo, muestras de tejidos).

La corriente generada en las proximidades de éste provoca en los peces aturdimiento sin ser afectados totalmente, momento que es aprovechado para ser fácilmente capturados con redes de mano.

6.1.6 Preservación y etiquetado

- Las muestras colectadas pueden ser fotografiadas en fresco, utilizando acuarios o directamente sobre una superficie plana con una escala de medida como referencia. Luego, dependiendo de los objetivos, si fuera posible, serán identificadas, o se cuentan, se miden y se pesan y se separan para ser preservadas de manera adecuada: los peces menudos (en alcohol al 70%) y mayores de 7 cm (LT) empleando una solución de formol (al 10%) y otra parte, eventualmente podrían ser devueltas al medio natural.
- Según Römer (2008), sería recomendable fijar el material en hielo, (a -3 °C) cuando sea posible, porque permite conservar mejor la coloración, se abren los cromatóforos; mantiene adecuadamente la forma, con las aletas extendidas e inocularles etanol al 70% para detener el proceso digestivo y finalmente, fijar las partes internas como el tejido muscular y órganos internos.
- Cuando no se tenga acceso a un sistema de congelamiento, las muestras se deberán fijar con una solución de formol al 10%, inyectándoles esta solución a ejemplares mayores a 15 cm. Se deben mantener en la solución de formol entre 24 y 48 horas y luego, enjuagarlos y pasarlos a una solución de etanol al 70%.
- Todas las muestras deben estar convenientemente etiquetadas con un código de la muestra, registrando su procedencia, fecha y nombre del colector. Es conveniente

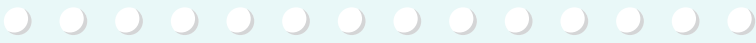
que cada ejemplar o lote colectado disponga de una etiqueta insertada en boca o en el opérculo y otra etiqueta en el contenedor de la muestra (bolsa, gasa).

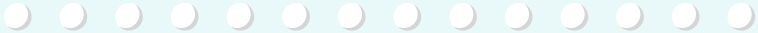
- Para análisis de ADN, porciones pequeñas (menos de un gramo) de músculo, piel, aletas o peces íntegros (especímenes pequeños) en asepsia, se congelarán o serán fijados directamente en etanol (96%).
- Para análisis toxicológicos, en condiciones óptimas de higiene, los tejidos y órganos, se envolverán en papel aluminio y se conservarán en hielo durante el transporte al laboratorio.
- Para análisis de compuestos orgánicos en cualquier tejido del pez, se enjuagarán los ejemplares con agua destilada, se envolverán en papel de aluminio y se procederá a su inmediata congelación (-20 ° C).
- Para la determinación de metales u otros compuestos inorgánicos se seleccionarán los ejemplares completos o se prepararán filetes (sin piel ni huesos) de peces grandes (más de 100 gr) y obtenidos en condiciones asépticas, colocados en bolsas de polietileno, se procederá a su inmediata congelación (-20 ° C) o en envases provistos con "ice pack".
- La obtención de muestras de tejidos de cerebro, branquias o sangre para la determinación de parámetros específicos deberá ser realizada in situ con el equipo de protección adecuado (guantes quirúrgicos, mascarilla, etc.). Estas muestras se mantendrán congeladas (-20 ° C) en viales de vidrio.
- Los ejemplares para análisis histológicos o de agentes infecciosos deberán mantenerse vivos hasta su llegada al laboratorio o, como mínimo, conservados en hielo entre 2° y 5 °C (nunca congelados). Para mantenerlos vivos se transportarán en recipientes con agua, con inyección de aire o de oxígeno puro.

6.2 Identificación y análisis de las muestras

6.2.1 Identificación

Equipo y material de laboratorio

- 
- ✓ Ictiómetro con precisión de 1 mm. _____
 - ✓ Calibrador con precisión al 0.1 mm. _____
 - ✓ Estereoscopio. _____

- 
- ✓ Cámara digital.
 - ✓ Bandejas de aluminio o hierro enlazado diferente tamaño.
 - ✓ Pinzas, estiletes, etc.
 - ✓ Lapiceros tinta indeleble, lápices, etc.
 - ✓ Papel vegetal para etiquetas.
 - ✓ Formularios de identificación.
 - ✓ Programa informatizado para datos.
 - ✓ Bibliografía especializada.
 - ✓ Colección ictiológica de referencia.

Aspectos preliminares de identificación

Con la ayuda de las guías fotográficas de campo disponibles, se recomienda en el campo la identificación preliminar de los peces en lo posible a nivel taxonómico más fino (especie) mediante la observación de caracteres morfológicos externos. En el caso de especies con características externas poco claras o que requieren de un análisis más detallado en laboratorio (similares, especies cercanas, juveniles) se conservarán ejemplares para su posterior análisis en el laboratorio.

Es importante comprobar o al menos revisar la literatura referencial relacionada a la potencial presencia de especies endémicas, raras o reconocidas en alguna categoría de conservación (IUCN) en el área de estudio. En tal caso, estas deberían ser identificadas antes de salir al campo y allí ser fotografiadas para poder proceder a su posterior identificación confirmatoria.

La **medida de la longitud** que se debe tomar en los peces es la estándar (LE), desde el inicio de la cabeza (hocico) hasta la base de la caudal (cuerpo de la última vertebra), y total (LT) desde el extremo del hocico hasta el final de la aleta caudal. Estas medidas se hacen con un ictiómetro de 50 cm, con una precisión de 1mm. O emplear un calibrador con precisión de 0.1mm, dependiendo de los objetivos.

Para obtener el peso de cada ejemplar, cuando sea necesario estimar la biomasa, debe utilizarse una balanza portátil con capacidad de 2-3 kg con una precisión de 0.1 g. Para individuos de mayor peso se podrán emplear romanas o pesolas de 5 kg o más.

Además, de considerar los parámetros ecológicos, también se procederá al registro y análisis de posibles anomalías externas en los individuos. Se recomienda tomar fotografías representativas de los ejemplares capturados. Todos los datos registrados en el campo tienen que anotarse en formatos adecuados (ver anexos).

Identificación taxonómica y análisis de muestras de peces

Con ayuda de especialistas, claves taxonómicas, descripciones originales o recientes revisiones se procura la identificación hasta el menor nivel taxonómico posible. Se emplearan datos morfológicos, morfométricos, merísticos y osteológicos necesarios, usando planillas adecuadas.

La identificación taxonómica de peces debe realizarlo personal especializado (formación y experiencia comprobada). Para la identificación de muestras de referencia, solicitar el apoyo de expertos.



Figura 30: Separación de muestras de peces

Los datos cuantitativos de la morfometría se procesarán en términos de porcentajes relacionados a la longitud estándar (LE) o longitud de la cabeza (LC), cuando las medidas sean mayores o menores, respectivamente. Al final se obtendrá una diagnosis básica para sustentar la posible identidad taxonómica.

6.2.2 Técnicas de análisis

Los resultados obtenidos con los inventarios de pesca descritos sirven para proporcionar información sobre la composición, distribución y el estado actual de la comunidad de peces en el ambiente acuático seleccionado. Para esto, los datos recogidos suelen presentarse en forma de los siguientes parámetros:

- Estructura de la comunidad.
- Composición por especies.
- Abundancia.
- Índices comunitarios.

Además, si en el campo se registra el peso de los ejemplares también se puede calcular la biomasa de cada muestreo.

Estructura de la comunidad

Permite destacar las especies dominantes, mediante el porcentaje basado en los ejemplares colectados, destacando gremios alimenticios, edades o proporción sexual por punto de muestreo.

Composición por especies

Consiste en proporcionar una lista, relación o un inventario taxonómico de los ejemplares capturados en cada ambiente o punto de muestreo del estudio.

Abundancia

Corresponde al número de ejemplares colectados en la muestra, y detallada por especie, punto de muestreo y total.

Índices Comunitarios

Son indicadores numéricos de heterogeneidad de las comunidades biológicas, basados en la riqueza de especies y abundancia de individuos. Se aplican fórmulas específicas para sus estimaciones. Algunos de estos son: Riqueza (S), Abundancia (N), Riqueza de Margalef (d'), Equitabilidad (J'), Diversidad de Shannon-Wiener (H') y Dominancia (1-D), entre otros.



Figura 31: Muestras de peces

6.3 Comprobación de la calidad

6.3.1 Colecta

- Hábitat definido.
- Personal capacitado.
- Etiquetado correcto.
- Descripción o fotografía del espécimen fresco.

6.3.2 Identificación y análisis de la muestra

- Manejo adecuado de las muestras en el laboratorio mediante un protocolo interno.
- Uso de claves para familias, géneros y especies.
- El personal debe demostrar una capacitación constante.

Bibliografía

Azim M.E., M.C.J. Verdegem, A.A.van Dam, M.C.M. Beveridge. 2005. Peryphyton: Ecology, Exploitation and management. Oxfordshire, Cambridge. Cabi International. 319pp.

Barbour M.T., J. Gerritsen, B.D. Snyder, J.B. Stribling. 1999. Rapid bioassessment protocols for use in Streams and wadeable rivers: Periphyton, benthic macroinvertebrates and fish, 2nd ed. EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, D.C.

Bellinger E.G. & D.C. Sigee. 2010. Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators. Wiley-Blackwell, Great Britain. 271pp.

Bicudo C.E.M. 1990. Metodologia para o estudo qualitativo das algas do perifiton. Acta Limnologica Brasiliense, v. 3: 477-491.

Biggs B.J.F. & C. Kilroy 2000. Stream Periphyton Monitoring Manual. NIWA, P.O. Box 8602, Christchurch, New Zealand. 216pp.

Branco S.M. 1978. Hidrobiologia Aplicada a Engenharia Sanitaria. CETESB. Sao Paulo, Brasil. 620pp.

Chernoff B., P. Willink, J. Sarmiento, A. Machado-Allison, N. Menezes, and H. Ortega. 1999. Geographic and Macrohabitat Partitioning of Fishes in the Tahuamanu and Manuripi Region, Upper Orthon Basin, Bolivia. In: A BIOLOGICAL ASSESSMENT OF THE UPPER RIO ORTHON BASIN, PANDO, BOLIVIA, Eds. B. Chernoff and P. Willink. AquaRAP Program. *Bulletin of Biological Assessment* 15:51-67.

Cowx I.G. & P. Lamarque. 1990. Fishing with Electricity. Fishing News Books, Blackwell Scientific Publications, Oxford. 245pp.

De la Fuente Álvaro M.J. (Ed.) 2007. Metodología para el establecimiento del estado ecológico según la Directiva Marco del Agua en la Confederación Hidrográfica del Ebro. Protocolos de muestreo y análisis para fitoplancton, fitobentos (microalgas bentónicas), macrofitos, invertebrados bentónicos, ictiofauna. Ministerio de Medio Ambiente. Confederación Hidrográfica del Ebro. 232pp.

De la Lanza G.S., H. Pulido y J.L.P. Carvajal. 2000. Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación (bioindicadores). Plaza y Valdez / Comisión Nacional del Agua, SEMARNAP/Instituto de Biología, UNAM, México, D.F. 633 pp.

Domínguez E. & Fernández H. 2009. Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y biología. Tucumán, Argentina: Fundación Miguel Lillo. 656pp.

Fernández H.R. & E. Domínguez. 2001. Guía para la Determinación de Artrópodos Bentónicos Sudamericanos. Serie: Investigaciones de la UNT, Subserie Ciencias Exactas Naturales. Tucumán, Argentina. 282pp.

Magurran A.E. 2004. Diversidad Ecológica y su Medición. Ediciones Vedra, Barcelona, España. 200pp.

Margalef R. 1983. Limnología. Ediciones Omega S. A. Barcelona. 1010pp.

Ortega H., I. Samanez, E. Castro, M. Hidalgo y N. Salcedo. 1998. Protocolos Sugeridos para la Evaluación y Monitoreo de Sistemas Acuáticos del Bajo Urubamba, Perú. Biodiversity Assessment & Monitoring, Smithsonian Institution/MAB Series #2: 278-280.

Ortega H., L. Chocano, C. Palma e I. Samanez. 2010. Biota Acuática en la Amazonia Peruana: diversidad y usos como indicadores ambientales en el Bajo Urubamba (Cusco – Ucayali). *Rev. peru. biol.* Lima, Perú. Vol.17 (1):029-035.

Ortega H., M. Hidalgo, E. Correa, G. Trevejo, V. Meza, A.M. Cortijo y J. Espino. 2012. Lista Anotada de los Peces de Aguas Continentales del Perú. Segunda Edición. Ministerio del Ambiente - Museo de Historia Natural. Lima, Perú. 56pp.

Ortega H.; B. Rengifo, I. Samanez y C. Palma. 2007. Diversidad y Estado de conservación de cuerpos de agua amazónicos en el nororiente del Perú. *Rev. peru. biol.* Lima, Perú. Vol.13 (3):185-194.

Pardo I., García, L., Delgado, C., Costas, N. & Abraín, R. 2010. Protocolos de muestreo de comunidades biológicas acuáticas fluviales en el ámbito de las Confederaciones Hidrográficas del Miño-Sil y Cantábrico. Convenio entre la Universidad de Vigo y las Confederaciones Hidrográficas del Miño-Sil y Cantábrico. 68pp. NIPO 783-10-001-8.

Roldán G. & J.J. Ramírez. 2008. Fundamentos de limnología neotropical. Segunda edición. Editorial Universidad de Antioquia, Medellín. 440pp.

Roldan G. 1988. Guía para el estudio de los macroinvertebrados del departamento de Antioquia. Fondo FEN- Colombia, Ed. Presencia Ltda. Bogotá. 217 pp.

Roldan G. 2003. Bioindicación de la Calidad del Agua en Colombia. Propuesta para el uso del método BMWP/Col. Colección Ciencia y Tecnología. Editorial Universidad de Antioquia. Colombia. 170 pp

Römer, U. & Hahn, I. 2008. *Apistogramma barlowi* sp. n. Description of a new facultative mouth-breeding cichlid species (Teleostei: Perciformes: Geophaginae) from Northern Peru. *Vertebrate Zoology*, 58(1): 49 – 66.

APHA-AWWA-WEF. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st Edition. 1368pp.

Stevenson, M. I. Bothwell, R.L. Lowe. 1996. Algal Ecology: Freshwater benthic ecosystems. Elsevier, USA. 753pp.

Suthers, I.M & D. Rissik. 2008. Plankton: A guide to their ecology and monitoring for water quality. Published by CSIRO PUBLISHING. Collingwood VIC 3066. Australia.

Wetzel R.G. 1991. Limnología. Omega, Barcelona, 679 pp.

Wetzel, R.G. 2001. Limnology. Lake and River Ecosystems. Third Ed. Academic Press, San Diego. xvi, 1006 pp.

Willink, P. W., B. Chernoff, H. Ortega, R. Barriga, A. Machado-Allison, H. Sánchez y N. Salcedo. 2005. Fishes of the Pastaza River Watershed: Assessing the Richness, Distribution and Potential Threats. In: A Rapid biological assessment of the aquatic ecosystems of the Río Pastaza river basin, Perú and Ecuador. Eds. P. Willink. B. Chernoff and J McCullough. Rapid Assessment Program. RAP *Bulletin of Biological Assessment* No.33. Washington, D.C.

Anexo 1

Datos de campo: GENERALES

LOCALIDAD: CUENCA: PROV. / DPTO. RESPONSABLE:	CODIGO ESTACIÓN: FECHA: HORA INICIO: HORA TERMINO:				
PERSONAL CAMPO:					
COORDENADAS Y ALTITUD:					
CONDICIONES METEOROLÓGICAS: Sol Nublado Lluvia	Lluvias en los últimos 7 días: SI NO				
REGISTRO FOTOGRAFICO: SI NO					
EGETACION RIPARIANA (Hasta 18m) Indicar el tipo de vegetación predominante Arboles Arbustos Pastos Herbáceas Especie predominante:	Cobertura de dosel Parcialmente abierto Parcialmente sombreado Sombreado Abierto Altura de marca de agua _____ m				
Longitud estimada _____ m Ancho estimado _____ m Área estimada de muestreo _____ m ² Profundidad estimada _____ m Velocidad de corriente _____	OBSERVACIONES:				
PARAMETROS FISICOQUÍMICOS: pH T (°C) CE TDS Sal% OD Equipo utilizado:					
Olor del agua . Normal/Ninguno Desagüe Petróleo Químico Pescado Otro _____	Turbidez (si no es medida) . Clara Levemente turbio Turbio Otro _____				
SUSTRATOS INORGANICOS (deben sumar 100%)					
Tipo de sustrato	Diámetro	% de composición en el área de muestreo	Tipo de sustrato	Característica	% de composición en el área de muestreo
Roca madre			Hojarasca	Palos, madera, plantas, en tamaños pequeños	
Boulder	> 256 mm		Estiércol	De cualquier tipo de ganado o animales de la zona	
Canto rodado	64-256 mm				
Grava	2-64 mm				
Arena	0.06-2mm				
Limo	0.004-0.06 mm		Marga (roca sedimentaria)	Arcilla amarillenta o grisácea, de origen biológico	
Arcilla	< 0.004 mm				
PLANCTON: litros filtrados / diámetro de poro de red			PERIFITON: tipo de sustrato		
MACROINVERTEBRADOS:			PESCA: Esfuerzo		

Anexo 2

Datos de campo: PLANCTON

LOCALIDAD: CUENCA: PROVINCIA: DEPARTAMENTO: RESPONSABLE:	CODIGO ESTACIÓN: FECHA: HORA:
COORDENADAS Y ALTITUD:	
CONDICIONES METEOROLÓGICAS: Sol Parcial Nublado Total nublado Lluvia Viento Dirección	COLOR DEL AGUA Y ASPECTO: ESTADO TRÓFICO: Oligotrófico Mesoeutrófico Eutrófico
PROFUNDIDAD: DISCO SECCHI (transparencia):	ESQUEMA DEL LAGO O LAGUNA incluir la ubicación de las estaciones y la direccionalidad del viento.
METODO DE COLECTA: Botella: Tipo Capacidad (vol.) Red Apertura de malla:	

Anexo 3

Datos de campo: PERIFITON

LOCALIDAD: CUENCA: PROVINCIA: DEPARTAMENTO: RESPONSABLE:	CODIGO ESTACIÓN: FECHA: HORA:		
COORDENADAS Y ALTITUD:			
VELOCIDAD DE CORRIENTE	VEGETACIÓN ACUÁTICA: SI NO		
TIPO DE SUSTRATO:	CODIGO DE REGISTRO FOTOGRÁFICO		
SUSTRATO DURO	COMENTARIOS:		
SUSTRATO DURO NO REMOVIBLE			
SUSTRATO BLANDO			
SUSTRATO SUPERFICIAL			
Abundancia estimada: 0 = Ausente/No Observado, 1 = Raro (<5%), 2 = Común (5% - 30%), 3= Abundante (30% - 70%), 4 = Dominante (>70%)			
Perifiton	0 1 2 3 4	Limo	0 1 2 3 4
Algas filamentosas	0 1 2 3 4	Macro invertebrados	0 1 2 3 4
Macrofitas	0 1 2 3 4	Peces	0 1 2 3 4

Anexo 4

Limpieza de frústulos de diatomeas

Equipos y materiales

- Campana extractora o sistema equivalente.
- Baño de arena o baño maría.
- Vasos de precipitados o tubos de ebullición (uno por muestra).
- Probetas de 20 ml, 50 ml, para los agentes oxidantes.
- Pipetas Pasteur limpias.
- Centrifugadora (opcional) con tubos de centrifuga. Estos tubos deberían ser resistentes al ataque de agentes oxidantes o ácidos utilizados para limpiar las diatomeas.
- Solución de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 50% (100 volúmenes).
- Ácido clorhídrico diluido HCl 1M.
- Agua destilada.

Nota: Si no se dispone de centrifugadora, las muestras se pueden dejar sedimentar, después el sobrenadante se puede eliminar con cuidado.

Procedimiento

La oxidación de las muestras se realiza según algún método descrito en la literatura, se recomienda en este manual el explicado en Battarbee (1986).

- Se toma 5 ml de muestra y se coloca en un tubo de ebullición luego se agrega 10 ml de peróxido de hidrógeno al 50%
- Se lleva a baño maría o de arena a 80 °C durante dos horas.
- Se retiran los tubos de ebullición se dejan enfriar y se agrega 5 a 10 gotas de HCl al 30% para eliminar los compuestos calcáreos.
- Si hubiera centrifuga, se lleva el material a los tubos de se trasvasan a tubos de centrifuga y se procede a centrifugar y a decantar el pellet por al menos tres veces o hasta que el pH se encuentre en 7.
- Si no se cuenta con centrifuga se llena con agua destilada se deja decantar, se realizan múltiples enjuagues con agua destilada hasta llegar a un pH neutro.
- Posteriormente se almacenaron en frascos con alcohol al 30%.

Anexo 5

Datos de campo: BENTOS (macroinvertebrados)

LOCALIDAD: CUENCA: PROVINCIA DEPARTAMENTO: RESPONSABLE:	CODIGO ESTACIÓN: FECHA: HORA:
COORDENADAS Y ALTITUD:	
VELOCIDAD DE CORRIENTE	VEGETACIÓN ACUÁTICA: SI NO
TIPO DE SUSTRATO: SUSTRATO DURO SUSTRATO DURO NO REMOVIBLE SUSTRATO BLANDO SUSTRATO SUPERFICIAL	CODIGO DE REGISTRO FOTOGRÁFICO COMENTARIOS:

Anexo 6

Registro de datos ictiológicos

Fecha de colecta: _____ Hora: _____ Número de campo: _____

Localidad (Dpto., Prov., Distrito, Cuenca, Lugar de muestreo): _____

Coordenadas (Datum del GPS) y elevación: _____

Colector(es): _____

Hábitat (ambiente): _____ Tipo de agua: _____ Profundidad: _____

Ancho: _____ Corriente: _____ Transparencia: _____ Color: _____

Vegetación: _____ Sustrato: _____

_____ Orilla: _____

pH: _____ Conductividad: _____ Oxígeno: _____ T° agua: _____

Longitud de muestreo: _____ Ancho: _____ Área: _____

Esfuerzo de muestreo: _____

Observaciones: _____

Lista preliminar de especies:

N°	Especies	Determinado por:	Ejemplares	Observaciones

Responsable _____ Fecha ____ / ____ / ____

Anexo 7

Bibliografía recomendada para la identificación de algas y zooplancton

Anagnostidis, K. & J. Komárek. 1988. Modern approach to the classification system of cyanophytes 3-Oscillatoriales. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 80 (1-4): 327-472.

Bicudo, C.E. 1982. Desmidióflora paulista II. *Bibliotheca Phycolog.* Vol.57.

Bicudo, C.E. & Mariângela Menezes. 2006. Gêneros de algas de Águas Continentais Do Brasil. Segunda Edición. Rima Editora. 502pp.

Bicudo, C.E.M., I.M. Samanez. 1984. Desmidióflora Paulista 3: Géneros *Bambusina*, *Desmidium*, *Groenbladia*, *Hyalotheca*, *Onychonema*, *Phymatodocis*, *Spondylosium* & *Teilingia*. *Bibliotheca Phycologica*, v. 68 pp.

Bourrelly, P. 1981. *Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique*. Tome II. Les algues jaunes et brunes. Chrysophycées, Phéophycées, Xanthophycées et Diatomées. N. Boubée et Cie. Paris. 517 pp.

Camburn, K.E. & D.F. Charles. 2000. Diatoms of Low-Alkalinity Lakes in the Northeastern United States. Academy of Natural Sciences of Philadelphia, Special Publication 18, 152 pp.

Ciugulea, I. & R.E. Triemer. 2010. A Color Atlas of Photosynthetic Euglenoids. Michigan State University Press. 232pp.

Ettl, H., J. Gerloff, H. Heynig, D. Mollenhauer. 1983. Chlorophyta I: Phytomonadina. En: Pascher A (eds.). SüBwasserflora von Mitteleuropa Band 9. Gustav Fischer Verlag, Jena.

Förster, K. 1982. Conjugatophyceae Ordnung: Zygnematales und Desmidiales. 8. Teil, 1 Hälfte. En: G. Huber-Pestalozzi (ed.). Das Phytoplankton des SüBwassers: Systematik und Biologie. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung. Stuttgart. 543pp.

Fott, D.B. 1972. Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung: Tetrasporales. 6. Teil. En: G. Huber-Pestalozzi (ed.). Das Phytoplankton des SüBwassers: Systematik und Biologie. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung. Stuttgart.

Geitler, L. 1932. Cyanophyceae. Rabenhorst Kryptogamenflora 210pp.a.,14. Reprint. Koeltz Scientific Books.

Hegewald, E. & P.C Silva. 1988. Annotated Catalogue of *Scendesmus* and Nomenclaturally Related Genera, Including Original Descriptions and Figures. En *Bibliotheca Phycologica* Band 80. J. Cramer, Berlin Stuttgart. 587 pp.

Huber-Pestalozzi, G. 1955. *Euglenophyceen*. In Huber-Pestalozzi, G. (ed.): *Das Phytoplankton des Süßwassers. Systematik und Biologie*. 4 Teil.. Stuttgart: E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung. Stuttgart. 814pp.

Islam, A. 1963. A rev. of Genus *Stigeoclonium*. *Nova. Hedwigia*, Beih.10. Paper bd.

Komárek, J. & K. Anagnostidis. 1999. Cyanoprokaryota 1. Teil/1st Part: Chroococcales. En: Büdel B *et al* (eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa* Band/Volume 19/1. Jena. 548pp.

Komárek, J., K. Anagnostidis. 2005. Cyanoprokaryota 2. Teil/2nd Part: Oscillatoriales. En: Büdel B. *et al* (eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa* Band/Volume 19/2. Jena. 759.pp

Komárek, J., Fott DB, Praha. 1983. Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung: Chlorococcales. 7. Teil, 1. Hälfte. En: G. Huber-Pestalozzi (ed.). *Das Phytoplankton des Süßwassers: Systematik und Biologie*. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung. Stuttgart. 1044pp.

Komárek, J. & K. Anagnostidis. 1989. Modern approach to the classification system of cyanophytes 4-Nostocales. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 82 (3): 247-345.

Krammer, K. & Lange-Bertalot, H. 1997. 'Bacillariophyceae', in *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Band 2: Teil 1, Naviculaceae. 876 pp.

Krammer, K. & Lange-Bertalot, H. 2000. 'Bacillariophyceae', in *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Band 2: Teil 3, Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. 576 pp.

Krammer, K. & H. Lange-Bertalot. 2008. 'Bacillariophyceae', in *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Band 2: Teil 2, Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. 611 pp.

Krammer, K. & H. Lange-Bertalot. 2004. 'Bacillariophyceae', in *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Band 2: Teil 4 Achnanthaceae, Navicula s. Str., Gomphonema. 468 pp.

Martin, J.W. & G.E. Davis GE. 2001. An updates classification the recent crustaceae. *Natural History Museum of Los Angeles County. Science Series* No39.

Metzelin, D. & H. Lange-Bertalot. 1998. 'Tropische Diatomeen in Südamerika I', *Iconographia Diatomologica*, Vol. 5, Koeltz Scientific Books, Königstein. 695 pp.

Metzelin, D. & H. Lange-Bertalot. 2007. 'Tropische Diatomeen in Südamerika II' Special Remarks on biogeographic disjunction, *Iconographia Diatomologica*, Vol. 18, Koeltz Scientific Books, Königstein. 877 pp.

Prescott, G.W.. 1975. Algae of the Western Great Lakes Area. Revised ed. Iowa. W.M. C. Brown Company Publisher. 977pp.

Ramanathan, K.R. 1964. Ulotrichales. I.C.A.R. Monographs on Algae. New Delhi. 188 pp.

Round, F.E., R.M. Crawford, D.G. Mann. 2007. The Diatoms: Biology & Morphology of the Genera. 1ra ed. New York. Cambridge University Press.

Rumrich, U., H. Lange-Bertalot & M. Rumrich. 2000. 'Diatomeen der Anden. Von Venezuela bis Patagonien/Feuerland und zwei weitere Beiträge', Iconographia Diatomologica, Vol. 9, Koeltz Scientific Books, Königstein. 673 pp.

Samanez, I. 1979. Algas continentales del Peru II: Pucallpa y alrededores, Museo de Historia Natural Serie B No 10. 52 pp.

Samanez, I. 1988. Rotíferos planctonicos de la Amazonia peruana. Rev Per Biol.3(1): 141-167.

Sandercock, G.A, B.C.Vancouver and G.G.E. Scudder. 1994. An Introduction and key to the freshwater Calanoid Copepods (crustacea) of British Columbia. Dept. of Zoology University of British Columbia Vancouver B.C.

Sant'Anna, C.L. 1984. Chlorococcales (Chlorophyceae) do Estado de Sao Paulo, Brasil. En Bibliotheca Phycologica Band 67. J. Cramer, Vaduz. 348 pp.

Segers, H. 2002 The nomenclature of the Rotifera: annotated checklist of valid family and genus-group names. Journal of Natural History. 36: 631-640

Tell, G., V. Conforti. 1986. Euglenophyta pigmentadas de la Argentina. En Bibliotheca Phycologica Band 75. J. Cramer, Berlin Stuttgart.

Thorp, J.A & A.P. Covich. 2001. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. London, Paris, New York. Academic Press. 1038pp.

Wehr, J.D. & R.G. Sheath. 2003. Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification. London, Paris, New York. Academic Press. 918pp.

Anexo 8

Manejo estadístico de la información

Identificadas las especies, se obtendrán las listas de composición taxonómica, clasificación en taxa superiores y distribución por ambientes acuáticos y estaciones de muestreo, lo que nos permitirá el conocimiento del número de especies e individuos, además de los índices comunitarios y biológicos, determinándose así el estado de la biota acuática.

El esfuerzo realizado y el número de especies por unidad biológica o de esfuerzo deberán presentarse mediante curvas de acumulación observadas, las mismas que serán comparadas con las curvas de acumulación calculadas, resultantes del uso de estimadores de riqueza, como aquellos incluidos en paquetes estadísticos tales como Estimate S, de uso libre en internet.

Para mayor precisión, y según la comunidad y el comportamiento muestral, opcionalmente se podrán utilizar modelos de curvas como las de tipo palo quebrado, distribución log-normal, logarítmica, geométrica o Clench, siempre y cuando se cuenten con los programas correspondientes.

Los índices biológicos de riqueza, abundancia y diversidad, deberán ser calculados previa realización de pruebas no paramétricas, como la de Kolmogorov-Smirnov o Shapiro-Wilk según sea el caso, las cuales se utilizan para conocer si la muestra sigue una distribución normal, y luego decidir qué tipo de estimadores o pruebas se utilizarán para el análisis de los datos. Según los datos resulten normales o no, se utilizarán los índices mostrados en la siguiente tabla:

Índices	Paramétricos	No Paramétricos
Riqueza	Índice de Margalef	Índice de Chao 1, Chao 2, Jackknife 1, Jackknife 2, ACE o ICE, a emplearse según el comportamiento de las muestras.
Abundancia	CPUE: individuos/lance	CPUE: individuos/lance
Densidad	Individuos/área	Individuos/área
Diversidad	Índice de Shannon -Wiener	Rarefacción o Índice de Shannon-Wiener
Equidad	Pielou	Pielou
Dominancia	Simpson	Simpson

Estadística Paramétrica

Índices Comunitarios

$$\text{Riqueza de Margalef : } (D_{mg} = S-1/\ln N)$$

Donde:

S = número de especies

N = número total de individuos

El resultado del cálculo realizado supone una relación funcional entre el número de especies y el número total de individuos (Magurran, 1988).

El índice de Diversidad de Shannon-Wiener:

Se comprobará la calidad de los ambientes acuáticos relacionando los valores comunitarios, resultantes del índice de Shannon-Wiener con base 2 para peces, según la Clasificación del Estado de Conservación de los Cuerpos de Agua de Wilhm & Dorris (1968). Su cálculo sería según la expresión siguiente:

$$H' = - \sum (p_i) (\log_2 p_i)$$

Donde:

H' = contenido de información de la muestra (bits/individuo)

S = número de especies

p_i = proporción del total de la muestra que corresponde a la especie i

Estadística No Paramétrica

Índice de Riqueza de Chao 1

Estimador de riqueza basado en la incidencia y número de individuos. Como sabemos, hay muchas especies que solo están representadas por pocos individuos en una muestra (especies raras), comparadas con las especies comunes, que pueden estar representadas por numerosos individuos.

El estimador de Chao1 se basa en la presencia de las primeras. Es decir, requerimos saber cuántas especies están representadas por solo un individuo en la muestra (*singletons*), y cuántas especies están representadas por exactamente dos individuos (*doubletons*):

$$S_{est} = S_{obs} + F_2/2G_2$$

Donde:

Sest = número de clases (en este caso, número de especies) que deseamos conocer

Sobs = número de especies observado en una muestra

F = número de singletons

G = número de doubletons. (Escalante, 2003).

El paquete estadístico a utilizarse sería Estimate S

Índice de Chao 2

Es un estimador basado en la incidencia. Esto quiere decir que se necesitan datos de presencia-ausencia de una especie en una muestra dada, es decir, solo si está la especie y cuántas veces está esa especie en el conjunto de muestras:

$$S_{est} = S_{obs} + (L^2/2M)$$

Donde:

L = número de especies que ocurren sólo en una muestra (especies "únicas")

M = número de especies que ocurren en exactamente dos muestras (especies "dobles" o "duplicadas").

El software a utilizarse también será Estimate S.

En ambos casos (Chao 1 y Chao 2), se podrán observar curvas de acumulación de especies, para luego analizar la correspondencia entre el número de especies observadas y esperadas.

Índice de Rarefacción: Consiste en calcular la riqueza de especies basada en sub muestras al azar de individuos, siendo luego las muestras grandes, ahora 'rarificadas' mediante una ecuación, ser comparadas directamente con las muestras más pequeñas, ya que la riqueza de especies de ambas colecciones son ahora basada en un número idéntico de individuos. Así, las curvas de rarefacción pueden ser ploteadas en un gráfico. La ecuación sería la siguiente:

Dónde:

$$E(S_n) = \sum_{i=1}^S 1 - \left(\frac{m_i}{N}\right)^n$$

N = número total de individuos en la muestra

S = número total de especies en la muestra

m_i = es el número de individuos de la especie i m en la muestra

n = número de individuos en la submuestra

El software utilizado para estimar la diversidad sería Primer 5.

Para el caso de Abundancia, Equidad y Dominancia, los índices a utilizarse serían los mismos que para la estadística no paramétrica.

Captura por Unidad de Esfuerzo (CPUE)

Será calculada considerando el número total de individuos capturados dividido entre la unidad de esfuerzo aplicada de acuerdo al método de colecta (individuos/lance para el caso de atarraya o redes de arrastre, individuos/hora para el caso de redes de espera o tramperas, individuos/tiempo para el caso de electropesca), o de acuerdo a parámetros relativos (individuos/estación de muestreo, individuos/época).

Densidad

Con la información del número de especies, número de ejemplares y peso total por especie, número de lances ejecutados y área de la red se puede obtener además: densidad total de la muestra y por especie, biomasa total de la muestra y por especie, y el índice de abundancia relativa total y por especie.

Estado de Conservación

Este podrá determinarse de los resultados biológicos que se obtengan considerando idealmente la estacionalidad, y las interrelaciones de las distintas comunidades hidrobiológicas (peces, bentos, perifiton y plancton). Aplicando los resultados ictiológicos el estado de conservación podrá ser estimado mediante índices biológicos o estimadores ambientales, entre ellos el índice IBI.

El Índice de Integridad Biológica (IBI)

Mide hasta qué grado el hábitat mantiene una comunidad biológica equilibrada, integrada y adaptada de organismos que tienen una composición, diversidad y organización funcional de especies comparables a los del hábitat natural de la región. Este índice evalúa 12 medidas biológicas (métricas) que van a reflejar el estado de conservación del ambiente acuático evaluado a través de la riqueza y composición de las especies de peces, así como su estructura trófica, abundancia y condición sanitaria.

Para calcular el IBI para un sitio, se le otorga un puntaje a cada medida (1, 3 o 5) y la sumatoria para las 12 medidas es el valor total de IBI. El mínimo es 12 (severamente impactado) y el máximo es 60 (ambiente prístino). Este índice aplicado originalmente para el hemisferio norte (Karr, 1991) fue adaptado para aguas amazónicas peruanas por Ortega *et al.* (2010). La siguiente tabla muestra la calificación de la calidad acuática basado en el IBI:

Rango de valores	Calificación
12 - 20	Condición deteriorada
21 - 30	Condición afectada
31 - 40	Condición aceptable
41 - 50	Condición buena
51 - 60	Condición excelente

Fuente: Karr (1991)

Finalmente, en ambientes acuáticos altoandinos, en la sierra peruana, el análisis deberá tornarse distinto, porque las capturas son diferentes que en Amazonia. Principalmente, se observa una mayor abundancia por especie, mientras que la riqueza es reducida, obteniéndose valores de diversidad también bajos. Los análisis representativos para esta parte del Perú comprenden: abundancia y biometría para las especies capturadas, incluyéndose entonces, CPUE, distribución de tallas, relación longitud-peso o factor de condición.

Glosario

Algas Blandas: Todas las algas que no están incluidas en el grupo de las diatomeas ya que estas últimas presentan una membrana de sílice.

Atarraya: Aparejo de pesca unipersonal, red de lance. Forma de cono provisto de una línea de plomos en el borde de la circunferencia, una bolsa del mismo material para retener a los peces capturados y una cuerda en el otro extremo para lanzar la red.

Barbasco: Producto químico natural que se extrae de las raíces machacadas de una planta arbustiva (*Lonchocarpus sp.*) presente en la zona. Segrega un látex que en contacto con las aguas produce la saturación del oxígeno disuelto y la muerte de los organismos aeróbicos.

Bentos: Es una comunidad que comprende tanto animales invertebrados como vertebrados, y está caracterizada por habitar el sedimento acuático (fondo) y su superficie. Las respuestas de estas comunidades a las perturbaciones ambientales son útiles para evaluar posibles impactos.

Bioindicadores: Un indicador de biodiversidad puede ser una variable cuantitativa o cualitativa que puede ser descripta o medida, la cual, cuando se observa periódicamente, muestra tendencias en las características de la biodiversidad a lo largo del tiempo.

Biomasa: Peso fresco total de una población referida a una unidad de muestreo, obtenida por extrapolación.

Botella hidrográfica: Equipo diseñado para coleccionar muestras de plancton a diferentes profundidades (Van Dorn, Niskin).

Clorofila "a": Pigmento verde encontrado en organismos fotosintéticos, tales como algas.

Comunidad: Todos los organismos que conforman las diversas poblaciones de un área conocida y que al funcionar en conjunto con el medio inerte constituyen el Ecosistema.

CPUE: (Captura por Unidad de Esfuerzo) En pesquería, ningún número ni peso es medido en su totalidad, por lo que son utilizados valores relativos o índices que dan valores de abundancia o densidad, tales como la CPUE, que mide la totalidad de lo capturado en un tiempo, área o con un método de pesca determinado.

Disco Secchi: Disco metálico (20-30 cm de diámetro), pintado de blanco y negro en cuartos opuestos y atado a una línea calibrada, mide la transparencia hasta la profundidad en la que el disco se pierde de vista.

Época de creciente: Periodo del año coincidente con las máximas lluvias, caracterizado por el aumento del caudal del río. Comprende para la mayoría de cuencas hidrográficas en el Perú los meses de diciembre a abril.

Época de vaciante: Periodo del año caracterizado por la disminución de las precipitaciones pluviales y disminución de los niveles de agua de los ambientes acuáticos, siendo más evidente en la mayoría de cuencas hidrográficas en el Perú entre los meses de junio a setiembre.

Equidad o Índice de Pielou: Índice para la estimación de la estabilidad de las poblaciones de comunidades biológicas. El máximo valor es la unidad (1).

Especie: Conjunto de individuos que viven en una misma área, con características físicas comunes, igual número de cromosomas, y que pueden reproducirse y tener crías fértiles. El conjunto de individuos de la misma especie constituye la Población.

Eutrofización: Proceso biológico de modificación del ecosistema acuático por el incremento de nutrientes orgánicos.

Fitoplancton: Algas microscópicas que viven suspendidas en la columna de agua.

Frústulo: En las diatomeas, membrana silificada formada por dos tecas que se acoplan una dentro de otra.

Oligotrófico: Cuerpo de agua pobre en nutrientes que no favorecen la proliferación de algas. Muchos lagos no disturbados están en este estado.

Mastax: Estructura bucal de rotíferos.

Microalgas: Microorganismos fotosintéticos que pueden ser autótrofos o heterótrofos facultativos.

Mijano: Migración estacional, masiva y multi específica de los peces amazónicos con fines reproductivos o alimentarios. Ocurre generalmente en agosto y diciembre en la selva peruana.

Nytaal: Material empleado para la fabricación de redes de plancton, caracterizada por tener abertura de malla de diferentes dimensiones en micras.

Placa de Sedgwick-Rafter: Lámina cóncava de 1 ml de capacidad, empleada para cuantificar plancton.

Palizada: Vegetación arbórea de las zonas ribereñas (troncos, ramas raíces, etc.) arrastrada por la fuerza del incremento del caudal de los Ríos y quebradas en época de creciente.

Plancton: Compleja comunidad microscópica, formada por microalgas, protozoarios, hongos, rotíferos, micro crustáceos y otros animales microscópicos. Son útiles para evaluar los efectos de los contaminantes en lagos y corrientes de agua.

Población: Grupo o conjunto de individuos de una sola especie.

Producción primaria: Producción de materia orgánica a partir de materia inorgánica, usualmente por fotosíntesis.

Red Surber: Equipo para muestrear macroinvertebrados en ambientes lóticos.

Riqueza de especies: Número de especies en una muestra o hábitat.

Taxonomía: Ciencia que clasifica organismos biológica, sistemática y de manera jerarquizada.

Visibilidad: Llamada también transparencia, es la medida de la profundidad que permite ver a través del agua; varía con las condiciones del día y el observador.

Zooplancton: Componente animal del plancton conformado por organismos microscópicos con movilidad limitada.



Av. Javier Prado Oeste 1440 San Isidro, Lima - Perú
Teléfono 611 - 6000 | Línea verde 0800 - 00660
webmaster@minam.gob.pe
www.minam.gob.pe

ISBN: 978-612-4174-15-5

