

Manual de Procedimientos para toma de muestras de Macrofauna



Manual de Procedimientos para Toma de Muestras de Macrofauna

Puerto Montt, Chile, 2009



GOBIERNO DE CHILE
SUBSECRETARIA
DE PESCA

InnovaChile
CORFO



Este documento es en apoyo a la metodología del
Reglamento Ambiental para la Acuicultura
(Decreto Supremo N° 320/01)

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
Departamento de Medio Ambiente
División de Investigación en Acuicultura

INNOVA CHILE
PROYECTO: 06CN12IPM-38
Desarrollo de colecciones biológicas de macrobentos,
para incrementar certidumbre en la identificación
taxonómica, en apoyo a los requerimientos del RAMA

Director del Proyecto

Lilian Diaz Galindo

Autores

Lilian Diaz Galindo
Mónica Gonzalez Van De Perre
M^a Soledad Toledo Villalobos

Colaboradores

Sandra Silva Klenner
Denice Meyer Cardenas
Carolina Oyarzo Rösner

Diseño gráfico y producción:

Mathias Rée

© 2009 Instituto de Fomento Pesquero

Índice

Introducción	6
Equipos, instrumentos y materiales de muestreo.....	8
Limpieza y calibración	10
Recolección de muestras	11
Traslado de muestras	12
Identificación de taxones.....	12
Preservación de muestras.....	14
Bibliografía	15

Introducción

6



La normativa de carácter ambiental asociada a las actividades de acuicultura, se establecen en la Ley General de Pesca y Acuicultura (LGPA), donde en su artículo N° 74, establece que “la mantención de la limpieza y equilibrio ecológico de la zona concedida a los titulares de las concesiones y autorizaciones de acuicultura, cuya alteración tenga como causa la actividad acuícola, será de responsabilidad del concesionario, de conformidad con los reglamentos que se dicten”. Además, en su Artículo N° 87, dispone que “se deberá reglamentar las medidas de protección del medio ambiente para que los establecimientos de acuicultura operen en niveles compatibles con las capacidades de los cuerpos de agua lacustres, fluviales y marítimos”, es de esta normativa legal desde donde emana el Reglamento Ambiental Para la Acuicultura – RAMA (D. S. N° 320/01).

Con la entrada en vigencia del Decreto Supremo N° 320 de 2001 del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción, todos los centros de cultivo una vez por año, deben presentar a la autoridad un informe que contiene la Información Ambiental (INFA), definida como “los antecedentes del estado ambiental del centro de cultivo en un momento determinado, basados en la medición de las condiciones del agua, del área de sedimentación y del área circundante a la misma.”

Dentro de los antecedentes a informar se encuentra la determinación de macroinfauna bentónica, variable de gran importancia debido a que actualmente forma parte de todos los programas de monitoreo ambiental de la actividad acuícola a nivel mundial (Noruega, Canadá, Reino Unido, entre otros).

Los contenidos tanto de la CPS, como de la INFA son establecidos por la Resolución de la Subsecretaría de Pesca N° 404/2003, la que “Establece contenidos y metodologías para elaborar la Caracterización Preliminar del Sitio y la Información Ambiental”. En tanto que las

variables a medir en las INFAs son establecidas en la Resolución (Subpesca) N° 3411/2006 “Variables a medir en los informes ambientales”.

El artículo 28 de la Res. 3411/06 señala a la macrofauna bentónica como una de las variables que debe ser informada en la INFA en centros de categoría 2, 3, 6 y 7, donde la identificación debe llegar al nivel taxonómico mas bajo posible. Sin embargo, la identificación taxonómica es un problema, debido a que, para identificar especies es necesaria una alta especialización y en nuestro país existe un bajo número de especialistas trabajando en taxonomía y sistemática, a lo que se suma la ausencia de profesionales jóvenes que permitan prever la continuidad de estos estudios en el futuro.

Para abordar esta problemática, el Departamento de Medio Ambiente perteneciente a la División de Investigación en Acuicultura del Instituto de Fomento Pesquero, con el financiamiento de INNOVA-CORFO llevó a cabo el proyecto “Desarrollo de Colecciones biológicas de macrobentos para incrementar certidumbre en la identificación taxonómica en apoyo a los requerimientos del RAMA”. Entre los resultados esperados se encuentra el presente Manual que tiene por objetivo desarrollar protocolos para coleccionar, preservar e identificar muestras biológicas de macrobentos, basándose en las metodologías señaladas en el RAMA y en las recomendaciones de los mejores taxónomos de nuestro país, como lo son los especialistas de la Universidad de Chile, Universidad Católica de Chile y Universidad Austral de Chile que han participado en este proyecto.



Equipo requerido

8



Para la realización del muestreo, se requieren los siguientes instrumentos y materiales:

- Draga
- Winche
- Cabo o cable
- GPS
- Botellas plásticas de 1 litro con doble tapa.
- Pizeta con agua destilada
- Tamiz 1 mm y tamiz 0.5 mm
- Cooler para el traslado de muestras
- Balde de 10 lt
- Freezpack
- Etanol absoluto (99.5%)
- Planillas de campo
- Plano batimétrico centro de cultivo
- Lupa estereoscópica
- Microscopio
- Balanza analítica





Se pueden utilizar dos tipos de draga:

Draga tipo Van Veen de 0.1 m^2 : consta de dos mandíbulas que se accionan al tocar fondo mediante un mecanismo de palanca.

Draga tipo Petit Ponar o Ponar de 0.1 m^2 : esta draga consta de dos mandíbulas que se accionan desde la superficie mediante un mecanismo de resorte o de palanca. La draga se complementa mediante la instalación de un cable y una polea con trípode que la sostiene o mediante un winche hidráulico, que tiene por función el subir la draga desde la profundidad (máx. 60 m) de colecta de la muestras hasta la superficie.

Winche:

Cilindro o tambores giratorios con un sistema interno que permite multiplicar la fuerza ejercida sobre los cabos para facilitar el levante de la draga a velocidad constante.

GPS:

Los receptores GPS se encuentran disponibles en diferentes tamaños, desde los más pequeños de mano, hasta sistemas grandes y complejos. Normalmente presentan la pantalla en la cual se muestra el status del receptor y la medición real. El equipo debe contar con memoria para guardar puntos de estaciones de muestreo y una precisión de $\pm 5 \text{ m}$ como máximo.



Botellas Plásticas II

Los recipientes deben ser de boca ancha con el fin de no entorpecer la introducción de la macrofauna en los mismos. Deben ser rotulados con: número de estación y número de réplica, lugar de muestreo, fecha, hora, volumen de muestra (porcentaje de llenado de la draga), responsable del muestreo.

Pizeta

Frasco cilíndrico de plástico con pico largo que facilita el lavado de materiales con un flujo suave y dirigido.

Tamiz

Instrumento provisto en la cara inferior por una malla de hilos entrecruzados que permite separar por tamaños los sedimentos y retener los organismos a estudiar.

Cooler

Caja plástica de un cierto volumen, revestida en su interior por un material aislante provisto de un sistema de refrigeración que permite mantener por un período de tiempo las muestras a bajas temperaturas y al mismo tiempo permite transportarlas con mayor seguridad. Se utiliza con bolsas de geles congelados freezpack o icepack para mantener las bajas temperaturas.

Instrumentos para Limpieza y mantención

Los equipos e instrumentos deben contar con un plan de mantenimiento preventivo, así como llevar una bitácora que contenga el registro de calibración, mantenimiento, cambio de partes o accesorios, reemplazo de instrumentos y cualquier problema de fallas o mal funcionamiento. Previo a cada salida a terreno se debe verificar que cada instrumento cumpla con los estándares de calibración del fabricante.

Recipientes de toma de muestras

Lavar bien las botellas de 1 l utilizando detergentes no Fosfatados.

Enjuagar el material con agua bidestilada. Dejar secar.



Lista de requerimientos

Se debe elaborar un listado de equipos, materiales, soluciones de preservación, hojas con planillas de campo, el cual debe ser chequeado antes de iniciada la actividad en terreno.

Recolección de muestras

Se deberá extraer sedimentos de la estación de muestreo determinada previamente con el GPS.

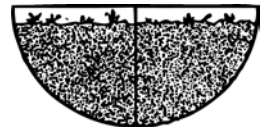
La draga debe descender en forma lenta y continua hasta el fondo, minuto en el cual se accionara la palanca y se cerrarán las mandíbulas de ésta.

Si la draga presenta ventanas superiores estas deben quedar libres con el fin de que estas se abran a medida que la draga descienda procedimiento que permite que el agua pase a través, y no se almacene en esta, permitiendo que baje sin mayor perturbación.

A continuación, la draga debe ser elevada, lentamente, proceso que permite que el agua decante con la menor perdida de finos contenidos en la muestra.

Una vez en la superficie se debe constatar que esta contenga la cantidad de sedimento aceptable (Figura n°1). De lo contrario se debe repetir el procedimiento.

A continuación se debe proceder a vaciar el contenido de la draga sobre el tamiz de 1 mm de abertura, separando la macrofauna del sedimento mediante el tamizado in situ con agua de mar. El procedimiento se debe efectuar sobre un balde o cubeta que colecte el sedimento y agua que caen al tamizar la muestra.



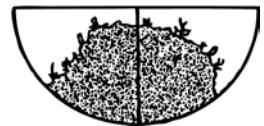
Aceptar si la profundidad mínima de penetración ha sido alcanzado y existe una capa de agua sobre la muestra



Rechazar: muestra lavada, piedra bloquea la draga



Rechazar: muestra parcial, inclinada



Rechazar: muestra lavada

Figura N°1: Tetra Tech, 1987, Recommended protocols for sampling and analyzing subtidal benthic macroinvertebrate assemblages in Puget Sound)

Finalizado el tamizado de debe proceder a eliminar piedras y trozos calcáreos de gran tamaño, se introduce el sedimento en frascos de 1 L mediante una espátula plana. Teniendo en cuenta de llenar $\frac{1}{2}$ frasco con sedimento. Luego, utilizando una brocha pequeña se extrae todo el material que queda en el tamiz y se agrega al frasco, adicionando posterior a este procedimiento el etanol absoluto.



A continuación se debe proceder a vaciar el contenido del balde con el sedimento que fue recolectado al utilizar el tamiz de 1mm, sobre el tamiz de 0,5 mm de abertura, separando la macrofauna del sedimento mediante el tamizado in situ con agua de mar, según método anteriormente descrito.

Los frascos deben ser llenados con etanol hasta el cuello del frasco. Tener presente que, con el fin de cauterizar el no derrame de la solución preservante, la operación se debe efectuar sobre un balde de 10 L.

Debe efectuarse un cambio de etanol a 24 horas de tomada la muestra, se procede a cerrar muy bien los frascos, sellándolos con parafilm y se guardan en un cooler para su envío al laboratorio.

Traslado de muestras

El método a utilizar para el traslado al Laboratorio de análisis e identificación es el mantenimiento a bajas temperaturas. El traslado debe efectuarse en coolers con freez pack para mantener una T° máxima de 4° C asegurando la cadena de frío hasta el laboratorio, en estas condiciones la muestra puede tardar hasta su lugar de destino un máximo de 24 hr.



Identificación de taxones

Una vez llegadas las muestras al laboratorio, estas deben ser registradas y verificadas según planilla de campo.

Bajo la lupa se procede a separar los organismos de la macrofauna de las partículas del detritus y se conservan en frascos de vidrio que contienen alcohol al 99%, este procedimiento se efectúa hasta procesar todas las muestras.



Posteriormente, se procede a identificar los organismos por estación, hasta el nivel de especie, o como mínimo, a nivel de familia. Cada organismo identificado se va depositando y agrupando en pequeños crisoles o envases confeccionados con alusafol, previamente pesados y marcados con el número de la muestra correspondiente. Se debe registrar en planillas la cantidad de individuos identificados para cada especie por estación de muestreo.

Una vez finalizada la identificación de la muestra se procede a pesar el crisol con los organismos en una balanza analítica (con una precisión de ± 0.0001 gramos, registrándose así el peso húmedo de cada especie.

Con los datos obtenidos calcular la abundancia, biomasa por metro cuadrado de cada especie identificada. Según la siguientes relaciones:

$$Biomasa = \frac{Gramos}{m^2}$$

$$Abundancia = \frac{Num. Individuos}{m^2}$$

Índice Shannon - Wiener

donde: n_i es el número de individuos de la especie i en la muestra, N es el número total de individuos en la muestra y p_i es la frecuencia relativa de la especie i .

$$H' = - \sum_{i=1}^n p_i \log_2 p_i$$

$$p_i = \frac{n_i}{N}$$

Índice de Dominancia (J)

$$J = \frac{H'}{H'_{\max}} = \frac{H'}{\log_2 S}$$

$$\text{donde } H'_{\max} = \ln(S)$$

$$E = 1 - J$$



Preservación de muestras

Si se desea preservar ejemplares recolectados en las muestras, primero se debe sumergir el individuo en etanol al 50% para provocarle la muerte. Luego, para preservarlos se pueden fijar en etanol al 70% o etanol al 70% con glicerina 1/10 partes.

A posteriori, se debe cambiar la solución de alcohol 2 o 3 veces con el fin de eliminar el agua que expulsa el cuerpo del individuo desde su interior.

Se pueden mantener colecciones por largo tiempo usando un método líquido o uno seco. El método líquido utiliza como medio preservante formalina al 5%. El método seco consiste en dejar secar los ejemplares, ya sea inmediatamente provocada la muerte después del alcohol al 50%, o después de mantenerlos en formalina al 5% por uno a dos días.

Los individuos que se preservan con el método seco se pueden mantener en cajas de madera con vidrio, o en cajas de vidrio. Los individuos preservados en medio líquidos se deben mantener en frascos plásticos de boca ancha y tapa hermética, evitando completamente la exposición a la luz solar. Cada contenedor, debe estar debidamente rotulado con la taxa, la fecha y la procedencia.



Bibliografía

Environment Canada. 2002. Sediment Sampling Guide for Dredging and Marine Engineering Projects in the St. Lawrence River. Volume 2: Field Operations Manual. Environment Canada, Environmental Protection Branch, Quebec Region, Technological Innovation and Industrial Sectors Section. Report 104 pages.

Ley N° 18.892/1999. Ley General de Pesca y Acuicultura. Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción (Subsecretaría de Pesca).

Reglamento Ambiental para la Acuicultura RAMA D. S. N° 320/01 MINECON,

Resolución N° 404. 2003. Establece contenidos y metodologías para elaborar la caracterización preliminar de sitio y la información ambiental. Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción (Subsecretaría de Pesca).

Resolución N° 3411/2006. Fija las metodologías para elaborar la caracterización preliminar de sitio (CPS) y la información ambiental (INFA). Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción (Subsecretaría de Pesca).





INSTITUTO DE
FOMENTO PESQUERO

Departamento de
Medio Ambiente

División de Investigación
en Acuicultura

Balmaceda 252,
Puerto Montt, Chile

F. (+56-65) 36 76 40
36 76 41
38 35 10

www.ifop.cl



InnovaChile
CORFO



GOBIERNO DE CHILE
SUBSECRETARIA
DE PESCA