

UN MUESTREADOR PERMANENTE DE PERIFITON PARA LA OBTENCION SIMULTANEA DE MUESTRAS CON DIFERENTE TIEMPO DE EXPOSICION.

María Adela CASCO* y Daniel D'AMELIO*

*División Ficología. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de La Plata. Argentina.

Palabras clave: Perifiton. Muestreador múltiple.

SUMMARY

A PERIPHYTON PERMANENT SAMPLER FOR THE SIMULTANEOUS OBTENTION OF SAMPLES WITH DISTINCTS TIMES OF EXPOSITION.

Key words: Periphyton. Multiple sampler.

The purpose of this paper is the description of a new Periphyton sampler that we have designed. It consists on twelve autonomous units each one for five samples in the same apparatus with esmeried glass slides as artificial substrata at vertical position.

We searched that this design has the desirable characteristics of simulation natural substrates, that it is an adequate standard sampler design, and that the samples can be suitable for different objectives. A "F max." statistic test made over chlorophyll "a" and phaeopigments measurements, reject the hypotesis (H1) that there is a component due the sampler design.

We suppose that this design have evident advantages over previous samplers because it is based on the following: 1) quick removal of the desired samples with minimal disturbance of other substrates; 2) comparability of all samples (an same area and substrate); 3) substrate useful for distinct analysis; 4) possibility to obtain simultaneously 60 samples with the same until twelve time expositions.

INTRODUCCION

Bohr (1973) concluye que puede considerarse a la asociación como una unidad básica adecuada para el estudio del perifiton por cumplir los requisiton necesarions para su interpretación: reflejar adecuadamente la naturaleza, ser recurrentes y comparables, y utilizables para varias clases de investigación y fines prácticos. Según la naturaleza del sustrato, de importancia en la presencia y distribución de la biota viviente sobre él, pueden definirse dos tipos de asociaciones algales:

a) el herpobentos: crece en o sobre limo y arcilla. Los organismos pueden moverse fácilmente entre las partículas.

b) el haptobentos (Warming, 1923; en Hutchinson, 1975): crece sobre sustrato sólido, el que puede ser orgánico o inorgánico, vivo o muerto (Wetzel, 1983). El término perifiton usado en sentido amplio (Sládecková, 1962) es sinónimo de haptobentos.

Se ha publicado un gran número de trabajos en los que se acepta al sustrato artificial como representativo de las condiciones naturales (Yount, 1956; Castenholz, 1960; Kevern, Wilhm y Van Dyne, 1960; Sládeck y Sládecková, 1963; Dumont, 1969; Rosemarin y Gelin, 1978; Marcus, 1980; Munteanu y Maly, 1981) a pesar de ser muy discutido su empleo para relevar la producción del perifiton.

En el presente artículo se describe un nuevo muestreador de perifiton que pretende cumplir con el máximo de los requerimientos solicitados para este tipo de artefactos y al mismo tiempo ser totalmente manipulable. Por otra parte, la construcción standard de sustratos artificiales permitiría realizar estimaciones de colonización potencial y comparaciones, por lo que la búsqueda de una optimización en el diseño de muestreadores significa una contribución al estudio de la biota epífita.

Su construcción surge de la necesidad de interpretar la estructura y dinámica del perifiton del embalse Ezequiel Ramos Mexía (provincias de Río Negro y Neuquén, Argentina), un cuerpo de agua de 812 km² de superficie cuyo desarrollo de la línea de costa (3,4) y del área litoral, además de las variaciones del nivel del agua (aproximadamente 4 m) y la variabilidad de sustratos colonizables (12 especies de macrófitas acuáticas sumergidas, vegetación terrestre no removida en el momento de llenado del embalse, sustrato rocoso), hacen difícil un muestreo representativo.

REQUERIMIENTOS Y SOLUCIONES DADAS POR EL MUESTREADOR

Para confeccionarlo se tomaron en cuenta puntualmente cada uno de los requerimientos básicos según el plan de trabajo.

Debía obtenerse en un mismo momento y sitio de muestreo información suficiente para desarrollar en forma comparada diferentes métodos, tales como medición de biomasa por pesadas, determinación de pigmentos fotosintéticos y observación microscópica de la comunidad. Por lo tanto se diseñaron armazones (rayos) independientes entre sí y capaces de portar cinco sustratos cada uno.

Esta información conjunta debía recabarse periódicamente. Con el fin de estimar la producción correspondiente a cada momento del año y su variación debido a los diferentes estadios de la colonización, se consideró la necesidad de quitar en cada toma de muestras sustratos expuestos durante un período corto de tiempo y otros acumulados. Así, de acuerdo con Castenholz (1960) y con las propias posibilidades, se estableció una frecuencia de muestreo de un mes y se construyó al muestreador con 12 rayos ubicados a igual profundidad y con idénticas condiciones con el fin de cumplir con un ciclo anual (Figura N° 1).

Respecto a las características del sustrato en sí, se eligió al vidrio por ser transparente (requisito necesario para evitar sombras y para realizar observaciones directamente sobre su superficie) y por

ser recomendado por diversos autores (Castenholz, 1960; Sládecková y Pieczynska, 1971; Rosemarin y Gelin, 1978). Se utilizaron portaobjetos, y para aumentar la receptividad del vidrio cada uno fué esmerilado. El esmerilado se realizó siempre en la misma dirección (en el sentido del largo del portaobjetos) con el fin de optimizar la limpieza por raspado cuando ésta era necesaria en el laboratorio.

rayo mes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	X (1)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	X (1) X (2)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
3	1	X (1) X (3)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
4	2	1	X (1) X (4)	4	4	4	4	4	4	4	4	4
5	3	2	1	X (1) X (5)	5	5	5	5	5	5	5	5
6	4	3	2	1	X (1) X (6)	6	6	6	6	6	6	6
7	5	4	3	2	1	X (1) X (7)	7	7	7	7	7	7
8	6	5	4	3	2	1	X (1) X (8)	8	8	8	8	8
9	7	6	5	4	3	2	1	X (1) X (9)	9	9	9	9
10	8	7	6	5	4	3	2	1	X (1) X (10)	10	10	10
11	9	8	7	6	5	4	3	2	1	X (1) X (11)	11	11
12	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	X (1) X (12)	12

FIGURA 1: Diseño de muestreo. Se marcan con una X los marcos que son removidos y repuestos inmediatamente. Los números internos del cuadro representan el tiempo de exposición en el agua en meses, y los números entre paréntesis el tiempo de exposición cumplido en el momento de la extracción. Se considera mes cero al de postura del muestreador en el agua.
FIGURE 1: Sampling design. X: frame that was removed and immediately replaced. The numbers represent the exposition time in the water in months. The numbers between parenthesis represent the complete exposition time at the moment of the extraction. The zero month is when the sampler was placed in the water.

Los portaobjetos debían reflejar las condiciones dadas por los sustratos naturales. Por lo tanto, se decidió colocar al sustrato artificial en forma vertical, sostenido por armazones formando rayos de forma tal que ambas caras de cada portaobjetos estén expuestas (ofreciendo así cada portaobjetos una superficie colonizable de 40 cm²).

Las características del armazón también cumplían el requerimiento de que los portaobjetos pudieran extraerse fácilmente y, por no tocarse entre sí, que no se produjeran arrancamientos de material. A su vez, la forma de remoción de los rayos fue un punto crítico en la construcción del muestreador, debido a que era necesario evitar el stress del material que no iba a sacarse. Esto se solucionó removiendo cada rayo y suplantándolo

inmediatamente por otro completo, tarea posible de realizar aún sin quitar al muestreador del agua.

Una condición importante a cumplir era que todo el muestreador simulara el sustrato natural respecto a su comportamiento. Debido a que los cambios de nivel del embalse tienen un rango de aproximadamente 4 metros, era necesario que se mantuviera una distancia constante al fondo, lo cual descartaba el suspender al muestreador directamente de una boya. Así, se utilizó una boya sumergida capaz de sostenerlo formando una vertical respecto al fondo, donde era anclado con un muerto. Desde esa boya se colocó otra en superficie sujeta con una soga cuya extensión era suficiente como para que esta última sea visible aún en los momentos en que el lago tenía su mayor volumen.

El trabajo en el laboratorio corroboró la necesidad de usar el sustrato artificial elegido. Para el examen microscópico debía observarse directamente la muestra con el fin de identificar correctamente a los organismos (evitando arrancamientos, pérdidas de áreas basales de fundamental importancia en algunos grupos), observar su patrón de distribución, efecto de sombra, determinar índices de fijación, etc.

DESCRIPCION

El modelo en conjunto cumple la función de contener 60 portaobjetos. Está formado por un cuerpo fijo y 12 marcos (o rayos) removibles. (Figura Nº 2).

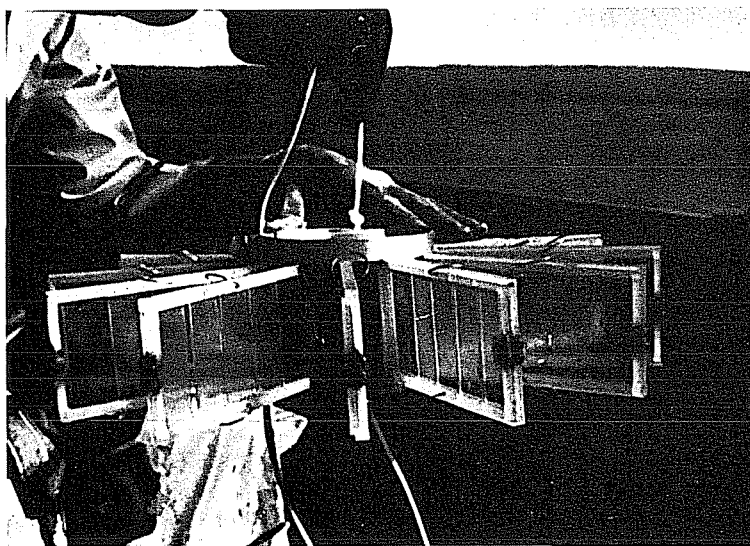


FIGURA 2: Vista general. Se observan un cuerpo fijo central y marcos (o rayos) removibles.
FIGURE 2: General view. Central fixed body and removables frames (or rays).

El cuerpo fijo (Figura N° 3) es un cilindro (1) con 12 perfiles "u" (2) de acero inoxidable, que actúan como guías para los marcos removibles, distribuidos simétricamente sobre la superficie de revolución. Las bases (soldadas al cilindro) tienen practicado un agujero central por el cual pasa otro cilindro (3) que también va soldado a las bases. La base superior (5) posee 12 agujeros (5') distribuidos sobre una circunferencia concéntrica y alineados radialmente con los espacios medios entre guías. La base inferior (6) supera en diámetro al cilindro (1), conteniendo a las guías (2); el borde de esta base termina en un anillo cilíndrico (7) encargado de hacer tope con las pestañas de los marcos (Figura N° 4, 12), junto con la tapa giratoria superior (Figura N° 3, 4).

La tapa móvil (4) (Figura N° 3), gira alrededor del cilindro (3). Su desplazamiento vertical queda impedido por una arandela (8) fija al

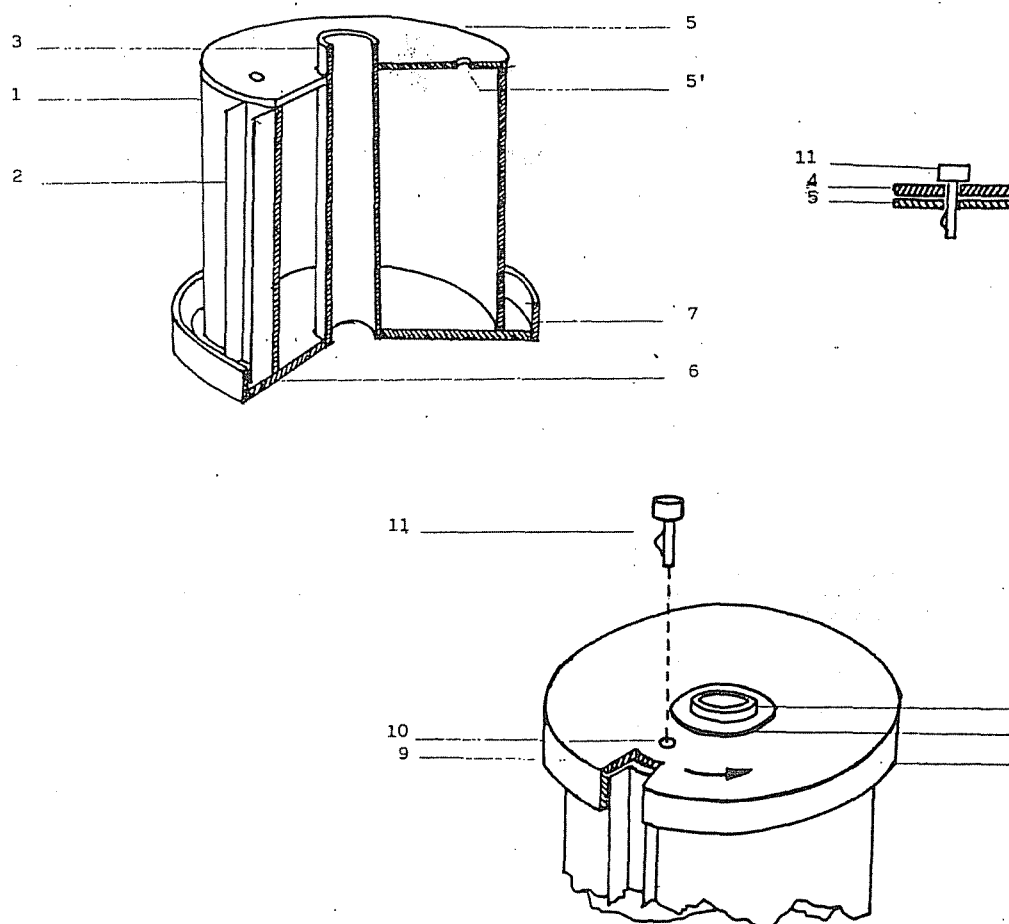


FIGURA 3: Cuerpo fijo sin la tapa superior. Detalles de la tapa superior y del seguro. Referencias en el texto.

FIGURE 3: Fixed body without the upper cover. Detail of the upper cover and the lock. References in the text.

extremo del cilindro (3). Esta tapa, de idéntica forma y dimensión que la base inferior, difiere en que tiene practicados un corte (9) y un agujero (10) alineados radialmente. El agujero está ubicado a igual distancia del centro que los practicados en la base superior del cuerpo fijo, por este agujero pasa el seguro (11).

Los marcos (Figura N° 4) están formados por dos cuadros unidos

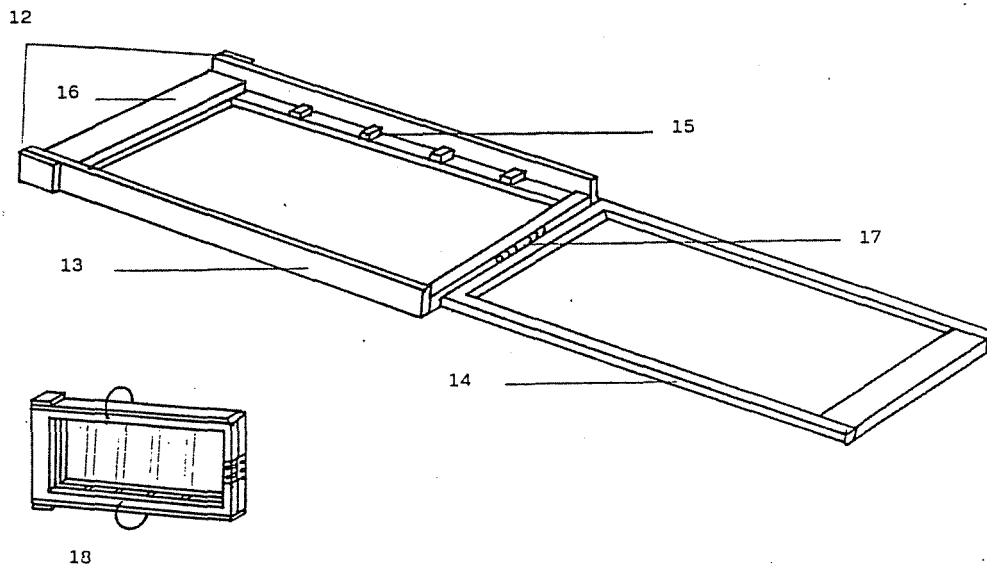


FIGURA 4: Marco abierto en el que se observan los separadores para los portaobjetos en el contenedor, y marco cerrado con dos resortes. Referencias en el texto.

FIGURE 4: Open frame with slides separator in the container and closed frame with two springs. References in the text.

por los lados menores por una bisagra (17). Uno de ellos es el contenedor propiamente dicho (13) para cinco portaobjetos, y el otro hace de tapa (14). El contenedor posee separadores (15) que mantienen separados a los portaobjetos una vez colocada la tapa.

El marco, una vez cerrado, se asegura por uno de los lados menores (16) que queda sujeto por la guía, y por dos resortes a flexión (18) que no permiten que se abran cuando se los remueve del cuerpo.

Materiales: a excepción de las bisagras (nylon-acero inoxidable) y guías (acero inoxidable), todos los demás componentes son de acrílico (cristal). La elección fue tomada para cubrir la necesidad de iluminación pareja (sin sombras) y por su costo. Si bien no se ha realizado matricería, ésta puede emplearse cuando el número de muestreadores a realizar lo justifique.

Operación: la remoción de los marcos se realiza de a uno por vez. Sosteniendo al cuerpo fijo por su base inferior, y luego de retirar el seguro, se hace girar la tapa superior hasta hacer coincidir su abertura (Figura N° 3, 9) con el marco a remover. Para liberar al marco, se lo desliza hacia arriba. Una vez afuera se lo podrá abrir en campo o laboratorio ya que para disponer nuevamente del sistema completo se pueden tener marcos de recambio para intercambiar con el retirado.

PRUEBA DE EFICIENCIA DEL MUESTREADOR

Con el fin de determinar si el diseño del muestreador influye en la colonización de los portaobjetos se realizó una prueba de eficiencia basada en el análisis de pigmentos algales.

Se colocó un muestreador completo en el agua a 1 m de profundidad y se dejó en exposición durante un mes. Luego se analizaron un total de 24 portaobjetos correspondientes a 6 rayos y 4 sitios respecto al núcleo dentro de cada uno. Se analizaron la clorofila a y los feopigmentos mediante la remoción del material, extracción por acetona y lectura en espectrofotómetro. Para los cálculos se siguió a Lorenzen (1967). Los resultados se presentan en las Tablas 1 y 2.

rayos	portaobjetos				S ²	
	1	2	3	4		
1	.263	.442	.423	.305	.007	$\frac{S^2_{\text{máx.}}}{S^2_{\text{mín.}}} = 13,78$ $F_{\text{máx.}} 0,05 6,5 = 18,7$
2	.278	.429	.758	.342	.045	
3	.397	.442	.583	.416	.007	
4	.314	.395	.453	.393	.003	
5	.258	.363	.496	.666	.031	
6	.390	.288	.389	.466	.005	
S ²	.004	.004	.018	.016		
$\frac{S^2_{\text{máx.}}}{S^2_{\text{mín.}}} = 5,1$ $F_{\text{máx.}} 0,05 4,3 = 39,2$						

TABLA 1: Valores de Clorofila a en mg/cm² de 6 marcos y 4 sitios respecto al cuerpo fijo obtenidos luego de 1 mes de exposición a 1 m de profundidad; varianzas obtenidas para cada grupo, S máx./S mín. y valores de F máx. para el nivel de significación del 5 %.

TABLE 1: Chlorophyll a values in mg/cm² of 6 frames and 4 places respect fixed body obtained after 1 month exposition at 1 m profundity; variances for each group, S max./S min. and F max. values for the significance level 5 %.

Con dichos resultados se realizó un sencillo análisis de F máx. (Sokal y Rohlf, 1980). Tanto para los distintos rayos como para los 4 niveles elegidos respecto al núcleo los valores obtenidos en los análisis de clorofila a y feopigmentos resultaron menores que los valores

rayos	portaobjetos				S ²	
	1	2	3	4		
1	.051	.035	.118	.115	.002	$\frac{S^2_{\text{máx.}}}{S^2_{\text{mín.}}} = 10$ $F_{\text{máx.}} 0,05 \ 6,5 = 18,7$
2	.000	.000	.077	.051	.001	
3	.000	.072	.000	.038	.001	
4	.069	.050	.064	.097	.004	
5	.042	.037	.000	.027	.000	
6	.090	.079	.013	.014	.002	
S ²	.001	.001	.002	.002		
$\frac{S^2_{\text{máx.}}}{S^2_{\text{mín.}}} = 3$ $F_{\text{máx.}} 0,05 \ 4,3 = 39,2$						

TABLA 2: Valores de feopigmentos en mg/cm² de 6 marcos y 4 sitios respecto al cuerpo fijo obtenidos luego de 1 mes de exposición a 1 m de profundidad; varianzas obtenidas para cada grupo, S máx./S mín. y valores de F máx. para el nivel de significación del 5 %.

TABLE 2: Pheo-pigments values in mg/cm² of 6 frames and 4 places respect the fixed body obtained after 1 month exposition at 1 m of profundity; variances for each group, S max./Smin. and F max. values for the significance level 5 %.

críticos dados en la tabla de F máx. para el nivel de significación del 5 %. Por lo tanto se concluye que tanto las varianzas de los 6 rayos como las de los 4 niveles de portaobjetos no son significativamente distintas.

CONCLUSIONES Y DISCUSION

Se considera que el muestreador cumple con los requisitos de simulación de sustratos naturales y que es versátil, permitiendo su uso sistemático.

Su operatividad está basada en la rápida remoción de las muestras requeridas y en el mínimo disturbio de aquellas no quitadas; en la posibilidad de comparación de todas las muestras dada por el vidrio esmerilado como tipo de sustrato, por el portaobjetos como área colonizable (de 40 cm²), por su ubicación (disposición radiada de las series a igual profundidad), y por el número de muestras simultáneas. Esta última característica adquiere relevancia por ejemplo cuando desean compararse diferentes formas de estimación de la producción perifítica y debe recolectarse un alto número de muestras.

Permite establecer diferentes combinaciones de extracción de los rayos de acuerdo con el tipo de estudio requerido, mediante la autonomía de cada rayo y la posibilidad de reposición inmediata.

Kevern et al. (1960) concluyen en su trabajo que el uso de sustratos artificiales para muestrear el perifiton en series de tiempo de exposición crecientes es idóneo para medir la tasa de crecimiento instantáneo de la comunidad perifítica bien establecida. Creemos que el diseño de este muestreador permitirá realizar otros avances sobre esta línea de trabajo.

Además, y a pesar de que la prueba realizada fué solamente un análisis de eficiencia, el diseño del muestreador permite la realización de análisis estadísticos cuando se obtienen valores en sucesivos períodos de tiempo, mediante análisis de varianza entre rayos con diferente tiempo de exposición. Esto se considera una ventaja importante sobre los sustratos artificiales fijos.

Se concluye, a través del test estadístico realizado, que no hay diferencias significativas entre los sitios posibles de ubicación de cada sustrato. No se demuestra que haya una componente añadida debido al diseño del muestreador.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a HIDRONOR S.A., a través del convenio HIDRONOR-Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" el apoyo financiero otorgado para la construcción y prueba del muestreador, al personal del Laboratorio de Ecología de la Villa El Chocón su ayuda en el trabajo de campo, y al Dr. Sebastián A. Guarrera su confianza y aval para el desarrollo de estas pruebas.

BIBLIOGRAFIA

- BOHR, R. 1973. Phytosociology of periphyton. Pol. Arch. Hydrobiol., 20, 1 : 185-188.
- CASTENHOLZ, R. W. 1960. Seasonal changes in the attached algae of freshwater and saline lakes in the Lower Grand Coulee, Washington. Limnol. Oceanogr., 5: 1-28.
- DUMONT, H. 1969. A quantitative method for the study of periphyton. Limnol. Oceanogr., 14 (2) : 303-307.
- HUTCHINSON, G. E. 1975. A treatise on Limnology. III. Aquatic macrophytes and attached algae. John Wiley y Sons, Inc., New York. 660 pp.
- KEVERN, N. R. et al. 1960. Use of artificial substrate to estimate the productivity of periphyton. Limnol. Oceanogr. 11 : 499-502.
- LORENZEN, C. J. 1967. Determination of chlorophyll and pheo-pigments. Spectrophotometric equations. Limnol. Oceanogr. 12 : 343-346.
- MARCUS, M. D. 1980. Periphytic community response to chronic nutrient enrichment by a Reservoir discharge. Ecology, 61 (2) : 387-399.
- MUNTEANU, N. y E. J. MALY. 1981. The effect of current on the distribution of diatoms settling on submerged glass slides. Hydrobiologia, 78 : 273-282.
- ROSEMARIN, A. S. y G. GELIN. 1978. Epilithic algal presence and pigment composition on naturally occurring and artificial substrates in lakes Trummen and Fiolen, Sweden. Verh. Int. Verein. Limnol. 20: 808-813.
- SLADECK, V. y A. SLADECKOVA: 1963. Relationship between wet weight and dry weight of the periphyton. Limnol. Oceanogr., 8 : 309-311.
- SLADECKOVA, A. 1962. Limnological investigation methods for the periphyton ("Aufwuchs") community. Botan. Rev., 28 (2) : 287-350.
- SLADECKOVA, A. y E. PIECZYNSKA. 1971. Periphyton. En: Edmonson y Winberg (eds.). A manual on methods for the assessment of secondary productivity in freshwaters. IBP Handbook N° 17. Blackwell Sc. Publ., Oxford. Págs. 109-122.

- SOKAL, R. R. y F. J. ROHLF. 1980. Introducción a la Bioestadística. Ed. Reverté, Barcelona. 362 pp.
- WETZEL, R. G. 1983. Periphyton of Freshwater Ecosystems. Editor. Developments in Hydrobiology 17. J. W. Junk. La Haya. 352 pp.
- YOUNT, J. L. 1956. Factors that control species numbers in Silver Springs, Florida. Limnol. Oceanogr., 1: 286-295.