

MANUALES PARA EL MUESTREO Y BIOINDICACIÓN DE ZOOPLANCTON



Fotos: Woelfl

Edición 1 del 30 de agosto 2018

NOTA DE LOS AUTORES: SE DEBE TOMAR ENCONSIDERACIÓN QUE LA PRESENTE VERSIÓN DE ESTE MANUAL ES CASI IDÉNTICA AL DOCUMENTO ELABORADO POR LOS AUTORES PARA EL MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE (2015) QUE AÚN NO HA SIDO PUBLICADO POR EL MMA.

A PETICIÓN DE LOS AUTORES (COMUNICACIÓN PERSONAL DE STEFAN WOELFL CON EL SR. HERNÁN LATUS, MMA, OCTUBRE 2017) SE OBTUVO LA AUTORIZACIÓN PARA PONER A DISPOSICIÓN ESTE MANUAL PRELIMINAR A LA SOCIEDAD CHILENA DE LIMNOLOGÍA Y A LOS INTERESADO EN EL TEMA.

EN EL FUTURO SE PRETENDE ACTUALIZAR Y AMPLIAR ESTE MANUAL POR PARTE DE LOS AUTORES Y DE LA SOCIEDAD CHILE DE LIMNOLOGÍA.

ESTA ES LA VERSIÓN NÚMERO 1 DEL 30 DE AGOSTO 2018.

SE DEBE CITAR COMO:

Woelfl, S., Caputo L., García-Chicote J. & P. de Los Ríos. 2018. Manuales para la bioindicación: Zooplancton. Ministerio del Medio Ambiente. Santiago, Chile. Edición Manuales Sociedad Chilena de Limnología 1: 45 págs.

PROYECTO “EVALUACIÓN DE PROCEDIMIENTOS PARA EL MUESTREO Y ANÁLISIS DE
ECOSISTEMAS ACUÁTICOS”

Ministerio de Medio Ambiente

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Índice de Contenidos.....	i
Índice de Tablas.....	ii
Índice de Figuras.....	iii
1 AGRADECIMIENTOS.....	4
2 INTRODUCCIÓN.....	5
2.1 Objetivo del protocolo.....	5
2.2 Biomonitorio de la calidad del agua.....	5
2.3 Definición de zooplancton.....	6
2.4 Estado de conocimiento en Chile.....	6
2.5 Zooplancton como indicador biológico.....	9
2.6 Criterios de aplicabilidad del protocolo.....	10
3 MUESTREO DE ZOOPLANCTON.....	10
3.1 Equipos y materiales.....	11
3.1.1 Protección y seguridad del personal.....	11
3.1.2 Bioseguridad en el muestreo.....	11
3.1.3 Equipos.....	12
3.1.3.1 Equipos para el muestreo de microcrustáceos.....	12
3.1.3.2 Equipos para el muestreo de rotíferos y ciliados.....	12
3.1.4 Reactivos y fijadores.....	14
3.2 Procedimientos de muestreo.....	14
3.2.1 Selección de estaciones de muestreo.....	14
3.2.2 Periodo y frecuencia de muestreo.....	14
3.2.3 Toma de muestras de zooplancton.....	15
3.2.3.1 Muestreo microcrustáceos.....	16
3.2.3.2 Muestreo rotíferos.....	18

3.2.3.3 Muestreo <i>Stentor</i>	18
3.2.4 Etiquetado y transporte de muestras.....	19
3.2.5 Datos complementarios al muestreo de zooplancton.....	20
4 IDENTIFICACIÓN Y RECuento DE ZOOPLANCTON.....	21
4.1 Materiales.....	21
4.2 Preparación de la muestra para su recuento.....	22
4.3 Identificación y recuento de zooplancton.....	23
4.3.1 Identificación y recuento de microcrustáceos.....	23
4.3.1.1 Identificación de cladóceros.....	24
4.3.1.2 Recuento de cladóceros.....	24
4.3.1.3 Identificación de copépodos.....	25
4.3.1.4 Recuento de copépodos.....	25
4.3.2 Identificación y recuento de rotíferos.....	25
4.3.2.1 Identificación de rotíferos.....	26
4.3.2.2 Recuento de rotíferos.....	27
4.3.3 Identificación y recuento de ciliados grandes (<i>Stentor</i>).....	27
4.4 Determinación de biomasa.....	28
4.5 Mantención muestras.....	29
4.6 Entrenamiento taxonómico.....	29
4.7 Análisis de datos.....	29
5 GLOSARIO.....	30
6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31
6.1 Referencias generales.....	31
6.2 Trabajos que incluyen información sobre zooplancton en Chile.....	32
6.3 Bibliografía para la identificación de zooplancton.....	35
ANEXO 1 Ficha de Campo para descripciones generales.....	39
ANEXO 2 Criterios a utilizar para el llenado de fichas	41
ANEXO 3 Materiales generales para el muestreo de agua.....	41
ANEXO 4 Metodología parámetros físico-químico básicos.....	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Principales características de la distribución del zooplancton en Chile.....	7
Tabla 2 Etiqueta muestra microcrustáceos.....	19
Tabla 3 Etiqueta muestra rotíferos.....	20
Tabla 4 Materiales para el análisis de zooplancton en el laboratorio.....	21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ejemplos de diferentes equipos para coleccionar zooplancton.....	13
Figura 2 Divisor FOLSOM y pipetas HENSEN.....	22
Figura 3 Tipos de cámaras de conteo: Sedgewick Rafter y Bogorov.....	24
Figura 4 Cámaras de Utermöhl.....	26
Figura 5 Filtro de fibra de vidrio con <i>Stentor</i> . Lago Maihue.....	27
Figura 6 Mediciones corporales zooplancton.....	28

MANUALES PARA LA BIOINDICACIÓN:

ZOOPLANKTON

La elaboración de este documento fue posible gracias al financiamiento del Ministerio del Medio Ambiente de Chile. Los autores del documento son:

- Dr. Stefan Woelfl (Universidad Austral de Chile, Valdivia)
- Dr. Luciano Caputo (Universidad Austral de Chile, Valdivia)
- Dr. Jara García-Chicote (Universidad de Valencia, Valencia)
- Dr. Patricio De los Ríos (Universidad Católica de Temuco, Temuco)

En la edición de este documento trabajaron el Sr. Hernán Latuz del Ministerio del Medio Ambiente y la Srta. Karina Aguilera y el Sr. Francisco Contreras de la Consultora ICNOVA ING.

1 AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la participación activa en las discusiones y revisiones de los siguientes especialistas:

- Irma Vila (Universidad de Chile)
- Rodrigo Pardo (Consultora AQUAEXPERT)
- Andrés Camacho (Universidad de Valencia)
- Antonio Bolkovsky (Universidad de Buenos Aires)

2 INTRODUCCIÓN

El progresivo deterioro de los recursos hídricos ha sido y será tema de preocupación tanto a nivel nacional como internacional debido a su limitada disponibilidad para las actividades antrópicas y para el sustento de las comunidades en sistemas límnicos. La problemática de la calidad del recurso hídrico ha sido abordada a través de la dictación de una serie de normativas ambientales que han derivado en la elaboración de las Normas Secundarias de Calidad Ambiental (NSCA) para sistemas dulceacuícolas. El objetivo central de las NSCA conservar o preservar los ecosistemas hídricos y sus servicios ecosistémicos a través de la mantención o mejoramiento de la calidad de las aguas de la cuenca. El Ministerio del Medio Ambiente ha establecido como una de las líneas de trabajo “consolidar el biomonitoreo como instrumento fundamental para el seguimiento de la calidad del agua, incorporando criterios y contenidos específicos en los Programas de Vigilancia de las NSCAs vigentes, para la evaluación del estado ecológico de los sistemas acuáticos chilenos”. Por lo anterior, se requieren de metodologías prácticas, costo-efectivas y validadas que sirvan de base para el levantamiento y análisis de datos biológicos en el contexto del biomonitoreo. Alternativamente, estas metodologías servirán además como base para cualquier otro instrumento de gestión de recursos hídricos, redes de monitoreo u otros estudios específicos que se requieran con respecto a este tema.

2.1 Objetivo del Protocolo

El presente documento tiene como objetivo ser una guía metodológica para muestreo y análisis de zooplancton, detallando procedimientos y criterios estándar para el levantamiento de información base en los cuerpos de agua que se encuentren o estén pronto a ser normados así como para otros instrumentos de gestión o estudios específicos de recursos hídricos. Con esta información se evaluará el uso del zooplancton como indicador biológico de cambios ambientales en sistemas dulceacuícolas chilenos.

2.2 Biomonitoreo de la calidad del agua

Históricamente, el monitoreo de la calidad del agua se ha realizado únicamente mediante variables físicas y químicas (en Chile: red de monitoreo de la Dirección General de Aguas). No obstante, el reconocimiento y la utilización de la biota para el seguimiento de la “salud de los ecosistemas”, se encuentra incluida hace décadas en completos programas de control de la calidad de los sistemas límnicos en el extranjero (ej. Directiva Marco del Agua de la Comunidad Europea, Programas de bioevaluación de la US-EPA en Estados Unidos, AUSRIVAS en Australia, CABIN en Canadá).

La experiencia internacional ha demostrado que la evaluación de la calidad ambiental mediante indicadores biológicos es fundamental, puesto que es posible utilizar ciertas características o propiedades estructurales y/o funcionales de las comunidades biológicas para evaluar en forma comparativa el estado de sistemas (Segnini, 2003, Jeppesen y Col., 2011). Una buena descripción de la comunidad biológica puede dar buenos indicios sobre el estado general del sistema estudiado, puesto que las propiedades de cada comunidad dependen de la suma integrada de los procesos físicos, químicos y biológicos que se generan (Resh y Col., 1996; Vannote y Col., 1980; Yoder, 1995; Jeppesen y Col., 2011).

2.3 Definición de zooplancton

El zooplancton de las aguas continentales se define como la comunidad de organismos principalmente heterótrofos que nadan o se encuentran suspendidos en el agua, sin motilidad o con motilidad insuficiente para evitar ser arrastrados por las corrientes. Los grupos más importantes del zooplancton, son cladóceros y copépodos, ambos pertenecientes a la subclase Crustacea, rotíferos pertenecientes al filo Rotífera y protozoos (principalmente flagelados y ciliados) (Wetzel, 2001; Lampert y Sommer, 2007). Además de estos grupos, en los sistemas chilenos cabe destacar la importancia de la clase Branchiopoda, orden Anostraca (*Artemia sp.*); y los grandes ciliados mixotróficos (género *Stentor*) que pueden aportar hasta un 50-70% a la biomasa total del zooplancton en los lagos prístinos del Sur de Chile por lo cual se incluye este grupo en este manual (Woelfl & Geller, 2002; Woelfl, 2006, 2007; Woelfl y Col., 2010). El zooplancton se encuentra en diferentes niveles tróficos en los sistemas acuáticos siendo bacteriovoros, herbívoros y zooplánctívoros. Algunos organismos también son simbióticos con algas (ciliados mixotrófico, véase abajo). En general, los estudios de zooplancton se enfocan en sistemas lacustres y no en ríos o cauces, debido a que la turbulencia y la velocidad de la corriente generalmente limitan el desarrollo del zooplancton dentro de sistemas lóticos, salvo en zonas estancadas.

2.4 Estado de conocimiento en Chile

Las características geográficas, fisiográficas y climáticas de Chile continental resultan en una gran diversidad de sistemas acuáticos continentales ubicados a lo largo y ancho del territorio (Soto y Col., 1991, De los Rios, 2010, Montecino y Col., 2011) lo que, en varios casos, presentan escasa o nula información limnológica. Algunos estudios sobre zooplancton - principalmente distribución y abundancia de microcrustáceos - se listan en la bibliografía.

Los estudios publicados han demostrado que si bien existe suficiente información sobre la distribución de zooplancton (principalmente microcrustáceos) provenientes de diferentes ecosistemas acuáticos (lagos, lagunas y salares), la mayor parte de los grupos zooplánctónicos

reconocidos necesita una exhaustiva revisión taxonómica (Pilati, A. y Menu-Marque S.A., 2002; Villalobos, 2006; De los Ríos, 2010)

La evidencia científica señala que los cuerpos acuáticos lénticos presentan una baja diversidad de todos los grupos zooplanctónicos en ambientes oligotróficos y una mayor diversidad en ambientes meso- y eutróficos (Wetzel, 2001; Jeppessen y Col., 2011). En Chile, se observa que hay comunidades características de los diferentes ambientes acuáticos en el gradiente norte – sur. A continuación, la Tabla 1 resume en forma general (cualitativa) las principales características de las comunidades zooplanctónicas en diferentes zonas geográficas de Chile.

Tabla 1 Principales características de la distribución de zooplankton en Chile

Zona Norte	
Microcrustáceos	A salinidades menores de 10 g/L coexisten varias especies de copépodos cyclopoidos del género <i>Boeckella</i> (<i>B. gracilipes</i> , <i>B. occidentalis</i> y/o <i>B. poopoensis</i>) con cladóceros (<i>Daphnia</i> , <i>Chydorus</i>). Entre 10 y 90 g/L <i>Boeckella poopoensis</i> predomina de manera casi exclusiva. Entre los 90 y 200 g/L aproximadamente predomina <i>Artemia franciscana</i> (De los Ríos-Escalante, 2010). El aporte de este grupo a la biomasa total es de 100%??
Rotíferos	No existen datos al respecto.
Ciliados (<i>Stentor</i>)	No existen datos al respecto, solamente observaciones de “ciliados grandes” en el lago Chungará (comunicación personal, Prof. Irma Vila, U.Chile)
Zona Central	
Microcrustáceos	En ambientes eutróficos generalmente presentan alta diversidad y abundancia, predominan cladóceros (<i>Daphnia</i> , <i>Ceriodaphnia</i> , <i>Eubosmina</i>) y copépodos calanoidos y cyclopoidos. En ambientes oligotróficos andinos, la comunidad es similar a la Zona Sur, dominan copépodos y existe una baja abundancia de cladóceros.
Rotíferos	En ambientes generalmente eutróficos presentan alta diversidad y abundancia (Schmid-Araya, 1991).
Ciliados (<i>Stentor</i>)	No existen datos al respecto.
Zona Sur: lagos araucanos	
Microcrustáceos	En Ambientes oligotróficos-mesotróficos predominan <i>Boeckella</i> y <i>Diaptomus</i> . <i>Mesocyclops</i> y <i>Tropocyclops</i> de menor importancia. <i>Ceriodaphnia</i> y <i>Eubosmina</i> muchas veces presentes. <i>Daphnia</i> y <i>Diaphanosoma</i> presentes en lagos con mayor productividad primaria (Soto y Zuñiga, 1991; Campos y Col., Ríos, 2011). En lagos patagónicos se

	encuentra también <i>Paraproteus sarsi</i> . En promedio el aporte a la biomasa total del zooplancton es > a 90 % (lagos sin ciliados grandes) (Campos y col 1984-1992 ; Woelfl, y Col. 2010)
Rotíferos	Generalmente predominan 2-4 especies, los géneros más frecuentes son <i>Keratella</i> , <i>Synchaeta</i> , <i>Polyarthra</i> , <i>Conochilus</i> , <i>Trichocerca</i> , <i>Collotheca</i> y <i>Kellicottia</i> (Schmid-Araya, 1993, Campos y col.1984-1992). Presentan una abundancia de 50-500 Ind/L. En promedio el aporte a la biomasa total del zooplancton es < 1 % (Woelfl y Geller 2002, Woelfl y Col. 2010)
Ciliados (<i>Stentor</i>)	Grandes ciliados mixotróficos (<i>Stentor araucanus</i> y <i>Stentor amethystinus</i>) presentes en lagos ultra- y oligotróficos con poca presencia de <i>Daphnia</i> y copépodos calanoideos
Extremo Sur: de 45 a 55 °Lat S	
a) Lagunas temporales y permanentes	
Microcrustáceos	En condiciones de baja salinidad (< 1 g/L) principalmente <i>Daphnia dadayana</i> . En condiciones de mesotrofia, abundan los copépodos principalmente <i>Boeckella poppei</i> y <i>Parabroteas sarsi</i> . En condiciones de oligotrofia y baja salinidad (< 1 g/L) el género <i>Branchinecta</i> (<i>B. gaini</i> , <i>B. granulosa</i> y <i>B. vuriloche</i>) puede aparecer en ambientes temporales. A salinidad moderada (1-10 g/L aproximadamente), pueden aparecer <i>Boeckella meteoros</i> y/o <i>B. poopensis</i> (De los Ríos-Escalante, 2011). En sitios salinos (15-90 g/L) la situación es irregular, existiendo <i>Boeckella poopensis</i> y/o <i>Artemia persimilis</i> (De los Ríos-Escalante & Gajardo, 2010). A salinidades > 90 g/L predomina <i>A. persimilis</i> (De los Ríos-Escalante & Gajardo, 2010; De los Ríos-Escalante, 2011)
Rotíferos	No hay antecedentes al respecto
Ciliados (<i>Stentor</i>)	No hay antecedentes al respecto
b) Lagos	
Microcrustáceos	En condiciones de oligotrofia, composición similar a los lagos Araucanos, predominio de copépodos calanoideos (<i>Boeckella gracilipes</i> y/o <i>Boeckella michaelseni</i>) con bajo número de especies (dos o tres por sitio). En condiciones de oligo-mesotrofia, el número de especies puede aumentar hasta cuatro o cinco especies.
Rotíferos	No hay antecedentes al respecto
Ciliados (<i>Stentor</i>)	No hay antecedentes al respecto

2.5 Zooplancton como indicador biológico

Existe vasta literatura sobre los distintos grupos de organismos y su potencial uso como indicadores de diversas condiciones ambientales en los sistemas dulceacuícolas. Un grupo poco utilizado y recientemente considerado es el zooplancton (Jeppesen y Col., 2011).

Dado que el zooplancton presenta determinados requerimientos ecológicos que determinan sus patrones de distribución, y que estos organismos responden rápidamente a los cambios ambientales, la caracterización de la estructura comunitaria del zooplancton (composición, presencia, abundancia y biomasa) en los cuerpos de agua podría usarse como un indicador para evaluar la calidad de las mismas (Jeppesen y Col., 2011; Andreu y Camacho, 2002).

De forma complementaria otros autores sugieren que el valor indicador del zooplancton de cambios ambientales en los sistemas acuáticos recae justamente en su posición intermedia dentro de la cadena trófica entre peces y fitoplancton. Por un lado, estos organismos son responsables, como herbívoros, de controlar la biomasa de fitoplancton, y por otro constituyen las presas recurrentes de la fauna íctica pelágica (Wetzel, 2001; Lampert y Sommer, 2007; Ordoñez y Col. 2010 Goswami, 2004; Jeppesen y Col., 2011). De acuerdo a lo anterior, queda de manifiesto que el zooplancton cumple un rol clave en los flujos de materia y energía dentro de las mallas tróficas pelágicas de los ecosistemas límnicos. Estudios recientes realizados en Europa, evidencian que, para obtener el mismo grado de información sobre dinámicas tróficas, un programa de monitoreo de peces y fitoplancton en el tiempo, es mucho más caro que uno de zooplancton (Jeppesen y Col., 2011). Por tanto, en términos económicos- costo-beneficio- la incorporación del zooplancton en los muestreos asociados a la NSCA es completamente justificada más aún con vistas a generar información histórica de la evolución de las comunidades y cambios en trofia y calidad de agua.

En Chile no existen muchos estudios científicos publicados sobre bioindicación con zooplancton propiamente tal, sin embargo, existe documentación donde se han relacionado parámetros fisicoquímicos con biológicos. En el Norte se ha registrado que a salinidades menores de 10 g/L coexisten varias especies de *Boeckella* (*B. gracilipes*, *B. occidentales* y/o *B. poopoensis*) con cladóceros (*Daphnia*, *Chydorus*), a salinidades entre 10 y 90 g/L *Boeckella poopoensis* predomina de manera casi exclusiva y entre los 90 y 200 g/L aproximadamente predomina *Artemia franciscana* (De los Ríos-Escalante, 2010). En el Sur de Chile se reportó *Branchinecta gaini* como un bioindicador de lagos someros oligotróficos de baja conductividad (De los Ríos-Escalante y Col., 2008) (Ver Tabla 1). Para el caso de varios lagos Nordpatagónicos *sensu* (Thommasson 1963), distribuidos entre los 39 y los 42°, destaca la presencia de grandes ciliados mixotróficos del género *Stentor*, como un componente importante del zooplancton tanto en abundancia como en biomasa (Woelfl & Geller, 2002; Woelfl, 2007, 2010); reconociéndose en este grupo de ciliados un

importante rol ecológico dentro de las tramas tróficas pelágicas de los lagos y por ello constituyendo per se, un excelente bioindicador de cambios ecosistémicos reflejados en lagos de ambos hemisferios (Foissner 2006, Woelfl y Col., 2010). Específicamente, la especie *Stentor araucanus*, ciliado endémico de Chile y Argentina, ya es considerado a nivel internacional como una especie “marcador” (“flagship”) porque es visible a simple vista y de gran importancia en ciertos lagos del Sur de América (Foissner, 2006). Este grupo de grandes ciliados vive generalmente en lagos donde *Daphnia* y copépodos ciclopoideos están ausentes o se encuentran en baja densidad (Woelfl y Col., 2007).

2.6 Criterios de aplicabilidad del Protocolo

El presente protocolo ha sido diseñado para ser aplicado principalmente en sistemas lacustres de Chile, tanto en zonas profundas como en sus orillas. Sin embargo, se considera también el muestreo en ríos, principalmente en zonas estancadas, donde la comunidad de zooplancton pueda desarrollarse y en zonas con corriente dependiendo del objetivo del estudio (p.e. arrastre, transporte o sobrevivencia de plancton).

3 MUESTREO DE ZOOPLANCTON

Antes de realizar el trabajo de campo, se debe recopilar información importante del sistema a estudiar:

- 1) Clasificación del cuerpo de agua (macrozona, ecorregión, tipo de sistema).

- 2) Nombre del sistema, clase (lago, río y otros humedales), cuenca de estudio y subcuenca si corresponde.

- 3) Datos hidrológicos disponibles, los cuales eventualmente influyen sobre la distribución del zooplancton

- 4) Datos sobre estratificación térmica y clima lumínico, los cuales influyen sobre la distribución vertical del zooplancton

- 5) Información bibliográfica sobre zooplancton y los métodos utilizados para toma de zooplancton (microcrustáceos, rotíferos, *Stentor*) (Importante información acerca de la metodología comparable utilizada).

- 6) Estado trófico del sistema caracterizando productividad y cantidad y calidad de algas, puesto que esto influye sobre la densidad y la distribución de zooplancton.

3.1 Equipos y materiales

3.1.1 Protección y seguridad del personal

El personal de terreno debe contar con equipo de protección y debe ser previamente entrenado. Como protección básica, el personal deberá utilizar chaleco salvavidas, botas o trajes de agua, protector solar y gorro. Todo el material de protección debe ser proporcionado por la institución responsable del muestreo. Además, el personal de terreno debe considerar lo siguiente:

- 1) No muestrear en condiciones inseguras (por ej., niveles de agua y arrastres superiores a los normales, presencia de animales peligrosos en el área, condiciones climáticas muy adversas, etc.)
- 2) Nunca se debe muestrear solo. En terreno deben trabajar al menos dos personas, con un óptimo número de tres o cuatro personas.
- 3) Se debe contar con un medio de comunicación: teléfono celular o satelital en sitios sin cobertura
- 4) Utilizar chaleco salvavidas en todo momento, independientemente de las condiciones observadas (baja profundidad, cauces poco torrentosos, etc.)
- 5) La correcta manipulación de químicos (ácidos, formalina, etc.) es esencial para evitar daños personales. Considerar el uso de guantes y mascarillas cuando sea necesario.
- 6) En caso de que el punto a muestrear esté muy contaminado, se deberán utilizar guantes de látex y mascarilla. El contacto con aguas contaminadas puede producir graves enfermedades, especialmente del tipo gastrointestinales.

3.1.2 Bioseguridad en el muestreo

Las técnicas utilizadas en las campañas de muestreo deberán evitar el transporte de contaminantes, plagas u otros agentes que puedan dispersarse entre sistemas, y que pueden dañar irreparablemente la biota y/o los ecosistemas que se estén estudiando. Para dichos fines se utilizarán las técnicas de bioseguridad que actualmente aplica la Subsecretaría de Pesca de Chile, y que se encuentran contenidas en el capítulo de “Bioseguridad en muestreo” del “Protocolo de muestreo y análisis de muestras de *Didymosphenia germinata* para sistemas lóticos chilenos” (Díaz y Col., 2011). Cualquier modificación a las metodologías de este documento será debidamente justificada y oportunamente informada a la autoridad competente.

3.1.3 Equipos

3.1.3.1 Equipos para el muestreo de microcrustáceos

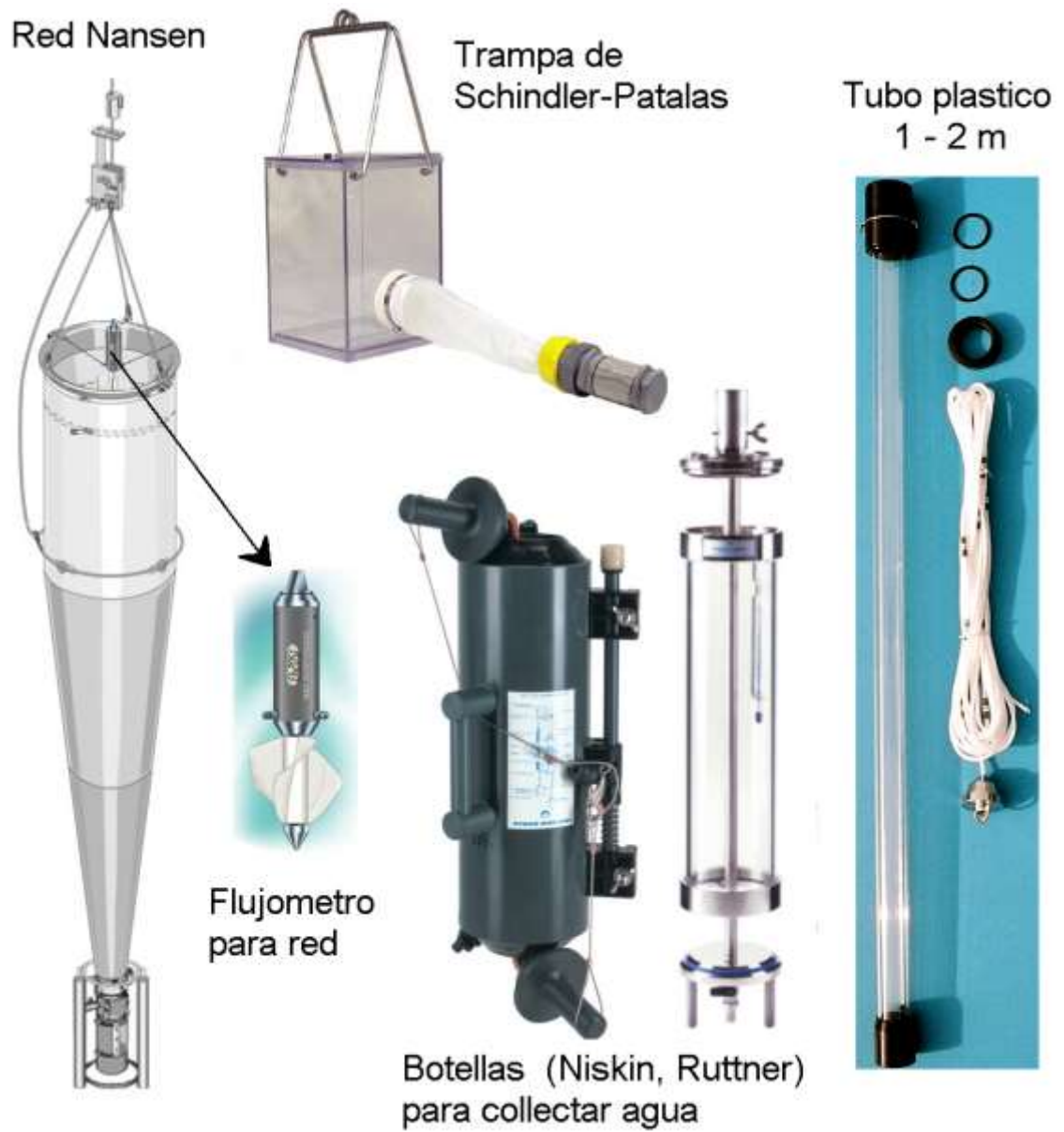
Para la toma de muestras de microcrustáceos se usan redes de marco circular de zooplancton con diferentes diámetros (generalmente 20 – 50 cm) y mallas (generalmente 50 μm – 200 μm) y/o trampas de Schindler-Patalas con diferentes volúmenes (10-50 L) y mallas (generalmente ~ 50 μm – 200 μm) (Figura 1) (APHA, 2005). El diámetro (apertura) de la red de zooplancton, no debe ser menor a $\varnothing 20$ cm para impedir el escape de copépodos. Con respecto a la malla de la red, se debe considerar que una red con malla pequeña (p.e. 50 – 80 μm) tiene una menor eficiencia de filtración y la red se tapa mucho más rápido que una red con mayor apertura de la malla (APHA, 2005). El recipiente de los organismos debe ser de material resistente y fácil de extraer. El cono de filtración generalmente es de un material sintético y durable. Para medir la eficiencia de filtración se debe usar un flujómetro, (armado en el interior del cono de la red en la parte superior, Figura 1), con el cual se puede determinar la cantidad de agua filtrada (véase punto 3.2.3.1). En muestreos entre dos profundidades la red debe tener un sistema de cierre desde superficie (Figura 1, red Nansen).

La selección del método adecuado para la toma de muestras de microcrustáceos depende de muchos factores y tiene que considerar el tipo de estudio (cuantitativo, cualitativo, densidad, distribución etc.), el tamaño de los organismos (varía entre ~0,1 y 10 mm según especie y estado larval), la densidad de los organismos (generalmente alta en ambientes eutróficos y baja en ambientes oligotróficos) la distribución vertical, entre otros. Más detalles respecto a la toma de muestras se presentan abajo. Generalmente organismos con un tamaño inferior a 200 μm se pueden coleccionar mejor con trampas de Schindler-Patalas, mientras que, para organismos de mayor tamaño, con redes de zooplancton.

3.1.3.2 Equipos para el muestreo rotíferos y ciliados

Debido a su pequeño tamaño (rotíferos: 0,05 – 1,0 mm; ciliados: 0,01 – 0,4 mm) la colecta de rotíferos y ciliados siempre se debe muestrear con equipos que toman un determinado volumen de agua, por ejemplo, botellas de agua y tubos plásticos de 1-2 m (Figura 1). Posteriormente a la toma de la muestra, esta debe ser filtrada con malla de 50 μm (rotíferos) y depositada en una botella de 50-100 ml (vidrio oscuro) y fijada. Ciliados del género *Stentor* deben ser depositados sobre filtros (véase punto 3.2.3.2). Las redes de zooplancton solo sirven para tomar muestras cualitativas de rotíferos y ciliados grandes. Para mayores detalles sobre la toma de las muestras véase punto 3.2.3.3.

Figura 1 Ejemplos de diferentes equipos para colectar zooplancton



3.1.4 Reactivos y fijadores

Microcrustáceos: Los microcrustáceos se fijan con formalina saturada (concentración 37% formalina) con azúcar (300 gr/L) a 4% concentración final en frascos de plástico o vidrio (Haney y Hall, 1973) (significa que el factor de dilución de formalina saturada es ~1:10). Es muy importante usar frascos con tapas de muy buena calidad, y sellar los frascos con huincha para evitar evaporación de formalina. Para ciertos tipos de estudios (p.ej. genéticos o taxonómicos) se usa etanol como fijador.

Rotíferos: Los rotíferos se fijan usando formalina saturada con azúcar (300 gr/L) a 4% concentración final en frascos de plástico o vidrio sellados con huincha. Se debe usar solamente frascos con tapas de muy buena calidad para evitar evaporación de formalina.

3.2 Procedimientos de muestreo

3.2.1 Selección de estaciones de muestreo

A continuación, se indican los criterios más importantes a considerar para la identificación de los sitios de muestreo:

- 1) Si corresponde, seleccionar como mínimo los mismos sitios que fija la NSCA respectiva para análisis físico-químicos.
- 2) Para ciertas preguntas de interés (estudio de alteraciones de hábitat, diferencias horizontales de la comunidad zooplanctónica etc.), los sitios se deben seleccionar de acuerdo con el objetivo de estudio. Por ejemplo, si el objetivo es estudiar el efecto de una fuente contaminante en un lago, el sitio de estudio se situará cerca de la descarga.

Una vez ubicado el punto de muestreo, se deben tomar fotografías representativas de los sitios y se debe completar la Ficha de Campo (Anexo 1), en la que se registrarán las observaciones generales, así como también las condiciones particulares de los sistemas.

3.2.2 Período y frecuencia de muestreo

El período y la frecuencia de muestreo del zooplankton va a depender del objetivo de estudio y de la dinámica poblacional de los diferentes grupos zooplanctónicos tanto a nivel espacial (en la columna de agua) como temporal (a lo largo del año). Generalmente los organismos pequeños

(rotíferos, ciliados) tienen un desarrollo rápido con un tiempo generacional de pocos días o semanas mientras que los copépodos y cladóceras tienen un tiempo generacional de varias semanas hasta varios meses (copepodos). En general, el zooplancton se desarrolla fuertemente durante el verano alcanzando su densidad máxima. Conviene muestrear por lo tanto con mayor frecuencia (p.e. mensual) durante verano y menor frecuencia durante el resto del año. Una buena caracterización de la diversidad de los grupos zooplanctónicos se obtiene mediante el muestreo estacional de la comunidad (cuatro veces al año en sistemas mediterráneos), y dos veces al año en sistemas extremos, considerando los hidro-períodos. Por ejemplo, en el caso del extremo Norte de Chile, el muestreo se realiza en periodos de Otoño (abril-mayo) y Primavera (octubre-noviembre) considerando las lluvias de Verano. En caso de tener que seleccionar menos muestreos al año en sistemas mediterráneos, se recomienda realizar uno en primavera y otro en verano.

3.2.3 Toma de muestras de zooplancton

El tipo de muestreo de zooplancton dependerá entre otros de la comunidad que se quiere muestrear, del ciclo de vida de los organismos de interés (frecuencia de muestreo), de la condición trófica de los sistemas, los datos a obtener (cuantitativos/cualitativos) y de la profundidad.

En términos generales, para el muestreo de zooplancton se utilizan dos aproximaciones: muestreo cualitativo y muestreo cuantitativo. El muestreo cualitativo debe ser diseñado de tal forma de obtener una muestra representativa de la comunidad zooplanctónica en un determinado cuerpo o parte del cuerpo de agua, que por ejemplo podría ser una bahía, la columna vertical, el epilimnion, el metalimnion, la zona eufótica, etc.. Por otro lado, el muestreo cuantitativo debe ser diseñado de tal forma que se colecte al menos 100 individuos de cada especie importante en términos de abundancia ($> 10\%$ de la comunidad zooplanctónica). Lo anterior implica que se debe filtrar o fijar un volumen de agua adecuado para cumplir con el número mínimo de individuos a cuantificar. Debido a que los diferentes grupos zooplanctónicos (microcrustáceas, rotíferos, ciliados) presentan distintas abundancias, tamaños y/o vulnerabilidad, es necesario utilizar diferentes métodos de colecta.

Si se colecta zooplancton en ríos es importante registrar además la velocidad de la corriente en los sitios de muestreo ubicados en secciones de ríos que puedan generar asentamiento de zooplancton (zonas estancadas de muy baja velocidad) usando por ejemplo un flujómetro, o en su defecto simplemente mediante derivadores flotantes, registrando el tiempo gastado en recorrer una distancia conocida.

Considerando lo antes mencionado, a continuación, se presentan metodologías, principalmente basadas en Wetzel y Likens (2000), APHA (2005) y otros trabajos (véase bibliografía).

3.2.3.1 Muestreo microcrustáceos:

Este grupo tiene un tamaño que va desde los ~ 0,1 mm aproximadamente (nauplias) a varios milímetros (adultos de copépodos y cladóceros). Si se usa una red para su captura, ésta debe tener una apertura (diámetro de la boca) > 20 μ m, con lo cual se minimiza el escape de los copépodos (estadios copepoditos C4-C6). La abundancia de los microcrustáceos oscila entre 0,01 - 1000 ind/L. y se concentran principalmente en la zona eufótica o levemente debajo de ésta en la columna de agua. Ocasionalmente también se pueden encontrar a profundidades > 60 m en lagos profundos dependiendo de la especie (p.e. *Paraproteus sarsi* suele encontrarse en mayores profundidades).

Muestreo cualitativo de microcrustáceos: En pequeños charcos o lagunas someras de muy baja profundidad (y alta densidad de organismos) se puede tomar y filtrar un volumen conocido de agua (p.e. tomado con trampa de Schindler-Patalas 10-20 L) mediante tamices de al menos 50 μ m para obtener la totalidad de los microcrustáceos. La muestra obtenida por filtrado es posteriormente removida mediante lavados (usar piseta con agua destilada o filtrada del sitio de muestreo), depositada y fijada en frascos rotulados de material plástico o de vidrio. También es posible usar una red de zooplancton realizando arrastres horizontales y verticales.

En cuerpos de agua profundos (> 60 m), se pueden realizar arrastres verticales desde una profundidad conocida (no menor a 40-60 m) hasta la superficie con una red de zooplancton con una malla de 80-150 μ m (muestreos integrados de la columna de agua). Es posible usar una red de tamaño de poro pequeño (50 μ m) sin embargo éste tiende a taparse más rápido influyendo negativamente en la captura de los diferentes estadios larvales.

Muestreo cuantitativo de microcrustáceos: Las técnicas de muestreo cuantitativo dependerán principalmente de la densidad de organismos presentes en los cuerpos de agua (alta densidad/baja densidad). Para obtener datos cuantitativos usando una red de zooplancton, éste siempre debe tener un flujómetro (hélice que sirve para medir distancia del arrastre), instrumento que permite calcular el volumen filtrado y la eficiencia de filtración (E.F) (E.F. = volumen filtrado efectivamente/ volumen teóricamente filtrado basándose en la distancia arrastrada). Se calcula de la siguiente forma:

$$E.F. = \text{Volumen filtrado} / (\pi \times r^2 \times d) \times 100$$

Dónde:

E.F. = eficiencia de filtración (%)

r = radio de la apertura de la red

d = distancia de arrastre (m)

La eficiencia de filtración debe ser > 80%. Si es menor, se recomienda realizar varios arrastres más cortos y/o usar una red con mayor malla para aumentar la eficiencia de filtración. Redes con mallas pequeñas (50-90 μm) tienen una eficiencia de filtración menor que redes con mallas mayores (> 100 μm).

Considerando este criterio, se explica a continuación cada tipo de muestreo para ambientes con diferentes densidades de microcrustáceos:

Ambientes con baja densidad (p.e. lagos oligotróficos): En ambientes oligotróficos las abundancias de las microcrustáceos son en general menores de 10 ind/L y muchas veces menores de 1 ind/L. En lagos profundos y transparentes (lagos del Sur de Chile) se encuentran distribuidos hasta los 50 m y en muchos casos hasta 100 m de profundidad. En estos lagos la única manera de colectar suficientes individuos por muestra es a través de arrastres verticales con redes de zooplankton desde por lo menos 50 m de profundidad (idealmente 100 m) hasta la superficie.

Si la red presenta una baja eficiencia de filtración (< 80%), se debe considerar diferentes arrastres en intervalos (p.e. arrastres de 5 a 25 m), mediante una red que permita este tipo de muestreo (p.e. Nansen, Aspen, Clark-Bumbus etc.). Las muestras se pueden juntar para cuantificar los microcrustáceos en una sola muestra integrada. Se recomienda una malla de por lo menos 80 – 150 μm para colectar estadios copepoditos y adultos de copépodos, y una segunda red con malla inferior (50-60 μm) para colectar estadios larvales más pequeños (nauplias).

Ambientes con alta densidad (> 20 Ind/L): En ambientes de baja – moderada profundidad (< 30 m) es recomendable tomar muestras en diferentes profundidades con una trampa Schindler-Patalas, de volúmenes de 10 – 50 L y filtrar el agua con mallas de 50 a 200 μm . Estas muestras obtenidas en diferentes profundidades también se pueden unificar en una sola muestra integrada. El otro método es usar una red de zooplankton con flujómetro, siempre y cuando se considere la eficiencia de filtración de la red en forma adecuada (ver ítem anterior).

Recomendación: La red siempre debe ser meticulosamente lavada entre muestras y muestreos, todo el material depositado dentro del cono de filtración y el recipiente de recolección debe ser depositado en los frascos de muestreo. Además, la red debe ser limpiada por fuera para evitar la contaminación entre puntos. Es recomendado usar para cada cuerpo o cada tipo de cuerpo de agua una sola red para evitar la contaminación entre diferentes cuerpos de agua.

3.2.3.2 Muestreo rotíferos

Este grupo, en general, tiene un tamaño corporal menor que los microcrustáceos, y oscila entre 30 y 300 μm (en ocasiones puede superar los 300 μm). Su abundancia oscila entre 10-1000 ind/L en ambientes oligotróficos y puede alcanzar varios miles de individuos/L en ambientes eutróficos. La distribución vertical de rotíferos generalmente está restringida al epilimnion de los lagos. Su tiempo generacional es rápido, en condiciones óptimas se duplican cada 6 días.

Muestreo cualitativo de rotíferos: Para un muestreo cualitativo de rotíferos se arrastra una red de zooplancton con una malla fina (30 – 50 μm) en la profundidad donde se supone encontrar este grupo, generalmente en el epilimnion en lagos.

Muestreo cuantitativo de rotíferos: Un muestreo cuantitativo de rotíferos **siempre** consiste en filtrar un volumen conocido de agua, tomado con una botella de agua, una trampa Schindler- Patalas o un tubo plástico en una o más profundidades. Si se quiere caracterizar la comunidad de rotíferos en la columna de agua, las muestras deberían ser tomadas al menos en el epilimnion, a diferentes intervalos y unificadas en una sola muestra para finalmente ser filtrada y fijada. La filtración se puede realizar con un cilindro plástico (altura: 10 cm, diámetro 8-15 cm) con una malla de máximo 50 μm .

En ambientes oligotróficos el volumen a filtrar debe ser por lo menos de 10 L en total (idealmente 20 L). En ambientes eutróficos un volumen de 1 L es suficiente.

3.2.3.3 Muestreo *Stentor* (*ciliado grande, mixotrófico*)

El muestreo cuantitativo de los ciliados mixotróficos grandes del género *Stentor* consiste en filtrar un volumen conocido de agua (generalmente 1 L o más), tomado con una botella de agua (puede ser la misma que se usa para tomar agua para parámetros químicos, clorofila a o fitoplancton) en diferentes profundidades de agua. Su distribución se encuentra entre la

superficie y mínimo 40 m de profundidad. Si se quiere caracterizar su distribución en la columna de agua, las muestras deberían ser tomadas en diferentes profundidades por lo menos en la zona eufótica (se recomienda mínimo 8-10 profundidades). Tomada la muestra de agua, se filtra lo más rápido posible el volumen conocido sobre filtros con un diámetro no inferior a 40 mm. Se recomienda usar filtros con poros finos (0,5 – 10 μm) y superficies lisas que facilitan el reconocimiento de los organismos. Luego de filtrar el agua, el filtro se deja secar al aire y se guarda (p.e. se puede pegar sobre una hoja de papel y guardar en archivador). Los ciliados se pueden cuantificar en muestras de distintas profundidades o también en muestras integradas de distintas profundidades.

Para un muestreo cualitativo de los ciliados mixotróficos grandes del género *Stentor* se puede también usar una red de fitoplancton con una malla de 10-20 μm realizando arrastres horizontales o verticales. Para la determinación y fijación de *Stentor* es recomendable filtrar la muestra según indicaciones anteriores.

3.2.4 Etiquetado y transporte de muestras

Las etiquetas para muestras de microcrustáceos y rotíferos son en parte distintas, porque deben considerar los diferentes parámetros relacionados con los diferentes métodos de muestreo.

Microcrustáceos: Cada frasco deberá ser etiquetado con los códigos correspondientes a su ficha (ver Anexo 1). La etiqueta debe tener todas las informaciones importantes sobre el lugar del muestreo, incluyendo especificaciones de la red utilizada y el flujómetro. Estas informaciones son vitales y muchas veces producen confusión, porque se usan diferentes redes y flujómetros dependiendo del sistema acuático y de la pregunta del estudio. Un ejemplo de etiqueta a utilizar se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 2 Etiqueta muestra microcrustáceos

Código:	
Fecha y hora:	
Lugar:	
Estación:	
Instrumento:	
Intervalo arrastre:	
Diámetro red:	
Malla red:	
Valor Flujómetro:	
Fijador:	

Rotíferos: Cada frasco deberá ser etiquetado con los códigos correspondientes a su ficha (ver Anexo 1). La etiqueta debe tener por lo menos las informaciones de la siguiente tabla:

Tabla 3 Etiqueta muestra rotíferos

Código:	
Fecha y hora:	
Lugar:	
Estación:	
Profundidad:	
Volumen filtrado (L):	
Fijador:	

Recomendación: Se recomienda utilizar papel resistente al agua y lápiz grafito, o rotulador permanente y papel blanco común. Se recomienda cubrir la etiqueta con papel adhesivo transparente para evitar que se borre el código producto del agua o fijadores. Otra forma recomendable de etiquetar es mediante el uso de papel diamante escrito con simple lápiz grafito, el cual se deposita en el interior de cada frasco.

3.2.5 Datos y/o muestras complementarias al muestreo de zooplancton

La toma de muestras de zooplancton en un sistema acuático debe estar siempre acompañada de la obtención de variables físico y químico *in situ* (variables a medir directamente), a modo de tener el contexto abiótico de la comunidad biótica. Se considera fundamental contar al menos con registros de Temperatura, Conductividad eléctrica, pH, Oxígeno Disuelto y visibilidad (disco Secchi). Además, se debe en lo posible medir factores químicos relacionados con la trofia del sistema tales como nutrientes (amonio, nitrato, nitrito, fósforo soluble), nitrógeno y fósforo total y clorofila a. Generalmente se determina además la abundancia y biomasa de la comunidad fitoplanctónica. Para mayor información acerca de la metodología de factores físicos véase en Anexo 4.

4 Identificación y recuento de zooplancton

4.1 Materiales

Para la identificación y el recuento de los microcrustáceos, rotíferos y ciliados grandes del género *Stentor* se necesitan los materiales de análisis de laboratorio descritos en la siguiente tabla:

Tabla 4: Materiales para el análisis de zooplancton en el laboratorio

Ítem	Materiales
General	Microscopio óptico o invertido de investigación con aumentos de 10 a 1000x
	Lupa binocular con aumentos de 10 a 60 (- 100x)
	Camera de conteo tipo Bogorov
	Cameras de sedimentación Utermöhl con diferentes volúmenes (1-100 mL)
	Camera de conteo tipo Sedgwich-Rafter o similar
	Contadores
	Cubreobjetos para Microscopia (20x20 o 24x50)
	Pipetas tipo Hensen 1- 5 para tomar submuestras
	Divisor tipo Folsom para dividir una muestra en dos
	Agujas de disección, entomología o acupuntura
	Pinza de disección punta roma
	Pinza de disección o "relojero" punta afilada, acodada
	Microtubos Eppendorf, frascos pequeños o similar
	Jeringa desechable con aguja, de 10 ml
Soluciones	Lejía concentrada para disolver materia orgánica
	Aceite de inmersión
	Agua destilada
	Glicerina
	Formalina (37%)
Otros	Ordenador
	Placas de Petri
	Tubo capilar vidrio
	Tubo de goma látex, plástico o silicona
	Probeta vidrio (25 o 50mL)
	Vaso precipitado vidrio (50 o 100mL)

Frasco lavador de plástico (boca fina)
Guantes nitrilo
Papel absorbente
Etiquetas
Rotulador indeleble

4.2 Preparación de la muestra para su recuento

Generalmente las muestras de microcrustáceos y rotíferos contienen cientos de miles de individuos, y por lo tanto se suele contar sólo una parte de ella. Hay dos formas de hacerlo:

- Tomando alícuotas (de volumen conocido) con una pipeta Hensen de la muestra original (Figura 2). Para esto hay que asegurarse de homogeneizar bien la muestra con tal de que la alícuota obtenida presente la misma concentración y proporciones relativas de los organismos.
- Utilizando el aparato de Folsom (Figura 2), en el cual se coloca la muestra diluida hasta un volumen conocido y se agita para que los organismos se distribuyan uniformemente. Se gira el aparato y la muestra queda dividida en dos mitades iguales, el proceso se repite hasta tener la cantidad deseada.

Figura 2 Divisor FOLSOM y pipetas (diferentes volúmenes) HENSEN



Se deben contar tantas fracciones de la muestra como sean necesarias con tal de asegurarse que el error de recuento (C.V, Coeficiente de Variación) no sea superior a un error previamente estipulado. El error de recuento que se acepta generalmente es de hasta un 20%. Para calcular el C.V. se aplica lo siguiente entre las alícuotas:

$$C. V. = (\text{desviación estándar} / \text{promedio}) \times 100$$

Como recomendación general, se deben contar mínimo 100-200 individuos por especie (considerar para esto sólo los organismos más abundantes) para obtener un C.V. < 20%

En caso de que la densidad de organismos no sea muy elevada, se puede contar todo el volumen de la muestra.

4.3 Identificación y recuento de zooplancton

Para el análisis taxonómico de las especies se utilizan guías actualizadas de zooplancton, así como artículos científicos de apoyo (ver en referencias bibliográficas: Identificación taxonómica).

La identificación taxonómica de las especies o *taxa* **debe** respaldarse con fotografías obtenidas por quien analiza las muestras.

En muchos casos para el análisis taxonómico de los individuos es necesaria la disección o extracción de alguna estructura corporal que posea morfología discriminante. Para ello son necesarios pipetas de punta fina, pinzas y agujas de disección para separar el organismo del resto de la muestra, así como portaobjetos y cubreobjetos donde manipularlos y depositarlos para su observación en el microscopio (aumentos de 400x y 1000x).

Durante la manipulación, el ejemplar debe mantenerse siempre en medio líquido, puesto que su deshidratación se acelera rápidamente bajo la luz de la lámpara. Una vez visibles todas las estructuras necesarias, se protege la muestra con un cubreobjetos y se procede a su identificación bajo microscopio. La adición de una gota de glicerina también puede evitar la deshidratación.

Tanto en rotíferos, como en microcrustáceos (cladóceros y copépodos), se intentará clasificar siempre a nivel de especie, e idealmente subespecie o variedad. Es importante destacar que en caso de no estar seguro de la determinación taxonómica de una especie, el individuo se clasificará con el nivel taxonómico del que se tenga total seguridad.

4.3.1 Identificación y recuento de microcrustáceos

La identificación taxonómica de muchas especies requiere de la utilización de microscopía y montajes, para la determinación de caracteres específicos. Si se conocen bien las especies o

los caracteres se distinguen bien con una lupa estereoscópica (utilizando cámaras de Bogorov por ejemplo, Figura 3), el conteo se puede realizar en la lupa con un aumento entre 30x-100x.

Otra posibilidad es contar organismos mediante un microscopio óptico común o un microscopio invertido (es preferible) en cámaras de Sedgewick o Bogorov (o similar). Estas cámaras se montan sobre un portaobjeto (véase productos de la fábrica HYDRO-BIOS, Kiel, Alemania como ejemplo) y se observan en el microscopio usando aumentos entre 40x – 250x. Se debe mantener unos minutos para que todos los organismos decanten al fondo de la cámara por gravedad.

Figura 3 Tipos de cámara de conteo: Sedgewick Rafter (izquierdo) y Bogorov (centro, derecho)



4.3.1.1 Identificación de cladóceros

Los cladóceros se aíslan en un portaobjetos con el fin de observar con detalle su morfología y estructura. La forma del cuerpo generalmente es suficiente para la identificación a nivel de género, para llegar a nivel de especie a veces es necesaria la disección, para separar el postabdomen y otras estructuras como escudo cefálico o toracópodos. A veces, la transparencia de sus valvas permite observar todas las estructuras, tanto externas como internas, solo variando el campo de visión del microscopio y no es necesaria la disección. La identificación se realiza con la ayuda de la guía correspondiente (véase bibliografía). Se recomienda tomar fotos digitales de las estructuras utilizadas para la identificación de especies y hacer preparaciones permanentes de ellas para su revisión posterior.

4.3.1.2 Recuento de cladóceros

De la comunidad de cladóceros se determinará la abundancia de los organismos encontrados, los neonatos, huevos/embriones y epipios que se encuentren. Es posible que con la fijación o transporte de la muestra algunos de los huevos se desprendan, de modo que se

contarán también los que se hallen sueltos en la muestra. Siempre que sea posible se indicará a qué especie pertenecen, y en caso de que no estar seguro se considerarán “huevos de cladóceros” en general.

4.3.1.3 Identificación de copépodos

Los copépodos requieren necesariamente disección para su identificación, puesto que algunos de los caracteres básicos de análisis son la forma de la 5ª ó 6ª pata, el receptáculo seminal de la hembra, los apéndices o estructuras de los pares de patas y las setas terminales. Una vez obtenida la estructura, y el resto de los caracteres útiles, se sigue la guía correspondiente hasta lograr la identificación (véase bibliografía). Se recomienda tomar fotos digitales de las estructuras usadas para la determinación de las especies y hacer preparaciones permanentes de ellas para su revisión posterior.

4.3.1.4 Recuento de copépodos

De la comunidad de copépodos se determinará la abundancia de los organismos encontrados según especie. De acuerdo al estado de desarrollo, los organismos se clasificarán en: nauplio N1-N6, copepodito C1-C5 y adulto. Con el fin de obtener mayor información de la población, también se tomará nota del sexo de los individuos adultos (macho, hembra) y en el caso de los copepoditos se informará del orden al que pertenecen (calanoida, cyclopoida y harpacticoida).

Por último, se tomará nota de la cantidad de hembras ovígeras, y de los sacos de huevos sueltos en la muestra (ya que pueden haberse desprendido durante la fijación o transporte de la muestra), anotando si es posible la especie a la que pertenecen.

4.3.2 Identificación y recuento de rotíferos

Frecuentemente, cuando los caracteres que diferencian los *taxa* son muy pequeños y se requiere realizar el conteo de organismos (como en el caso de los rotíferos), se utilizan cámaras de sedimentación (volumen: 1- 100 ml, Figura 4) para observación de muestras mediante un microscopio invertido. Este microscopio tiene el cuerpo, objetivo y ocular localizados bajo la platina, y el espécimen es iluminado desde arriba. Se enfoca el fondo de la placa o cámara de sedimentación donde los organismos zooplanctónicos han sedimentado. De esta manera se puede usar aumentos hasta 1000x.

Figura 4 Cámaras de Utermöhl



El tiempo a esperar dependerá del volumen de la cámara, por ejemplo, en cámaras Utermöhl de mayor altura (> 5 cm) se debe esperar por lo menos 30-60 minutos. En general, para el zooplancton, el tiempo de sedimentación de la muestra varía entre 1 a 4 horas. Si la muestra no está muy concentrada, es preferible utilizar las cámaras Utermöhl 10mL - 100 mL con el cilindro de sedimentación fijo o móvil a la base.

El recuento se realiza por barrido completo de toda la superficie de sedimentación, con aumentos entre 40x y 200x, dependiendo de las *taxa* presente y de la experiencia de la persona que cuenta.

En caso de que se reconozcan correctamente las especies de rotíferos, los organismos se pueden contar mediante un microscopio óptico en cámaras de Bogorov (o similar) montadas sobre un portaobjeto.

4.3.2.1 Identificación de rotíferos

En general, para los rotíferos la morfología general no es suficiente para la identificación taxonómica, y se requiere digestión de su lóriga o capa exterior con el fin de obtener su mástax (aparato masticador), carácter básico de análisis para la especie. La faringe de los rotíferos presenta piezas duras y articuladas conocidas como trophi (que actúan a modo de dientes), y forman en conjunto el mástax (que actúa como el aparato masticador). Los trophi (y mástax) son muy variables, y dependen principalmente del régimen alimentario de cada especie, por ello es un buen identificador taxonómico. Este mástax se aísla añadiendo una gota de lejía sobre el organismo, que disuelve la materia orgánica de la lóriga. Una vez aislado el mástax se identifica la especie con la guía correspondiente (véase bibliografía). Se recomienda tomar fotos digitales de

las estructuras utilizadas para la determinación de las especies y hacer preparaciones permanentes de ellas para su revisión posterior.

4.3.2.2 Recuento de rotíferos

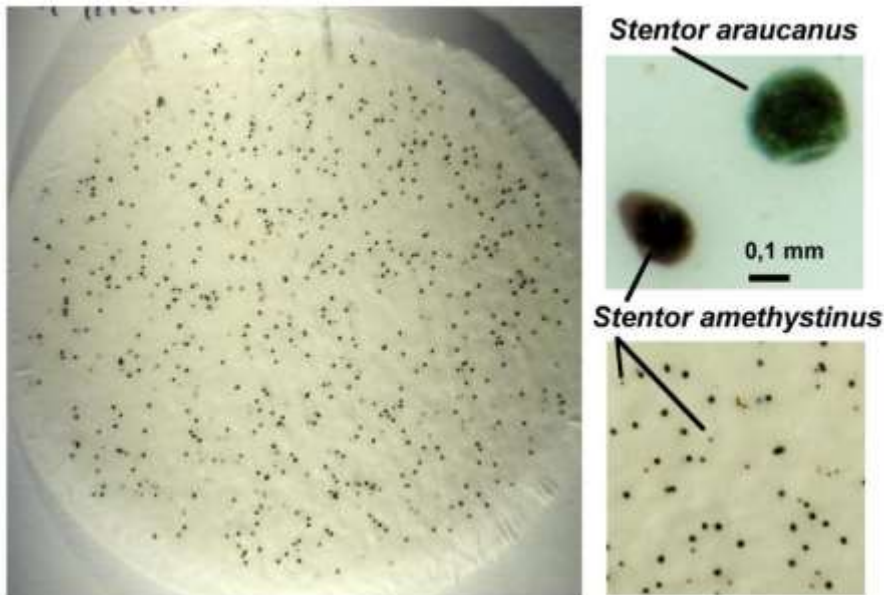
De la comunidad de rotíferos se analizarán, la abundancia de los organismos encontrados y el número de huevos de rotíferos presentes. Es posible que con la fijación o transporte de la muestra algunos de los huevos se desprendan, por lo tanto, se contarán también los que se hallen sueltos en la muestra. Siempre que sea posible se indicará a qué especie de rotífero pertenecen. En caso de no estar seguro de la procedencia de los huevos se considerarán “huevos de rotíferos” en general.

4.3.3 Identificación y recuento de ciliados grandes (*Stentor*)

Los ciliados mixotróficos grandes (~ 200-300 µm) del género *Stentor* se pueden reconocer bastante fácil sobre filtros (Figura 5). Se pueden detectar puntos oscuros (azul-verde hasta marrón-café) – muchas veces correspondiente al ciliado *Stentor* - a simple ojo o bajo lupa simple (aumento 6-10x). Para determinar la especie, se debe usar una lupa binocular con aumento 10-100x (Figura 5). Se debe tener precaución, ya que los ciliados se pueden confundir con otros organismos con color, por ejemplo, ciertos tipos de algas.

Stentor se cuantifica con lupa binocular usando aumentos de 10-100x. Además del conteo de los ciliados, **siempre** se debe tomar una foto con una cámara digital de buena resolución (> 10 Megapixel) para tener un registro digital (que también sirve muchas veces para la cuantificación de

Maihue: 14.12.11, 5 m, 1 L filtrado



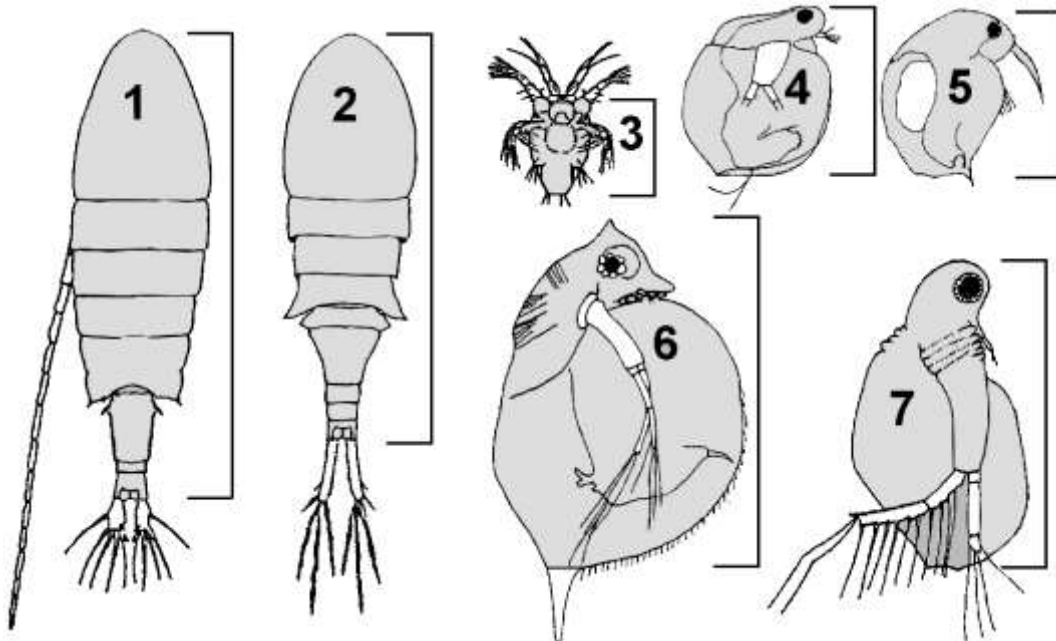
los ciliados después en la pantalla de un computador) (Figura 5).

Figura 5 Filtro de fibra de vidrio (diámetro 47 mm) con *Stentor* (Lago Maihue)

4.4 Determinación de biomasa

Junto con la abundancia un parámetro importante a determinar es la biomasa (peso húmedo, peso seco) de las especies/géneros, principalmente porque el tamaño de los organismos que componen el zooplankton es muy variado. Un método sencillo es tomar las medidas corporales (longitud) de varios organismos de la misma especie (idealmente > 50 por parámetro cuantificado) (Figura 6) y con la ayuda de bibliografía (p.e. Dumont y Col., 1975; Bottrell y Col., 1976) aplicar fórmulas que transforman estas medidas en biomasa ($\mu\text{m}^3 \text{ind}^{-1}$) o peso seco ($\text{mg peso seco ind}^{-1}$).

Figura 6 Mediciones corporales (longitud) para diferentes especies de cladóceras y copépodos (1 copépodo calanoideo, 2 copépodo ciclopoideo, 3 Nauplia, 4 *Ceriodaphnia*, 5 *Bosmina*, 6 *Daphnia*, 7 *Diaphanosoma*)



En el caso de rotíferos además de la longitud corporal también se puede medir el ancho y el diámetro del organismo.

En el caso de *Stentor* se puede asumir un peso individual de 0,5 μg (peso seco) según Woelfl 2007.

4.5 Mantención muestras

Para cada sitio de muestreo, la institución responsable de la identificación taxonómica deberá guardarse una fracción de muestra que servirá para validar esta identificación en caso de posteriores dudas. Las muestras deben ser preservadas con soluciones de mantención, en frascos bien sellados y ser etiquetadas y revisadas periódicamente para evitar que se sequen.

4.6 Entrenamiento taxonómico

El laboratorio y el personal que examine las muestras deben tener experiencia acreditable en identificación de zooplancton y contar con todo el material necesario para dichos fines. Un especialista en taxonomía de zooplancton debe tener un entrenamiento taxonómico de al menos un año en una institución dedicada a esto (centros de investigación, universidades, etc.).

4.7 Análisis de datos

Dado que en Chile no existe literatura suficiente que valide la utilización de un índice biótico para zooplancton, en esta primera etapa se analizarán los datos a nivel comunitario, a través del cálculo de Riqueza (S), Abundancia (N), diversidad de Shannon (H) y Equidad (J). Se contrastarán estos valores con los datos de calidad del agua. Se recomienda realizar un análisis cualitativo de la variación de las abundancias relativas de las especies más conspicuas.

Se recomienda la utilización de análisis multivariados para la comunidad de zooplancton, la física-química del agua; así como también las relaciones entre éstas. Se sugiere la utilización de análisis no paramétricos, debido al bajo número de réplicas que se obtienen.

La interpretación de la comunidad de zooplancton debe ser coherente con los patrones de cambios físico-químico detectados en los ambientes.

6 GLOSARIO

Biota: conjunto de seres vivos en un área determinada

Cuenca: territorio cuyas aguas fluyen todas a un mismo río, lago o mar

Estado trófico: relación entre la concentración y estado de los nutrientes en un sistema, y el crecimiento de la materia orgánica (productores primarias) del mismo.

Potamón: sección del río con muy baja pendiente y corriente lenta

Punto (o estación) de muestreo: el lugar exacto y georreferenciado donde se toman las muestras

Sistema lacustre: sistema dulceacuícola relativo a los lagos o relativo a ellos (e.g. lagunas, embalses)

Sistema límnic: sistema dulceacuícola relativo a la Limnología, que es la rama de la ecología que estudia los ecosistemas acuáticos continentales (lagos, lagunas, ríos, chacras, marismas y estuarios).

Sitio de muestreo: es el lugar (o tramo) a considerar para seleccionar el punto de muestreo.

Zona eufótica: profundidad en la que la intensidad de la radiación solar (luz visible: 400-700 nm) queda reducida a un 1% de la que ha penetrado la superficie. Es el límite por debajo del cual no queda lugar para la fotosíntesis.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6.1 Referencias generales

- APHA. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 10000. Biological examination. 10200.
- Andreu, E. & A. Camacho. 2002. Recomendaciones para la toma de muestras de agua, biota y sedimentos en humedales Ramsar. Ministerio de Medio Ambiente. Madrid, Spain. 226 pp.
- Bottrell, H.H., Duncan, A., Gliwicz, M.Z., Grygierek, E., Herzig, A., Hillbricht-Ilkowska, A., Kurasawe, H., Larsson, P., Weglenska, T. 1976. A review of some problems in zooplankton production studies. *Norw.J.Zool.* 24:419-456.
- Díaz C, Molina, X., Montecino, V. 2012. Manual para el monitoreo e identificación de la microalga bentónica *Didymosphenia geminata*. POCH-Universidad de Chile. 74 pp.
- Dumont, H., Van de Velde I., Dumont S. 1976. The dry weight estimate biomass in a selection of Cladocera, Copepoda and Rotifera from Plankton, Periphyton and Benthos of continental waters. *Oecologia (Berlin)* 19:75-97.
- Foissner, W. 2006. Biogeography and Dispersal of Micro-organisms: A Review Emphasizing Protists. *Acta Protozool.* 45: 111 – 136.
- Hany, J.F., Hall, D.J. 1973. Sugar-coated *Daphnia*: A preservation technique for Cladocera. *Limnol. Oceanogr.* 18:331-333.
- Jeppesen, E., Nöges, P., Davidson, T.A., Haberman, J., Nöges, T., Blank, K., Lauridsen, T.L., Sondergaard, M., Sayer, C., Laugaste, R., Johansson, L.S., Bjerring, R., Amsinck, S.L. 2011. Zooplankton as indicators in lakes: a scientific-based plea for including zooplankton in the ecological quality assessment of lakes according to the European Water Framework Directive (WFD). *Hydrobiologia* 676:279-297.
- Lampert, W., Sommer, U. 2007. *Limnoecology*. Oxford University Press. 324 pp.
- Menu-Marque, S. & M.C. Marinone. 2006. El zooplancton de seis lagos del Chubut (Argentina) y sus probables relaciones con la ictiofauna y algunos factores ambientales. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, Buenos Aires, Argentina. 24 pp.
- Menu-Marque, S., Zúñiga, L.R. 1994. *Boeckella diamantina* n.sp. (Calanoida, Centropagidae), from a high Andean lake in Mendoza, Argentina. *Hydrobiologia.* 292/293: 81-87.
- Ordóñez, J., Armengol, J., Moreno Ostos, E., Caputo, L., Marcé, R. 2010 "On non Eltonian methods of hunting Cladocera, or Impacts of the introduction of planktivorous fishes on zooplankton composition and clear water phase occurrence in a Mediterranean reservoir". *Hydrobiologia*, 653(1): 119- 129.
- Wetzel & Likens, 2000. *Limnological Analyses*. Springer-Verlag, New York. 429 pp.
- Wetzel, R.G. 2001. *Limnology*. Third Edition. Saunders College Publishing. 1006 pp

6.2 Trabajos que incluyen información sobre zooplancton en Chile (selección)

- Campos, H. 1984. Limnological study of Araucanian lakes (Chile). Verh. Internat. Verein. Limnol. 22: 1319-1327.
- Campos, H., Steffen, W., Parra, O., Domínguez, P., Agüero, G. 1987a. Estudios limnológicos en el lago Caburga (Chile). Gayana, Bot. 44 (1-4): 61-84.
- Campos, H., Steffen, W., Agüero, G., Parra, O., Zúñiga, L. 1987b. Limnology of Lake Riñihue. Limnologica 18(2): 339-357.
- Campos, H., Steffen, W., Agüero, G., Parra, O., Zúñiga, L. 1988. Limnological study of Lake Llanquihue (Chile): Morphometry, physics, chemistry, plankton and primary productivity. Arch. Hydrobiol./Suppl. 81 (1): 37-67.
- Campos, H., Steffen, W., Agüero, G., Parra, O., Zúñiga, L. 1990. Limnological study of Lake Todos Los Santos (Chile): Morphometry, physics, chemistry, plankton and primary productivity. Arch. Hydrobiol. 117 (4): 453-484.
- Campos, H., Steffen, W., Agüero, G., Parra, O., Zúñiga, L. 1992a. Limnological studies of Lake Rupanco (Chile). Morphometry, physics, chemistry, plankton and primary productivity. Arch. Hydrobiol./Suppl. 90. (1): 85-113.
- Campos, H., Steffen, W., Roman, C., Zúñiga, L., Agüero, G. 1992b. Limnological studies in Lake Villarrica. Morphometric, physical, chemical, planktonical factors and primary productivity. Arch. Hydrobiol./Suppl. 65 (4): 371-406.
- Campos, H., Steffen, W., Agüero, G., Parra, O., Zúñiga, L. 1992c. Limnology of Lake Ranco (Chile). Limnologica 22 (4): 337-353.
- De los Ríos, P. 2003. Efectos de las disponibilidades de recursos energéticos, estructurales y de protección sobre la distribución y abundancia de copépodos y cladóceros zooplanctónicos lacustres chilenos– Tesis de doctorado presentada a la Facultad de Ciencias para optar al grado de Doctor en Ciencias. Universidad Austral de Chile. 103 pp.
- De los Ríos, P., Crespo, J.E. 2004. Salinity effects on the abundance of *Boeckella poopoensis* (Copepoda, Calanoida) in saline ponds in the Atacama desert, northern Chile. Crustaceana 77 (4): 417-423.
- De los Ríos, P. 2007. A null model por explain crustacean zooplankton species associations in central and south patagonian inland waters. Anales Instituto Patagonia (Chile).36(1):25-33.
- De los Ríos, P., Rogers, D.C., Rivera, N. 2008. *Branchinecta gaini* Daday, 1910 (Branchiopoda, Anostraca) as a bioindicator of oligotrophic and low conductivity shallow ponds in southern Chilean Patagonia. Crustaceana,81(9): 1025 – 1034.
- De los Ríos, P. 2010. Crustacean zooplankton communities in Chilean Inland Waters. Crustaceana Monographs 12: 1-109.
- Korínek, W., Villalobos, L. 2003. Two South American endemic species of Daphnia from high Andean lakes. Hydrobiologia 490: 107-123.
- Menu-Marque, S., Morrone, J.J., Locascio de Mitrovich, C. 2000. Distributional patterns of the south American species of *Boeckella* (Copepoda, Centropagidae): a track analysis. Journal of Crustacean Biology 20: 262-272.
- Montecino, V., Oyanadel, J.P., VILA, I., Zúñiga, L. 2011. Limnetic zooplankton of chilean lakes and reservoirs: a tribute to Berbard Dussart. Studies on Freshwater Copepoda: 355-369.
- Ramos R., Trapp, C., Flores, F., Brignardello, A., Siebeck, O., Zúñiga, L. 1998. Temporal succession of planktonic crustaceans in a small eutrophic temperate lake (El Plateado, Valparaíso,

- Chile). Verhandlungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie 26: 1997-2000.
- Ruiz, R., Bahamonde, N. 1989. Cladóceros y copépodos límnicos en Chile y su distribución geográfica. Lista sistemática. Publicación ocasional Museo Nacional de Historia Natural, Santiago, Chile 45: 1-48.
- Ruiz, R., Bahamonde, N. 2003. Distribución estacional de cladóceros y copépodos en el Lago Rapel, Chile Central. Publicación ocasional. Museo Nacional de Historia Natural 58: 5-58.
- Soto, D., Zúñiga, L. 1991. Zooplankton assemblages of Chilean temperate lakes: a comparison with North American counterparts. Revista Chilena de Historia Natural 64:569-581.
- Schmid-Araya, J. 1991. Distributional aspects of Rotifera in Central and South Chile. Arch.Hydrobiol. 120 (4): 481-493.
- Schmid-Araya, J. 1993. Rotifer communities from some Araucanian lakes of southern Chile. Hydrobiologia. 255/256: 397-409.
- Villalobos, L., Parra, O., Grandjean, M., Jaque, E., Woelfl S., Campos, H. 2003. A study of the river basins and limnology of five humic lakes on Chiloé Island. Revista Chilena de Historia Natural. 76: 563-590.
- Villalobos, L. 2006. Estado de conocimiento de los crustáceos zooplanctónicos dulceacuícolas de Chile. Gayana (Concepcion) 70(1): 31-39.
- Woelfl, S., Geller, W. 2002. Chlorella-bearing ciliates dominate in an oligotrophic north patagonian lake (Lake Pirehueico, Chile): Abundance, Biomass and symbiotic photosynthesis. Freshwater Biology 47(2): 231-242.
- Woelfl, S. 2006. Notas sobre protozoos ciliados de Chile. Gayana 70(1): 24-26.
- Woelfl, S. 2007. The distribution of large mixotrophic ciliates (*Stentor*) in deep North Patagonian lakes (Chile): First results. Limnologica 37: 28-36.
- Woelfl, S., García, P., Duarte, C. 2010. Chlorella-bearing ciliates (*Stentor*, *Ophrydium*) dominate in an oligotrophic, deep North Patagonian lake (Lake Caburgua, Chile). Limnologica. 40: 134-139.
- Thomasson, K. 1955a. Studies on South American Fresh-Water plankton. 3. Plankton from Tierra del Fuego and Valdivia. Universitas Tartuensis. Lund 19: 193-225.
- Thomasson, K. 1955b. Studies on South American Fresh-Water plankton. 1. notes on the plankton from Tierra del Fuego and Valdivia. Universitas Tartuensis. Lund Universitas Tartuensis. Lund 19: 52-64.
- Thomasson, K. 1963. Araucanian Lakes. Plankton studies in North Patagonia with notes on terrestrial vegetation. Acta Phytogeographica Suecica 47: 1- 141.
- Villalobos, L., Zúñiga, L. 1991. Latitudinal gradient and morphological variability of copepods in Chile: *Boeckella gracilipes* Daday. Verhandlungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie 24: 2834-2838.
- Villalobos, L. 1994a. Distribution of *Daphnia* in high mountain and temperate lakes of South America. Verhandlungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie 25: 2400-2404.
- Villalobos, L. 1994b. Zooplankton of andine temperature lakes in South-America with special emphasis on the *Daphnia* species: taxonomy, geographical distribution, ecology, and functional morphology of the filtering apparatus. Ph. D. Thesis. Univ. Konstanz, Germany, 197 pp.

- Villalobos, L., Geller, W. 1997. Setular bosses: Report of a new ultrafine structure on the filter appendages of Daphnia. *Archiv für Hydrobiologie* 140: 565-575.
- Villalobos L. 2002. Comparison of the filtration structures in South American Daphnia. *Archiv für Hydrobiologie* 154: 647-663.
- Villalobos, L., Parra, O., Grandjean, M., Jaque, E., Woelfl, S., Campos, H. 2003. River basin and limnological study in five humic lakes of the Chiloé Island. *Revista Chilena de Historia Natural* 76: 10-15.
- Woelfl, S. 2006. Notas sobre protozoos ciliados de Chile. *Gayana* 70(1): 24-26.
- Zúñiga, L. 1975. Sobre *Diaptomus diabolicus* Brehm (Crustacea, Copepoda, Calanoida). *Noticiario Mensual del Museo Nacional de Historia Natural* 19 (228) :3-9.

6.3 Informes técnicos para la identificación de zooplancton (selección)

Branchiopoda (Anostracoda, Cladocera)

Alonso, M. 1996. Crustacea, Branchiopoda. Fauna Ibérica, vol 57. Eds.: Ramos M.A. Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, Madrid.

Araya, J.M., Zúñiga, L. 1985. Manual taxonómico del zooplancton lacustre de Chile. Boletín Informativo Limnológico, Chile 8 :1-110.

Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the continental waters of the world (Guías De Zooplancton):- Cladocera: The genus *Daphnia* (including *Daphniopsis*). Vol. 21. John AH Benzie. 368 pages, 234 plates. Backhuys

Rogers, C., De los Ríos, P., Zúñiga, O. 2008. Fairy shrimp (Branchiopoda) of Chile. Journ. Crust. Biol., 28: 543-550.

Copépodos

Araya, J.M., Zúñiga, L. 1985. Manual taxonómico del zooplancton lacustre de Chile. Boletín Informativo Limnológico, Chile 8 :1-110.

Bayly, I. 1992. Fusion of the genera *Boeckella* and *Pseudoboeckella* (Copepoda) and revision of their species from South America and sub-Antarctic island. Revista Chilena de Historia Natural 65: 17-63.

Bayly, I. 1992. The non-marine centropagidae (Copepoda: Calanoida) of the world. The Hague, The Netherlands: The Hague: SPB Academic publishing III (Guides to identification of macroinvertebrates of continental waters of the world) 1-30 pp.

Berríos, V. & W.Sielfeld. 2000. Superclase Crustacea. Guía de identificación y Biodiversidad Fauna Chilena. Apuntes de Zoología, Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile. 32 pp.

Dussart, B.H. 1967. Les copépodes des eaux continentales d'Europe occidentale. Tome I: Calanoïdes et Harpacticoïdes. 500 pp. N. Boubée & Cie. Eds. Paris.

Dussart, B. H. 1969. Les copépodes des eaux continentales d'Europe occidentale. Tome II: Cyclopoïdes et Biologie. 292 pp. N. Boubée & Cie. Eds. Paris.

Dussart, B.H. 1979. Algunos copépodos de América del Sur. Publicación Ocasional Museo Nacional de Historia Natural 30: 1-13.

Einsle, U. 1993. Crustacea, Copepoda, Calanoida und Cyclopoida. In Schwoerbel, J. & P.Zwick (eds.) Süßwasserfauna von Mitteleuropa. Vol. 8/4-1. Gustav Fischer Verlag; Stuttgart, Jena, New York: 2009 pp.

Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the continental waters of the world (Guías de zooplancton)

- Copepoda: Cyclopoida: Genera *Cyclops*, *Megacyclops*, *Acanthocyclops*. Vol. 10. Ulrich Einsle. 82 pages, b/w illus. SPB Academic Publishing

- Copepoda: Cyclopoida. Genera Mesocyclops and Thermocyclops. Vol. 20. Edited by Hiroshi Ueda and Janet W Reid. 318 pages, 1305 figs. Backhuys
 - Copepoda: Calanoida: Diaptomidae: Paradiaptominae. Vol. 15. Nancy A Rayner. 122 pages, line illus. Backhuys
 - Copepoda: Cyclopoida. Genera Paracyclops, Ochridacyclops and Key to the Eucyclopinae. Vol. 14. Süphan Karaytug. 224 pages, line drawings. Backhuys
 - Copepoda: Calanoida: Diaptomidae: Key to the genera Heliodiaptomus, Allo-diaptomus, Neodiaptomus, Phylloidiaptomus, Eodiaptomus, Arctodiaptomus and Sinodiaptomus. Vol. 5. YR Reddy. 221 pages, b/w illus, 1 plate. SPB Academic Publishing.
- Pilati, A., Menu-Marque S.A.. 2002. Morphological comparison of *Mesocyclops araucanus* Campos et al., and *M. longisetus* Thiebaud, 1912, and first description of their males. *Beaufortia* 52: 45-52.
- Reid, J., 1985. Chave de identificação e lista de referencias para as species continentais sudamericanas de vida livre da ordem Cyclopoida (Crustacea, Copepoda). *Bolm. Zool. Univ. de São Paulo*, 9: 17-143.

Rotifera

- Araya, J.M., Zúñiga, L. 1985. Manual taxonómico del zooplancton lacustre de Chile. *Boletín Informativo Limnológico*, Chile 8 :1-110.
- De Manuel, J. 1997. Rotifers dels embassaments espanyols peninsulars: ecologia i aspectes systematic i zooogeografics. Tesis Doctoral. Universitat de Barcelona.
- Guides to the identification of the Microinvertebrates of the continental waters of the world (Guías de zooplancton):
- Rotifera, Part 2: The Lecanidae (Monogononta). Vol. 6. H Segers. 226 pages, b/w plates, illus. SPB Academic Publishing
 - Rotifera, Part 3: The Notommatidae and the Scaridiidae. Vol. 8. T Nogrady, R Pourriot and H Segers. 248 pages, 311 figures. SPB Academic Publishing
 - Rotifera, Volume 4: The Proalidae (Monogonota). Vol. 9. WH De Smet. 102 pages, 336 figures, 13 plates. SPB Academic Publishing
 - Rotifera, Volume 5: The Dicranophoridae (Monogonota) and The Ituridae (Monogonota). Vol. 12. W De Smet and R Pourriot. 344 pages, figs, b/w plates. SPB Academic Publishing
 - Rotifera Volume 6: Asplanchnidae, Gastropodidae, Lindiidae, Microcodidae, Synchaetidae, Trochosphaeridae and Filinia: Synchaetidae, Trochosphaeridae and Filinia. Vol. 18. Edited by T Nogrady and H Segers. 264 pages, 791 Figs. Backhuys
- Koste, W. 1978. Rotatoria. Die Rädertiere Mitteleuropas. Ein Bestimmungswerk, begründet von Max Voigt, vol. 1, 2. Überordnung Monogononta (Germany). 907 p.

Ciliados (*Stentor*)

Foissner, W., Berger, H. 1996. A user-friendly guide to the ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. *Freshwater Biology* 35, 375-482.

Foissner W., Wölfl S. (1994) Revision of the genus *Stentor* Oken (Protozoa, Ciliophora) and description of *S. araucanus* nov. spec. from South American lakes. *J. Plankton Res.*16: 255-

Otras fuentes bibliográficas de interés

Jaume, D. 1993. Estudio ecológico de las comunidades de crustáceos planctónicos de los embalses españoles. Tesis doctoral. Univ de Barcelona.

Pennak, R. W., 1989. Coelenterata. *Freshwater Invertebrates of the United States: Protozoa to Mollusca*, 3rd edition. John Wiley and Sons, Inc., New York, pp. 110-127.

Anexo 1. Ficha de Campo para descripciones generales ambientes acuáticos

Proyecto:				
Localidad:				
Cuenca/Subcuenca:		Fecha:		
Lago (Río):		Hora	Inicio:	
Estación:			Fin:	
Responsable:		Foto:		
Ubicación (Coordenadas UTM, Datum WGS 84, Huso__):				
Coord. X:		Coord. X:		
Tiempo meteorológico:				
Despejado:	Nublado Parcial:	Nublado:	Neblina:	Otro:
Profundidad (m):	Secchi (m):			
Variables <i>in situ</i>:				
pH (unidades):	Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$):	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$):	Oxígeno disuelto (mg/L):	

Anexo 2. Criterios a utilizar para el llenado de fichas

Tipo Ficha	Ítem/Criterio	Explicación
Ficha General	Proyecto	Indicar el nombre del proyecto
	Localidad	Indicar el sector de muestreo. Si no se conoce el nombre, indicar el sitio poblado más cercano
	Cuenca/Subcuenca	Cuenca en la que está inserto el sitio de muestreo
	Tipo y nombre del sistema	Identificar si es río, lago, laguna, etc., junto con su nombre
	Código general	Cada sitio de muestreo contará con un código predefinido en gabinete, que será único para cada lugar (ej: CH011)
	Código réplicas	Adicionalmente, cada réplica tendrá su propia numeración (CH011-P1; CH011-P2; CH011- P2)
	Responsable	Indicar nombre y apellido del profesional responsable de la toma de muestras
	Fecha	Indicar fecha del muestreo
	Hora	Inicio/Fin
	Foto	Indicar el n° de la foto obtenida
	Coordenadas UTM	Mediante un equipo GPS se obtendrá la ubicación (X, Y) utilizando el sistema de Datum WGS 84. Se deberá identificar el Huso correspondiente.
	Tiempo meteorológico	Despejado
		Nublado Parcial
Nublado		
Neblina		

Tipo Ficha	Ítem/Criterio	Explicación
Ficha sistemas lacustres	Vegetación acuática	Estimación del % de cobertura de plantas acuáticas en el tramo estudiado
	Transparencia	Cualitativa
		Profundidad
	Vegetación acuática	Estimación del % de cobertura de plantas acuáticas en el tramo estudiado
	Transparencia	Cualitativa
		Secchi
	Alteración del hábitat	
Ficha ríos	Velocidad de la corriente	Se realiza una descripción cualitativa de la corriente (muy rápida, rápida, lenta, agua estancada).
	Ancho del cauce (m)	En ríos vadeables se debe medir con una huincha. En ríos no vadeables se realiza una estimación del ancho del río.
	Tipo de cauce	Recto
		Recto con meandros
		Secchi
	Alteración del hábitat	

Anexo 3. Materiales generales para el muestreo de agua

Item	Materiales
Protección personal	Botas o trajes de agua
	Protector solar y gorro
	Chaleco salvavidas
	Guantes de látex
	Celular o teléfono satelital (para sitios sin cobertura)
	Botequín
Equipamiento general	GPS
	Cámara fotográfica digital
	Fichas de campo y portapapeles
	Etiquetas
	Lápiz normal y rotulador permanente
	Bote (para sistemas profundos)
Toma de muestras físicas-químicas	Sondas para muestreo de temperatura, pH, oxígeno disuelto y conductividad
	Disco Secchi y eventualmente Li-COR para medir PAR
	Velocímetro/flujo metro (para cauce)
	Cooler con botellas de muestreo y ice-packs
	Botella para tomar agua (tipo Niskin, Van Dorn, Ruttner, Friedinger o similar)

Anexo 4. Metodología parámetros físico-químico básicos

La siguiente metodología físico-química se basa en el protocolo de Díaz y Col. (2012). Se considera fundamental contar al menos con registros de Temperatura, Conductividad, pH, oxígeno Disuelto. Para ello, en el mercado existen equipos para realizar estas estimaciones, que van desde sondas multiparamétricas a equipos simples. Los electrodos deben estar permanentemente, calibrados y mantenidos con las soluciones de almacenaje respectivas. En la tabla siguiente se especifican las variables a determinar *in situ*.

Variable	Metodología y ejemplo de equipos
pH	Potenciométrico, equipo multiparámetro. Rango de pH: 0,0 - 14,0; Resolución 0,01; Precisión $\pm 0,02$.
Conductividad eléctrica ($\mu\text{S/cm}$)	Potenciométrico, equipo multiparámetro. Rango de CE: 0 – 3.999 $\mu\text{S/cm}$; Resolución 1 $\mu\text{S/cm}$; Precisión $\pm 2\%$ F.S. (<i>en sistemas salinos, considerar rangos mayores, según naturalidad</i>)
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Equipo multiparámetro. Rango de Temperatura 0,0 – 60,0 $^{\circ}\text{C}$; Resolución 0,1 $^{\circ}\text{C}$; Precisión $\pm 0,5\%$ $^{\circ}\text{C}$. (<i>en sistemas termales o muy fríos, considerar rangos mayores, según naturalidad</i>)
Oxígeno disuelto (mg/l)	Equipo oxigenómetro con electrodo Clark y/o sensor óptico. Resolución 0,1 %/0.01 mg/L $^{\circ}\text{C}$; 0,1 $^{\circ}\text{C}$. Precisión $\pm 1,5\%$ F.R.; $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Rango: 0.00 a 300 %; 0.00 a 45 mg/L.
Visibilidad (m)	Disco Secchi, diametro mínimo: \varnothing 20 cm, cuerda marcada mínimo cada 0,5 m

A continuación, se entregan algunas recomendaciones asociadas a los parámetros más importantes.

- pH: preferir equipo de alta precisión con medidor de temperatura y compensación automática, resistente a la contaminación por sales y otras sustancias que toman

contacto con el electrodo. Para su calibración se deben seleccionar buffers de pH 4,01; pH 7,01 y pH 10,01. Anote en la ficha de registro la fecha y hora de calibración.

- Conductividad eléctrica: preferir equipo de alta precisión con medidor de temperatura y compensación automática. Tenga cuidado de usar un equipo con el rango adecuado. Para su correcta calibración usar el manual correspondiente al modelo en uso, que especifica el electrodo para la solución de calibración correspondiente. Anote en la ficha de registro la fecha y hora de calibración.
- Oxígeno disuelto: preferir equipo de alta precisión con medidor de temperatura y compensación automática de altura y salinidad. Calibración automática de temperatura, preferentemente instrumento con sensor óptico (no necesita calibración) o sensor con membrana Clark. Anote en la ficha de registro la fecha y hora de calibración (membrana Clark).

Recomendación: Después de la estimación de los parámetros in situ en cada estación de muestreo, se debe aplicar el procedimiento de remoción y lavado de cada electrodo para su desinfección. Luego de aplicar la solución de desinfección a los electrodos, éstos deben ser lavados con agua destilada y posteriormente mantenido en la solución adecuada, según indique el manual respectivo.