

# AMBIENTES ACUÁTICOS DE LA PROVINCIA DE SANTA FE

PROTOCOLOS DE MONITOREO
CON PERSPECTIVA
SOCIOECOLÓGICA

Ana M. Gagneten Mercedes R. Marchese



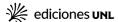
Ana María Gagneten Mercedes R. Marchese

# Ambientes acuáticos de la provincia de Santa Fe

Protocolos de monitoreo con perspectiva socioecológica



#### UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL



Conseio Asesor Colección Diálogos Miguel Irigoyen Ivana Tosti Lucila Reyna Gustavo Martínez Luciana Michlig Yelena Kuttel Patricia Piccolini

Dirección editorial Ivana Tosti Coordinación editorial Ma. Alejandra Sedrán Coordinación diseño Alina Hill Coordinación comercial losé Díaz

Corrección Lucía Bergamasco Diseño de interior y tapa Verónica Rainaudo

© Ediciones UNL, 2022.

Sugerencias y comentarios editorial@unl.edu.ar www.unl.edu.ar/editorial

Ambientes acuáticos de la provincia de Santa Fe: protocolos de monitoreo con perspectiva socioecológica / Victoria Soledad Andrade... [et al.]; compilación de Ana María Gagneten ; Mercedes R. Marchese. - 1a ed. -Santa Fe: Ediciones UNL. 2022. Libro digital, PDF - (Diálogos)

Archivo Digital: descarga y online ISBN 978-987-749-332-0

- 1. Protocolo, 2. Procedimiento Monitorio. 3. Medio Ambiente Acuático. I. Andrade, Victoria Soledad. II. Gagneten, Ana María, comp. III. Marchese, Mercedes, comp. CDD 378.125
- © Victoria Soledad Andrade, María Julieta Arias, Julieta Capeletti, Manuel Del Rey, Melina Devercelli, Florencia Facelli, Ana María Gagneten, Magdalena Licursi, Mercedes R. Marchese, Claudio Passalía, Wanda Polla, Luciana Regaldo, Ulises Reno, Natalí Romero, Miguel Saigo, Virginia Trevignani, Pablo Vaschetto y Florencia Lucila Zilli, 2022.









# Índice

Agradecimientos / 6

Prefacio / 7

Introducción / 9

#### 1. Diseño de muestreo / 18

Florencia Lucila Zilli, Mercedes R. Marchese y Luciana Regaldo

#### 2. Variables ambientales / 30

Ana María Gagneten, Luciana Regaldo, Pablo Vaschetto y Mercedes R. Marchese

## 3. Fitoplancton / 56

Wanda Polla y Melina Devercelli

#### 4. Biofilms / 72

Magdalena Licursi

#### 5. Zooplancton / 92

Ana María Gagneten, Victoria Soledad Andrade, Natali Romero, Luciana Regaldo, Pablo Vaschetto, María Julieta Arias y Ulises Reno

#### 6. Macroinvertebrados acuáticos / 108

Florencia Lucila Zilli, Mercedes R.Marchese, María Julieta Arias, Julieta Capeletti, Florencia Facelli y Miguel Saigo

#### 7. Macrófitas acuáticas / 132

Mercedes R. Marchese y Florencia L. Zilli

#### 8. Ensayos ecotoxicológicos / 145

Ulises Reno, Natali Romero, Luciana Regaldo, Mercedes R. Marchese y Ana María Gagneten

#### 9. Indicadores socioeconómicos / 173

Virginia Trevignani, Claudio Passalía y Manuel Del Rey

Anexo / 190 Referencias bibliográficas / 191 Glosario / 232 Sobre las autoras y los autores / 245

# **Agradecimientos**

Los/as autores agradecen a la Universidad Nacional del Litoral y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas por el apoyo en la realización de sus investigaciones.

# **Prefacio**

El objetivo principal de estos protocolos es dar a conocer herramientas de evaluación y medición que permitirán detectar alteraciones en la calidad de los sistemas socioecológicos ocasionadas por elementos estresantes provenientes de efluentes, lixiviados y descargas originadas de la actividad antrópica en la provincia de Santa Fe y sus potenciales riesgos e impacto sobre la vida social y ambiental (Introducción). Si bien los protocolos fueron desarrollados para los ambientes acuáticos de la provincia de Santa Fe, pueden aplicarse a otros ambientes acuáticos de llanura. Para ello, se describen los puntos a considerar para el diseño de los muestreos y monitoreo de acuerdo con los objetivos del estudio (Capítulo 1), se detallan procedimientos para la medición de variables en campo y la toma de muestras para la determinación en laboratorio de parámetros físicos y químicos que definen la calidad ambiental (Capítulo 2). Se describen metodologías de muestreo de comunidades biológicas y de procesamiento

de las muestras en laboratorio, detallando indicadores bióticos de calidad ambiental basados en diferentes grupos acuáticos, fitoplancton (Capítulo 3), biofilm (Capítulo 4), zooplancton (Capítulo 5), macroinvertebrados acuáticos (Capítulo 6), macrófitas (Capítulo 7) y las especies más representativas del sistema del río Paraná para su uso en ensayos ecotoxicológicos (Capítulo 8). Dada la importancia de evaluar los sistemas acuáticos desde una visión socioecológica se describen y comparan distintas alternativas metodológicas para la incorporación de indicadores socioeconómicos en el monitoreo (Capítulo 9).

Se pretende que la propuesta expresada en estos protocolos resulte de fácil interpretación para un público no especializado, así como útil para los responsables de la gestión ambiental de los recursos hídricos. Además, que constituya una herramienta educativa que favorezca su utilización por la población para valorizar la importancia de conservar la integridad ecológica de los ecosistemas acuáticos.

El documento se desarrolló en el marco del trabajo en un proyecto CAI+D—UNL orientado a Problemas Sociales y Productivos: «Elaboración de un Índice de Sostenibilidad (Indicadores Ecológicos, Económicos y Sociales) de Sistemas Acuáticos de la Provincia de Santa Fe» (UNL)<sup>1</sup> y acreditado como Proyecto de Desarrollo Tecnológico y Social (PDTS—MINCYT).

<sup>1.</sup> Res. CS 632/17(UNL) y Res. 2019-89-APN-SECACT#MECCYT.

Mercedes R. Marchese <sup>1</sup> Florencia Lucila Zilli <sup>1</sup> Magdalena Licursi <sup>1</sup> Ana María Gagneten <sup>2</sup>

# Introducción

Todos los recursos utilizados por la sociedad están inmersos en sistemas socioecológicos (SSE) complejos que se componen de múltiples subsistemas y variables. Los SSE constituyen un entramado de relaciones en torno a recursos que son necesarios para la vida humana, donde interactúan variables sociales y ambientales (Ostrom, 2009), por este motivo, no se trata solamente de un sistema que se estructura en torno a un problema ecológico, sino que considera también sistemas sociales humanos que interactúan en un espacio determinado.

El concepto del SSE ha revolucionado los marcos teóricos de distintas disciplinas científicas y sus campos de estudio, al redefinir la relación ambiente–sociedad, otorgando relevancia a la capacidad para actuar colectivamente. Se incorpora al ser humano ya no como un actor externo a los ecosistemas, que solo los altera mediante presiones exógenas, sino como otro de sus componentes (integral, inseparable y dependiente) que

<sup>1.</sup> Instituto Nacional de Limnología (INALI, CONICET, UNL).

<sup>2.</sup> Facultad de Humanidades y Ciencias, UNL.

interviene internamente en su evolución (Gallopin *et al.*, 1989; Gallopin, 1994; 2001; Maass, 2004; 2012).

A más de dos décadas de su planteamiento, el concepto del SSE ha ganado un consenso creciente en torno a su utilidad, tanto como un marco para la investigación interdisciplinaria para entender las relaciones entre los sistemas sociales y naturales integrados, como un modelo potencial para su gestión y manejo (Collins *et al.*, 2007; Ostrom, 2009; Maass, 2012; Challenger *et al.*, 2014). En este contexto representa una evolución importante en los conceptos subyacentes a las políticas públicas de gestión ambiental, que en los últimos 30 años han pasado de un enfoque de gestión de recursos (por ejemplo, peces, madera), a uno de gestión de ecosistemas (por ejemplo, pesquerías sostenibles, manejo forestal sostenible), para actualmente transitar hacia el enfoque de gestión de sistemas socioecológicos (Maass, 2012; IPBES, 2019).

Se deben fortalecer los aspectos relevantes de SSE para mantener su resiliencia (velocidad con la que se recupera después de una perturbación), manteniendo puentes de colaboración entre las organizaciones que generan conocimiento científico, las organizaciones que toman decisiones y las comunidades afectadas. Por lo tanto, es fundamental proporcionar espacios que favorezcan la participación de las diferentes partes interesadas en los procesos de toma de decisiones, la disponibilidad de información sobre el sistema, y las perturbaciones que se pueden enfrentar, así como también el desarrollo de infraestructuras necesarias para enfrentar diversos escenarios. Esta característica de los sistemas socioecológicos integrados puede hacer que su gestión sea un reto, pero también crea oportunidades para recuperarse o reorganizarse tras una perturbación.

# Programa de monitoreo

El diseño de los programas de monitoreo debe permitir a grandes rasgos conocer el estado de la calidad del agua, identificar la salud de los ecosistemas acuáticos atendiendo a su sostenibilidad, riqueza y biodiversidad,

determinar el grado de contaminación, valorar las consecuencias de la emisión de diferentes contaminantes procedentes de fuentes de contaminación puntual y difusa, evitar o reducir el deterioro producido por diferentes impactos, evaluar el efecto de las alteraciones hidromorfológicas, evaluar el acceso al agua de las poblaciones, evaluar la efectividad de medidas de control y actividades de restauración, facilitar decisiones de manejo, entre otras.

La elección de metodologías para monitoreos depende del objetivo del estudio. Por ejemplo, el monitoreo utilizando distintos grupos de organismos debería hacerse en conjunto con el relevamiento de la calidad de hábitat, del agua y sedimentos, así como también con las variaciones hidrológicas, pero además es importante considerar un enfoque integrador y sumar indicadores sociales y económicos.

Toda actividad de monitoreo implica mediciones, recolección o toma de muestras o datos en campo. En consecuencia, es necesario tener muy claras las preguntas en torno a la problemática en estudio para realizar una adecuada selección de parámetros e indicadores y un buen diseño de los muestreos que permita dar respuestas al problema planteado.

El origen de los monitoreos está en una necesidad de conocimiento o una pregunta a responder relacionada con una problemática socioambiental. Por esto, es esencial tener en claro la pregunta de partida para poder abordar adecuadamente el estudio.

La provincia de Santa Fe cuenta con una superficie de 132 638 km² y en ella se pueden diferenciar 5 distintas ecorregiones (Morello et al., 2012, Biasatti et al., 2016) (figura 1). Cuenta con una gran superficie cubierta por cuerpos de agua dulce con diversos tipos de sistemas acuáticos, como ríos con cuencas de pequeñas a grandes dimensiones, un amplio rango de caudal, profundidad, velocidad de la corriente y salinidad así como lagunas someras, profundas, permanentes, temporarias y también importantes humedales como los Bajos Submeridionales y los asociados al río Paraná (figura 2). Estos ecosistemas de agua dulce son esenciales para el desarrollo sostenible y el bienestar humano generando una amplia gama de beneficios y servicios fundamentales para el ambiente, la sociedad y

la economía. Entre los servicios ecosistémicos se encuentran la provisión de agua para consumo, para la agricultura, industria y producción de energía; provisión de alimentos y recursos para economías regionales de subsistencia; hábitats para la flora y la fauna; soluciones naturales para la purificación del agua, la mitigación de los impactos del desarrollo, las inundaciones y sequías y servicios estéticos, culturales y recreativos importantes para el bienestar humano, turismo, etcétera.

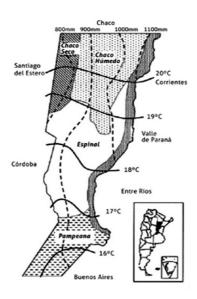
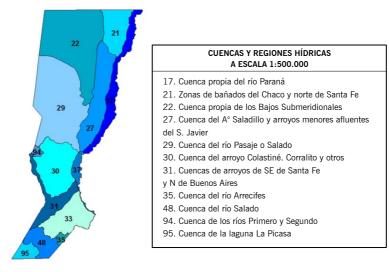


Figura 1 · Ecorregiones de la Provincia de Santa Fe.

Fuente: imagen tomada de Biasatti et al., 2016.



**Figura 2** · Cartografía hídrica superficial digital de la Provincia de Santa Fe. Sistema Nacional de Información Hídrica, Subsecretaría de Recursos Hídricos. Buenos Aires. *Fuente: imagen tomada de Giraut, M. A.; Lupano, C. F.; Soldano, A. y Rey. C. A.* (2007).

En general y en condiciones climáticas ordinarias o normales, los cuerpos de agua dulce en la provincia presentan un ciclo anual de aguas altas o fase de inundación durante la época de lluvias (primeros meses del año con picos en marzo—abril) seguido por un período de estiaje o aguas bajas (segunda mitad del año) que pueden presentar una amplitud y duración variable. Esta variabilidad es extrema en los períodos de ocurrencia de eventos hidroclimáticos El Niño o La Niña (fenómenos enso) que para nuestra región se manifiestan con inundaciones o sequías respectivamente. Asimismo, se suma a esta variabilidad regular, la ocurrencia de fenómenos extremos vinculados a la alteración de los regímenes de lluvia regionales por el cambio climático.

La integridad ecológica (refiriéndonos al estado del ecosistema que conserva adecuadamente su estructura y función) de los sistemas acuáticos

puede ser alterada por distintas actividades en relación con el uso de la tierra. Dichas actividades antrópicas ponen en riesgo la preservación y conservación de los recursos naturales, generando impactos negativos sobre los socioecosistemas y la calidad de vida de las generaciones presentes y futuras. Al respecto, las alteraciones del entorno físico por actividades como el dragado, rectificación de cursos de agua, y principalmente, las alteraciones del entorno químico relacionadas con la liberación no controlada de una gran variedad de sustancias tóxicas como metales, plaguicidas, contaminantes orgánicos persistentes, polímeros plásticos, entre otros representan una gran amenaza para la diversidad y abundancia de la biota en los ambientes acuáticos. Esto se debe a que tanto las aguas superficiales como las subterráneas actúan como sumideros o receptores de casi todas las sustancias tóxicas, residuos agrícolas, industriales y urbanos que se producen, frecuentemente con escaso o nulo tratamiento y control de las emisiones (figura 3). Es por ello, que estos sistemas están sujetos en forma creciente al ingreso de nuevos contaminantes y concentraciones en aumento de los ya existentes, producidos por la industria, la agricultura y las urbanizaciones. Como consecuencia, los ecosistemas pierden su capacidad de brindar servicios y los esfuerzos para acceder al agua y otros recursos de la calidad adecuada son cada vez más costosos (figura 4).

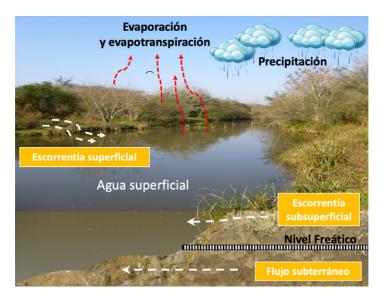


Figura 3 · Procesos que intervienen en la recarga de cuerpos de agua superficial.



Figura 4 · Efectos ambientales de algunas actividades antrópicas.

Surge así la necesidad de realizar un diagnóstico del estado de calidad ambiental, con la finalidad de generar información que permita proponer medidas adecuadas y factibles para diseñar herramientas de manejo de los recursos acuáticos.

Con este propósito, en las últimas décadas se han aplicado diferentes instrumentos de gestión, entre ellos el Monitoreo Ambiental, definido como un proceso de observación repetitiva, con recopilación de datos de manera sistemática y rigurosa, con objetivos bien definidos, relacionados con uno o más elementos del ambiente, de acuerdo con un plan temporal y espacial determinado (PNUMA, 2010). Comprende, además del seguimiento sistemático de la variación temporal y espacial de distintos parámetros ambientales, la selección de datos y su interpretación. Los datos resultantes de los monitoreos de los sistemas acuáticos son imprescindibles para evaluar en qué estado se encuentran y realizar un diagnóstico de potenciales riesgos e impacto sobre la salud humana y de los ecosistemas.

El monitoreo de sistemas acuáticos es una herramienta útil para proporcionar información a los encargados de formular políticas, de modo que puedan tomar decisiones adecuadas que propicien la prevención, el control y/o remediación de los recursos hídricos. Por tanto, es útil también para establecer una línea de base que permita conocer el estado de calidad de un sitio, para el acompañamiento en la toma de decisiones y la implementación de políticas ambientales, ya sea en el ámbito público, como así también en el privado. Por ello, se deben realizar evaluaciones tendientes a reconocer la generación de efluentes, lixiviados y lavados provenientes de las industrias, asentamientos urbanos y actividades agropecuarias que pudieran afectar a corto o largo plazo a la biota, incluyendo al hombre y a la calidad ambiental de los sistemas acuáticos.

Existen a nivel mundial numerosos protocolos donde las agencias ambientales (por ejemplo, Agencia de Protección Ambiental de USA (USEPA), Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD), Programa ambiental de las Naciones Unidas; Directiva Marco europea del Agua (DMA), entre otros) consideran que las evaluaciones de

riesgo no pueden estar basadas exclusivamente en análisis físico—químicos del agua o sedimentos, sino que deben ir acompañadas de la medición de los indicadores biológicos que permiten medir los efectos provocados por los contaminantes. Para esto, se han desarrollado métodos de monitoreo que permiten una evaluación y diagnóstico de la calidad ambiental. Al respecto, comunidades o ensambles de organismos como el plancton, biofilm, macroinvertebrados y macrófitas son ampliamente utilizadas en la evaluación de la salud de los sistemas acuáticos.

Florencia Lucila Zilli <sup>13</sup> Mercedes R. Marchese <sup>13</sup> Luciana Regaldo <sup>23</sup>

# 1. Diseño de muestreo

De acuerdo con los objetivos y del tipo de ecosistema estudiado (lagunas, arroyos o ríos) existen variaciones en la forma en que se plantea un diseño de muestreo. Asimismo, existen particularidades de cada grupo biológico a tener en cuenta que pueden ser consultadas en los capítulos de este manual para diversos grupos biológicos empleados en diagnóstico y monitoreo.

El muestreo debe ser diseñado de la manera más eficiente (en términos de costo monetario y tiempos) y preciso en relación con la estimación de los parámetros de interés.

A continuación, se detallan aspectos que deberían ser tenidos en cuenta para abordar un monitoreo en ecosistemas dulceacuícolas. En todos los casos, el diseño dependerá de los objetivos del estudio, debiendo ajustarse de tal modo de poder dar respuesta a los mismos (figura 1).

<sup>1.</sup> Instituto Nacional de Limnología (INALI, CONICET, UNL).

<sup>2.</sup> Facultad de Humanidades y Ciencias, UNL.

<sup>3.</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

# Área de estudio y estaciones de muestreo

El área del estudio es el espacio físico en que se desarrollará el muestreo o monitoreo de calidad de agua. Su dimensión puede variar de acuerdo con la aproximación que se requiera y su delimitación se relaciona con los objetivos que motivan el monitoreo.

El número y ubicación de las estaciones de muestreo dependerán del tipo de monitoreo y objetivos propuestos y posibilitarán el correcto análisis de los datos generados.

Para capturar la mayor parte de la diversidad biológica y variabilidad espacial, se deben recolectar muestras en los diferentes tipos de hábitats del sitio (por ejemplo, zonas de alta velocidad de la corriente, remansos, zonas con vegetación y sin vegetación, etcétera).

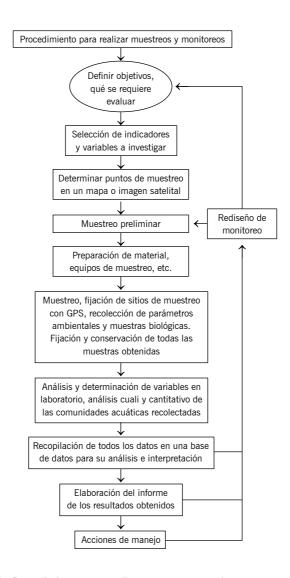


Figura 1 · Procedimiento para realizar muestreo y monitoreos.

La calidad del agua puede variar a lo largo de una sección transversal de un río en un punto de monitoreo. Por ejemplo, cuando hay una fuente puntual de un contaminante que ingresa a un río, el flujo lateral puede impedir la mezcla del agua durante una cierta distancia río abajo. Por ello, las estaciones de muestreo deberían estar situadas a una distancia mínima aguas abajo (por ejemplo, un kilómetro) de una fuente conocida de descarga de contaminantes. Por otro lado, en lagunas, el número y la ubicación de las estaciones de monitoreo dependerá del tamaño y la morfología de las lagunas. Si se trata de una laguna pequeña, un único punto de muestreo en el centro o en la parte más profunda puede ser adecuado.

En el caso de estudios que persigan el objetivo de analizar algún tipo de impacto, es fundamental definir sitios de control (con baja o nula actividad antrópica), que permitan realizar una comparación con los sitios impactados y así poder hacer comparaciones que reflejen los cambios ocurridos en parámetros ambientales, comunidades bióticas y el ecosistema.

#### Duración

La duración mínima de un monitoreo de calidad de agua debe responder a los interrogantes que motivan su realización y a factores ambientales considerados de importancia como por ejemplo: los períodos de aguas bajas, los períodos de aguas altas, posible ocurrencia de eventos de lluvias torrenciales o sequía característicos de la región en estudio.

En el caso de un monitoreo, la duración de los muestreos será a largo plazo para mantener constante en el tiempo la recolección de información y una generación continua de herramientas para la toma de decisiones. A su vez, debe tenerse en cuenta el tiempo necesario para el análisis de los resultados de manera de poder concluir y reorientar —en caso de ser necesario— los diagramas estipulados de muestreo y análisis.

Considerando la dimensión temporal, los monitoreos no solo deben ser útiles para estudios multitemporales (tendenciales), sino que también deben permitir comparaciones contemporáneas.

#### Frecuencia

Una única muestra proporciona información acotada y generalmente no refleja las condiciones, producto de un sistema que varía con el tiempo. Por ello, resulta importante muestrear en varios momentos diferentes. La frecuencia de la toma de muestras va a depender de la dinámica hidrológica del ambiente (cambios mayores en ríos que en lagunas), de la duración de los ciclos vitales de los organismos que se intenta muestrear y por supuesto de los objetivos del monitoreo. Por ejemplo, si se intenta monitorear efluentes de tratamiento de aguas residuales, el muestreo durante todo el día puede ser necesario para determinar si se han cumplido o superado las variables de control.

No obstante, la frecuencia recomendada es tomar como mínimo una muestra por estación del año. Las muestras deben ser tomadas en condiciones similares, en los mismos momentos y en los mismos lugares a lo largo de los años.

#### Estacionalidad

Es importante considerar la estacionalidad de los muestreos tanto por las variaciones climáticas, como por los ciclos vitales de los organismos indicadores. Por ejemplo, las condiciones contrastantes entre épocas secas y lluviosas, de inundación y estiaje, de mayores y menores temperaturas o duración de horas del día a nivel regional y local, producen cambios en la temperatura y volumen de agua de los ambientes dulceacuícolas que inciden en los ciclos vitales de los organismos y comunidades acuáticas indicadoras que deben ser tenidos en cuenta. Por tanto, se debería realizar muestreos en épocas de condiciones climáticas contrastantes para identificar y abarcar las posibles diferencias biológicas y ambientales. Al respecto, cabe señalar que en período de aguas bajas los contaminantes se concentran más que en aguas altas, donde la dilución puede ser muy alta y aquellos tóxicos de baja concentración pueden no ser detectados. En

relación con la biota, en general las bajas temperaturas inciden en menor tasa de reproducción, por lo tanto las densidades registradas son menores.

#### Indicadores ambientales

El número de indicadores ambientales a monitorear puede ir desde unos pocos hasta una gran cantidad, dependiendo del grado de impacto a evaluar. Se pueden incluir indicadores vinculados al medio social y al medio natural, aplicados a la evaluación de la calidad de vida de la población y a la calidad del agua (superficial y subterránea) y de los sedimentos. Actualmente, resulta evidente que para determinar el impacto de diversas acciones antrópicas sobre el ambiente es necesario recurrir no solo a la detección y cuantificación de tóxicos mediante análisis fisicoquímicos, sino que también es imprescindible estudiar modificaciones de parámetros biológicos utilizando como referencia organismos sensibles a pequeñas dosis de tóxicos, denominados bioindicadores.

Se deben seleccionar las variables que se vinculan a las problemáticas que se van a abordar en el plan de estudio o monitoreo, sobre todo teniendo en cuenta que de ello puede depender gran parte de los costos monetarios del mismo. Por ejemplo, los análisis químicos de agua, sedimento, material particulado en suspensión y biota suelen ser muy costosos.

Las decisiones respecto de la selección de variables resultan más apropiadas si se cuenta con información previa para definirlas en relación con la problemática que se desea abordar. Asimismo, es importante contar también con los valores guía específicos recomendados para la protección de la biota acuática y para el uso del recurso que se esté analizando (consumo doméstico, en agricultura, ganadería e industria, usos recreativos, entre otros).

En todo monitoreo es importante tener en cuenta medidas de parámetros ambientales y muestras biológicas para tener un diagnóstico integral del ambiente a evaluar. En el capítulo 2 (Variables ambientales) se explican los métodos de recolección y conservación de cada variable. Para

la recolección de muestras biológicas se describen a continuación metodologías generales. Para particularidades relacionadas con la recolección y procesamientos de muestras biológicas correspondiente a cada comunidad biótica se puede consultar los capítulos correspondientes.

En función de los datos a obtener de acuerdo con los indicadores biológicos a emplear, el método de recolección de muestras puede ser cuantitativo, cualitativo o semicuantitativo.

- Cualitativos. Generalmente se emplea cuando el objetivo es obtener una lista de los taxa en un determinado sitio. Generalmente no se emplean para comparar sitios o fechas de muestreo. Se emplea para estimaciones de riqueza o cuando se considera emplear medidas de abundancia relativa (ejemplo: abundancia de una especie/abundancia total en el sitio) o de frecuencia de aparición de cada taxon en el ambiente.
- Cuantitativos. Se asocia a la muestra biológica recolectada, una unidad de medida en área o volumen y se recolectan muestras suficientes para describir la variabilidad del sistema. Se emplea para expresar la abundancia por unidad de área o por unidad de volumen, permite comparar entre sitios o fechas. La numerosidad se puede expresar en unidades de área (individuos/m²) o volumen (individuos/mL, individuos/L). Otra medida de abundancia es la de biomasa (mg peso seco o húmedo/m²).
- Semicuantitativos. Generalmente la unidad de densidad o biomasa está en relación con el tiempo en función del esfuerzo de muestro (individuos o biomasa/tiempo) o una combinación de tiempo y área (individuos o biomasa/m²/m\*tiempo). Se debe mantener constante el tiempo, aunque el área puede variar. Sirve para realizar comparaciones entre sitios y fechas.

Cuando se muestrean áreas amplias o se obtienen muestras muy grandes, o cuando se requiere de una respuesta rápida, o se recolectan muchos ejemplares, se pueden emplear las técnicas de extraer muestras integradas o submuestrear.

El procedimiento de muestras integradas consiste en mezclar dos o más de las muestras recolectadas en una única muestra por sitio o estación de muestreo. Se emplea para la obtención de datos cualitativos. Asimismo, se puede recolectar un número grande de muestras, integrarlas y luego submuestrearlas.

El submuestreo generalmente se hace en laboratorio, aunque puede hacerse en campo. Se puede realizar analizando un volumen fijo de cada muestra o bien un número fijo de organismos. Para mayor detalle se puede consultar la bibliografía de referencia general (Department of Water 2009; Us Geological Survey 2010; Anderson *et al.*, 2013, EPA 2014) y de cada capítulo.

### Logística previa

La diagramación de la logística dependerá de definiciones previas respecto de qué, dónde, cuándo y para qué se quiere realizar el monitoreo. Esta diagramación permitirá tener en cuenta los parámetros de importancia para adquirir el equipamiento, los recursos materiales y humanos necesarios y el cronograma de actividades relacionadas con cada actividad que se llevará adelante desde el muestreo hasta el procesamiento de los datos obtenidos.

La accesibilidad de los sitios de muestreo es importante a la hora de diseñar el muestreo.

Por ello, además de definir los sitios con mapas o imágenes en el escritorio, es deseable la realización de un muestreo preliminar. Este permitirá ajustar el muestreo en el terreno, teniendo en cuenta que los puntos de muestreo deben tener un acceso fácil y sin riesgos. Se debe llevar y utilizar el equipo de protección individual adecuado. Este incluye, por ejemplo, guantes, gafas, y prendas de alta visibilidad. Se debe llevar un kit de primeros auxilios en cada campaña de trabajo de campo y procurar evitar el trabajo individual.

En el caso de requerirse análisis de laboratorio, es importante organizar los tiempos para poder trasladar las muestras en el rango de período óptimo para poder realizar los análisis de manera adecuada. En caso de requerirse los servicios de laboratorios especializados, se debe dar aviso de tiempo estimado de entrega de las muestras.

## Hoja de ruta

Es una guía muy útil sobre todo para la toma de muestras cuando se trata de un monitoreo que comprende varios sitios de muestreo. Para consolidar la hoja de ruta es importante contar con un equipo con tecnología GPS (sigla en inglés que representa a Sistema de Posicionamiento Geográfico). Esta herramienta permitirá tener definida la hoja de ruta en pantalla con las respectivas estaciones de muestreo, así como de tiempos aproximados entre estaciones, distancias, y también una alarma de proximidad al punto de toma de muestra.

Por otro lado, contiene información respecto de los parámetros que se van a medir, condiciones determinadas de entrega de las muestras, como por ejemplo el tiempo que transcurre desde la toma de muestra hasta su análisis. Estas definiciones son de suma importancia porque limitan nuestra hoja de ruta a los tiempos impuestos por los estándares analíticos. Por lo general, se recomienda programar los monitoreos en bases diarias cuando se trata de muestras que tengan 24 horas para su entrega en laboratorio.

Otra variable de gran importancia es el tiempo que insume tomar las muestras y realizar las mediciones en cada punto debido a que estos tiempos condicionan la duración del proceso de toma de muestras. Una vez establecidos estos criterios, se está en condiciones de generar la hoja de ruta con un punto de partida con un horario tentativo, un recorrido con sus respectivas estaciones de toma de muestra y un punto de llegada con su horario tentativo. De esta forma se puede decidir las mejores alternativas para generar la hoja de ruta.

### Preparación de materiales

Previo al muestreo se deben reunir todos los materiales (insumos y equipamientos necesarios) para la realización del muestreo.

De esta forma se tendrá definido según lo que se va a medir, el tipo de recipientes (botellas, frascos, tubos) y la cantidad de cada uno. Se necesitará saber los materiales y equipos necesarios para la obtención de la muestra de agua (sogas, baldes, botellas Van Dorn, según corresponda), sedimentos (dragas, muestreadores tubulares o descorazonadores, redes) y los insumos para acondicionamiento y transporte de las muestras tales como conservadoras, refrigerantes, gradillas y reactivos, entre otros.

Se recomienda contar con un número mayor de recipientes de los necesarios y repuestos de los insumos para sortear cualquier eventualidad.

Etiquetas para la identificación de la de muestra:

- Sitio
- Fecha
- Encargado de la muestra
- Código de numeración de muestra
- Submuestra/muestra compuesta (en caso de corresponder)

Además de los insumos para la toma de muestras, son importantes los materiales necesarios para el correcto etiquetado e identificación de las mismas. La preparación de rótulos se recomienda efectuarla previamente al momento del muestreo para optimizar los tiempos en el terreno.

Para cada muestra recolectada, debe considerarse el material del recipiente (plástico, vidrio, transparente u oscuro y tapa), la modalidad de acondicionamiento y transporte antes de recolectar las muestras, la rotulación de los envases con etiquetas o marcadores a prueba de agua. Los procesos de conservación y el tiempo máximo de envío de las muestras al laboratorio.

Las planillas de recolección de datos son parte importante de la preparación previa de materiales. Una planilla correctamente confeccionada que contenga un *check—list* (punteo o listado de todo lo necesario para cada punto de muestreo) es fundamental para estandarizar el control de la toma de muestras y, a su vez, funciona como un *back—up* (copia de seguridad) de la información generada en terreno (ver en anexo 1 planilla de campo).

# Conservación y traslado de muestras y puesta a punto de los equipos

Las determinaciones de parámetros en muestras de agua y sedimentos pueden realizarse en el sitio o requerirse condiciones de laboratorio, para lo que se necesitara seguir correctos protocolos de recolección, preservación y transporte de las muestras a los laboratorios.

En este caso, cada muestra será recolectada y almacenada en un contenedor apropiado para evitar su contaminación o su pérdida.

Todos los equipos que se utilicen durante el monitoreo deben ser revisados y calibrados en el caso que corresponda, antes de salir a campo para asegurar contar con los equipos en su correcto estado operativo. Asimismo, deberán ser devueltos en las condiciones adecuadas para su uso a futuro.

Más detalles se pueden encontrar en el capítulo 2 sobre variables ambientales.

# Preparación de los medios de transporte hasta el sitio de estudio

En caso de requerirse vehículos automotores y náuticos (camionetas, automóviles, lanchas), estos deben cumplir con las condiciones óptimas mecánicas y reglamentarias (seguros, impuestos, verificaciones técnicas habilitantes, botiquín de primeros auxilios y demás equipamiento de

seguridad) del tránsito para su uso en la ruta o caminos a transitar. El correcto funcionamiento de los vehículos es fundamental ya que todo el esfuerzo de monitoreo tiene como eje central el transporte de muestras de forma correcta, segura y bajo normas.

Las embarcaciones deben cumplir con todos los requisitos de seguridad requeridos por la Prefectura Naval Argentina (PNA), en caso de ser embarcaciones sujetas al registro correspondiente de la PNA. Si se utiliza otro tipo de embarcación, como botes, se recomienda ser manejadas por personal capacitado, siguiendo todas las reglas de seguridad acordes al tipo de empleo que se les da.

#### Informatización de datos

Las planillas de campo (ver anexo 1) y laboratorio (anexo 2) deben ser trasladadas a un formato digital con el fin de ponerlas a disposición para los análisis posteriores correspondientes, como por ejemplo el cálculo de los indicadores.

Ana María Gagneten <sup>1</sup>
Luciana Regaldo <sup>1 3</sup>
Pablo Vaschetto <sup>1 3</sup>
Mercedes R. Marchese <sup>2 3</sup>

# 2. Variables ambientales

# Parámetros físicos y químicos que definen la calidad ambiental

En un muestreo o un monitoreo hay variables básicas de rutina que deben medirse y otras variables más específicas que serán analizadas según los impactos que se requieran evaluar. Los parámetros ambientales de rutina que se miden en agua para evaluar calidad ambiental son: temperatura (°C); profundidad (m); turbidez (unidades de turbidez nefelométricas – UTN); sólidos totales (mg/L); pH; salinidad (%); transparencia (disco de Secchi, cm); conductividad ( $\mu$ S/cm); dureza total (mg/L Caco $_3$ ); oxígeno disuelto (mg/L O $_2$ ); demanda química de oxígeno (DQO mg/L O $_2$ ); demanda biológica de oxígeno (DBO mg/L O $_2$ ) nitratos, (mg/L NO $_3$ -); nitritos (mg/L NO $_2$ -) y fosfatos (mg/L PO $_2$ -3) Otros parámetros importantes a considerar

<sup>1.</sup> Facultad de Humanidades y Ciencias, UNL.

<sup>2.</sup> Instituto Nacional de Limnología (INALI, CONICET, UNL).

<sup>3.</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

son los eventos de precipitaciones (mm) y el caudal (se expresa en  $m^3$ / seg. o en L/seg.).

Según el objetivo del monitoreo y lo que se necesita evaluar puede ser necesario además de las mediciones básicas para una evaluación diagnóstico de calidad de agua, tomar muestras para determinar metales, plaguicidas y contaminantes emergentes tales como productos farmacéuticos y de cuidado personal, microplásticos, nanopartículas, entre otros.

Aun cuando el set de variables físico—químicas del agua es fundamental en cualquier evaluación, la combinación del conjunto de sustancias inorgánicas y orgánicas disueltas o en suspensión es difícil de medir y describir considerando todos los parámetros químicos y físicos interactuantes. A esta complejidad se suman la dificultad y elevados costos asociados a los métodos para su medición, registro y análisis.

En consecuencia, se aconseja restringir el estudio a los parámetros más importantes para la biota y el funcionamiento ecosistémico. Por ejemplo, los parámetros más utilizados (O2 disuelto, conductividad, sólidos disueltos totales, temperatura y pH) pueden ser medidos directamente en el campo (in situ) utilizando equipos multiparámetros (sondas digitales o kits manuales), mientras que otras variables, como DQO, DBO, alcalinidad y nutrientes requieren la colecta del agua en botellas específicas y con un manejo delicado que garantice la limpieza de materiales y depósitos, así como de transporte expedito al laboratorio para su posterior análisis utilizando instrumental específico. De la misma manera, el estudio de contaminantes tales como plaguicidas, metales pesados y contaminantes emergentes en distintas matrices (agua, sedimento, material en suspensión y biota) requieren que las muestras sean tomadas, trasladadas al laboratorio y mantenidas para su posterior análisis, siguiendo normas establecidas en protocolos internacionales (Environmental Protection Agency —EPA—, American Public Health Association —APHA—, entre otras).

En algunos casos, se aconseja el uso de filtros de microfibras de vidrio (por ejemplo, los GF/F de Whatman o similares) para eliminar partículas en suspensión (Butturini *et al.*, 2009). Entre los equipos especializados para

la detección y cuantificación de contaminantes tradicionales y aquellos considerados emergentes pueden citarse al espectrofotómetro, fluorímetro, espectrofotómetro de absorción atómica, nanozetazizer, HPLC, entre otros. El costo asociado al empleo de equipamiento es mayor cuanto más bajos son los límites de detección requeridos, por ejemplo, al utilizar HPLC-MS-MS.

Los procedimientos técnicos estandarizados para los análisis químicos más utilizados son resumidos en APHA (1998), pero hay referencias variadas, aquí algunos enlaces de interés: Plataforma de Información sobre las Aguas Dulces. Red de investigación en aguas dulces; Standard methods for the examination of water and wastewater (APHA 1998); Conceptos y técnicas en ecología fluvial (Elosegi y Sabater 2009); Guía de Monitoreo Participativo de la Calidad de Agua (Rodrigo *et al.*, 2018).

# Medición en campo (= in situ) y toma de muestras de agua y sedimento para análisis en laboratorio

Para la medición de variables ambientales de rutina *in situ* (se sugiere por triplicado), se puede contar con equipamientos uniparamétricos o multiparamétricos. Estos permiten la medición en campo de algunos parámetros, los que también pueden ser medidos de modo analítico en laboratorio. Para la medición analítica en laboratorio es necesaria la toma o colecta de muestras (por triplicado), generalmente de agua o sedimentos suspendidos o de fondo, las que deben ser acondicionadas y trasladadas a los laboratorios de acuerdo con los requerimientos y protocolos para cada análisis.

Las muestras de agua se toman superficialmente, aproximadamente 10 cm debajo de la superficie, utilizando botellas plásticas y/o vidrio (según el parámetro a analizar) previamente lavadas con ácido nítrico (10 % v/v) o detergente biodegradable neutro y luego enjuagadas con agua deionizada. A su vez, las botellas deben ser enjuagadas dos veces con agua del ambiente a estudiar antes de ser llenadas.

Las muestras de sedimentos superficiales se toman utilizando una draga manual con una superficie de extracción efectiva de 100 cm. Luego de la recolección, se colocan en recipientes de plástico y/o vidrio, se mantienen refrigeradas a 4 °C y se transportan hasta el laboratorio para sus posteriores análisis.

Se pueden tomar distintos tipos de muestras en función del objetivo de la medición y las características del sistema acuático. Estos pueden ser de naturaleza puntual o compuesta. Las muestras puntuales se toman en un determinado punto del espacio y tiempo, reflejan las características instantáneas del sistema de procedencia. Son útiles cuando se pretende caracterizar la calidad del agua en un tiempo y espacio determinado o cuando se estudian cursos de agua relativamente estáticos o de bajo orden. Estas muestras se toman en un determinado sitio, profundidad y tiempo seleccionado, y luego se analizan según los componentes de interés.

Las muestras compuestas se obtienen por mezcla de dos o más muestras puntuales y puede ser integradas considerando el tiempo (se obtiene por combinación de varias muestras puntuales, tomadas en un mismo sitio, pero en distintos momentos), el espacio o el caudal.

La toma de muestras biológicas, preservación en campo, indicaciones para el traslado e identificación de cada comunidad en laboratorio se detallan en los correspondientes apartados de este protocolo.

#### Variables ambientales de rutina

### Precipitaciones

Este parámetro se puede registrar *in situ* en cada sitio de muestreo o bien se puede solicitar y obtener información registrada por centros oficiales de entidades públicas que monitorean esta variable en la zona de influencia. Para los registros en campo, se emplea un pluviómetro. Este debe ser expuesto con su boca en posición horizontal sobre el nivel del suelo y si es posible estar protegido del viento.

#### Velocidad de la corriente y caudal

El caudal corresponde al volumen de agua que pasa instantáneamente por la sección de aforos en una unidad de tiempo determinada. Las mediciones están orientadas a conocer las características hidráulicas del cauce en diferentes estados hidrológicos. El caudal es función del área de la sección de aforos (A) y de la velocidad media del flujo (v) y se obtiene mediante el producto de estas dos variables: (Q = A \* v). Para su medición, se emplean métodos sencillos y otros más tecnificados, dependiendo de las características de la corriente y de la disponibilidad de recursos técnicos y económicos. Un método práctico se basa en la medición de la velocidad y el área de la sección transversal.

## Temperatura del agua

Tiene amplias variaciones diarias y estacionales dependiendo de la ecorregión, del volumen y/o caudal del cuerpo de agua, pero también indica fenómenos de contaminación térmica que son típicos de algunos tipos de actividades particularmente la de plantas generadoras de energía. Se puede medir con una sonda multiparámetro o un termómetro estándar.

#### Transparencia y turbidez del agua

La transparencia refiere a la profundidad a la cual la luz puede penetrar en el cuerpo de agua y es medida por la profundidad a la cual el disco de Secchi es visible (figura 1).

La turbidez informa sobre la cantidad de partículas sólidas suspendidas en el agua, que hacen que los rayos de luz se dispersen. La medición de este parámetro se puede realizar con una sonda (in situ), o bien se toma una muestra de agua (volumen mínimo 100 ml) en botella de plástico o vidrio y se analiza el mismo día. En caso contrario, se puede almacenar durante 48 h (tiempo máximo) en oscuridad y refrigerada hasta su análisis.

Tanto el disco de Secchi como la turbidez, son medidas que pueden informar acerca de la posibilidad de que los organismos autótrofos que viven allí (algas o plantas) puedan desarrollar el proceso fotosintético. La falta de transparencia o la elevada turbidez puede estar relacionada con vientos, procesos erosivos, contaminantes de algún tipo o procesos de eutrofización.



Figura 1 · Disco de Secchi.

#### Conductividad eléctrica

Es una medida de la cantidad de sales o sustancias ionizadas en cada cuerpo de agua. Su valor puede indicar tanto un proceso de salinización secundaria o contaminación por acción humana directa o indirecta y está determinado principalmente por la geología de la cuenca. Puede cambiar de forma natural, especialmente durante los períodos en los que aumenta el caudal y con los eventos de precipitaciones; las sales del suelo ascienden en tiempo seco por capilaridad y descienden con el incremento de las precipitaciones, pudiendo modificar la conductividad de los sistemas acuáticos (Manzi y Gallardo, 1970). Se incluye como parámetro básico, debido a es fácil de medir y toda desviación de los rangos habituales se puede utilizar como indicador de contaminación, como los aportes de aguas residuales a la masa de agua. El método más preciso para medir la conductividad eléctrica consiste en utilizar una sonda de conductividad in situ (conductímetro, figura 2), dado que los valores pueden modificarse en el tiempo que transcurre entre la toma de muestra en campo y el análisis en el laboratorio. La exactitud de la medición dependerá del tipo de instrumento, de su correcta calibración y del valor de conductividad de la muestra. Es importante seleccionar el instrumento considerando el posible rango de conductividad de las muestras a analizar.



 $\begin{tabular}{ll} Figura 2 \cdot Ejemplo de sonda mulitiparamétrica que puede medir conductividad, temperatura, pH, sólidos suspendidos totales. \end{tabular}$ 

рН

Es uno de los parámetros que más se suelen medir debido a su influencia en numerosos procesos biológicos y químicos. Indica el grado de acidez o alcalinidad del cuerpo de agua que puede fluctuar naturalmente, en particular en condiciones hidrológicas cambiantes, por influencia del agua subterránea, los flujos subterráneos y la escorrentía superficial durante las lluvias (capítulo 1, figura 3). Los cambios fuera de los rangos naturales indican una posible contaminación proveniente de fuentes industriales o el aporte de aguas residuales. El pH se mide con mayor precisión *in situ*, con una sonda multiparámetro o un peachímetro, porque los valores pueden sufrir alteraciones en el tiempo que transcurre entre la toma de muestra en campo y el análisis en el laboratorio.

# Oxígeno disuelto

Refiere a la cantidad de gas de oxígeno disuelto en un volumen de agua, a una temperatura y presión atmosférica determinada. Indica la existencia de condiciones aeróbicas o anaeróbicas en un medio en particular. Sus concentraciones en agua se relacionan con múltiples factores, disminuyendo con aumentos de la temperatura y la materia orgánica. Se mide in situ con una sonda de oxígeno, pero también puede medirse por el método de Winkler que consiste en fijar químicamente el oxígeno de la muestra de agua para su análisis en el laboratorio. Para ello, la muestra de agua subsuperficial se recolecta utilizando botellas de Winkler (300 mL) (figura 3). Se inclina la botella horizontalmente para permitir el deslizamiento suave y lento del agua por sus paredes, desalojando el aire contenido mientras se llena. Una vez llena, se pone en posición vertical y se tapa dentro del agua para evitar la permanencia de burbujas de aire. A la muestra se le agrega sulfato de manganeso (1 mL), yoduro de potasio (1 mL) y se coloca el tapón evitando el ingreso de burbujas de aire, se mezcla invirtiendo la botella durante 15 segundos y se deja en reposo hasta la formación de un flóculo o coloide (si no aparece se debe volver a agitar enérgicamente).

Luego de formado el flóculo, se añade I mL de ácido sulfúrico concentrado para fijar y conservar el oxígeno presente en el agua (el oxígeno disuelto se oxida en iones de manganeso, que es un estado más estable), manteniendo el extremo de la pipeta sobre el cuello de la botella. Finalmente, se coloca nuevamente el tapón evitando la entrada de aire y se mezcla hasta que el flóculo se disuelva completamente.

El oxígeno disuelto al igual que el pH tiene un amplio rango de variación diaria producto de la acción biológica por lo que la información que brinda debe ser tomada y analizada de acuerdo con el horario del día y con las condiciones meteorológicas dominantes al momento de la toma de muestras.



Figura 3 · Botellas para medir oxígeno disuelto por Winkler.

#### Clorofila a

La clorofila *a* es un pigmento fotosintético y su concentración en agua puede ser utilizada para estimar la biomasa de fitoplancton presente en el ambiente en estudio. Su concentración se determina a partir del residuo sólido remanente del filtrado de un volumen conocido de muestra.

Factores naturales y antropogénicos, tales como nutrientes, luz y temperatura, pueden afectar la biomasa del fitoplancton y, en consecuencia, las concentraciones de clorofila *a*. Altos niveles de clorofila *a* generalmente indican elevadas concentraciones de nutrientes.

Para la toma de muestra de clorofila a, se requiere un volumen de muestra de I L en botella de plástico, previamente lavadas con detergente libre de fosfatos, y enjuagadas con agua del ambiente, que se traslada refrigerada (1 a 4 °C) y a oscuras para su análisis en laboratorio en menos de 24 h (Método 10200 H: APHA, 1998).

# Demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>)

Las muestras de agua se colocan en botellas Winkler previamente esterilizadas (no se enjuagan con ácidos) y se transportan en frío y oscuridad del campo al laboratorio. La determinación de DBO, se realiza a partir del método de titulación de Winkler. El oxígeno consumido en la descomposición de la materia orgánica presente en una muestra por microorganismos aeróbicos es medida luego de un lapso de cinco días a 20 °C y en oscuridad. Para lograr esto las botellas Winkler son colocadas en una incubadora biológica bajo esas condiciones. Otra opción es realizar las mediciones con el sistema Oxitop. Su medición se basa en la lectura de presión en un sistema cerrado: los microorganismos contenidos en la muestra consumen el oxígeno generando co, el cual se absorbe con el Naoн produciendo una presión negativa que se puede determinar cómo mg/L DBO. Es un parámetro indispensable cuando se determina la calidad del agua de ríos, lagos, lagunas o efluentes. Cuanto mayor cantidad de materia orgánica contiene la muestra, más oxígeno utilizarán los microorganismos para degradarla (oxidarla).

# Demanda química de oxígeno (DQO)

La muestra de agua se colecta en recipiente de vidrio o plástico (300–500 mL) previamente lavada con agua de grifo y detergente biodegradable neutro (al 5 %). Luego se sumerge en H<sub>2</sub>so<sub>4</sub> al 10 % por treinta (30) minutos y se enjuaga con agua destilada. Se recomienda analizar la muestra lo más pronto posible, o agregar H<sub>2</sub>so<sub>4</sub> hasta pH<2 y refrigerar. Las determinaciones se realizan siguiendo el método 410.1 (APHA, 1975). Como agente oxidante se emplea dicromato de potasio en una solución de ácido sulfúrico (50 %) a temperatura controlada. Además, se agrega sulfato de plata como catalizador y se añade sulfato mercúrico para eliminar posibles interferencias de cloruros. El exceso de dicromato se valora con sulfato de amonio ferroso estándar, utilizando un complejo ferroso como indicador.

# Determinación de dureza del agua, carbono orgánico disuelto (COD), nutrientes y sólidos totales (ST)

Las muestras de agua para determinar dureza, carbono orgánico disuelto (COD), nitrato, nitrito, fosfato y sólidos totales se colectan en botellas de vidrio, lavadas mediante agua deionizada y enjuagadas dos veces con agua del ambiente a estudiar previo a su llenado. Las muestras pueden guardarse hasta 24 h refrigeradas a 4 °C hasta su análisis. Estos parámetros se miden en las muestras (triplicadas) obtenidas en los sitios de muestreo según Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters (APHA, 1998).

#### Dureza

El procedimiento más habitual para la determinación de los iones de Ca y Mg de las muestras es mediante la valoración con EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) a pH 10. Debido a la insolubilidad en agua del EDTA, se utiliza la sal disódica del mismo (Na EDTA) para este análisis. El punto final de la reacción se detecta mediante el indicador eriocromo negro T,

que da un color rojo en presencia de calcio y magnesio y azul cuando se secuestran los cationes.

## Carbono orgánico disuelto (COD)

Las muestras, los blancos y los estándares se colocan en tubos en presencia de dicromato y calentados en estufa a 150 °C. Luego de dos horas los tubos se enfrían y se mide el COD por espectrofotometría a 600 nm.

#### **Nitritos**

Analizar lo más pronto posible o refrigerar, el tiempo de almacenamiento máximo recomendado es de 48 h. Los compuestos de diazonio formados por diasociación de sulfanilamida y por nitrito en agua bajo condiciones ácidas, son acoplados con N-(1-naphthyl) etilendiamina dihidroclorhídrico para producir un color púrpura rojizo, cuya absorbancia se mide en un espectrofotómetro a 540 nm de longitud de onda.

#### **Nitratos**

Analizar lo más pronto posible o refrigerar, el tiempo de almacenamiento máximo recomendado es de 48 h. El método para esta determinación se basa en la reacción del ión nitrito con sulfato de brucina en una solución de NH2SO4 a una temperatura de 100 °C. El color de los complejos resultantes se mide a 410 nm de longitud de onda.

#### Amonio

La cantidad de amonio presente en las muestras es determinada a través del método de Nessler. A partir del reactivo de Nessler, el cual reacciona con iones de amonio de la muestra, ocurre una solución coloreada de color amarillo proporcional en su intensidad de acuerdo con la concentración de amonio. Esta solución se debe leer a 425 nm en un espectrofotómetro determinando la concentración según una curva de dosis—respuesta.

#### Fosfatos

Para fosfato disuelto filtrar inmediatamente y refrigerar. El tiempo de almacenamiento máximo recomendado es de 48 h. La muestra se agita en presencia de ácido sulfúrico, K<sub>2</sub>so<sub>4</sub> y Hgso<sub>4</sub> durante dos horas y media. El residuo se enfría, se diluye a 25 mL y se lleva a un autoanalizador para el posterior análisis colorimétrico (fotométricamente a 880 nm).

El fósforo total ( $\mu$ g P L<sup>-1</sup>) se utiliza generalmente para clasificar estado trófico de los ambientes acuáticos, desde ultraoligotrófico (<4  $\mu$ g P L<sup>-1</sup>), oligotrófico (4–10), mesotrófico (10–20), Mesoeutrófico (20–35), eutrófico (10–100) a hipereutrófico (1000  $\mu$ g P L<sup>-1</sup>) (CCME, 10004).

#### Sólidos totales (ST)

Las muestras se mezclan y se secan en estufa hasta peso constante a 103–105 °C y luego se pesan en una balanza de precisión.

# Sólidos suspendidos

Los sedimentos suspendidos y la concentración de materia orgánica suspendida en la columna de agua deben ser determinados en cada punto a partir de muestras de agua extraídas mediante una botella horizontal tipo van Dorn de 2 L (ver capítulo 4, figura 3) y almacenadas en bidones plásticos de 5 L. También se puede tomar la muestra directamente con un bidón plástico. Todas las muestras deben ser replicadas (se recomienda 3 réplicas).

Para la cuantificación de sólidos suspendidos, en laboratorio, se determina la concentración de sedimentos suspendidos en las muestras obtenidas, filtrando al vacío el agua obtenida en filtros tipo Chamberland. Estos tienen una capacidad de retención de partículas mayores o iguales a 1 µm, diámetro de 25 mm, longitud de 200 mm y superficie filtrante de 78,5 cm². Luego de este procedimiento, se debe realizar el pesado de las partículas retenidas en el filtro en cápsulas de porcelana, con balanza (±0,1mg de precisión) (APHA, 1989).

#### Sedimentos de fondo

La composición granulométrica de sedimentos de fondo se determina a partir de muestras de sedimento de fondo extraídas con dragas o muestreadores tubulares (figura 4), y el material obtenido se debe acondicionar en recipientes plásticos de 1 L.

Las muestras de sedimento se colocan en estufa (80 °C aprox.) por 24–48 h y una vez secas se extrae una alícuota de 100 g a la que se le elimina la materia orgánica adicionando agua oxigenada a 100 vol. Luego de oxidar la materia orgánica de la muestra, se tamiza en húmedo en una serie de tamices de distinto tamaño de abertura de poro, separando fracciones gruesas de finas según la escala de Wentworth (figura 4). El sedimento retenido en cada tamiz se seca a 100 °C en estufa durante 24 h, y posteriormente se pesa en balanza de precisión (± 0,1 mg) (APHA, 1982). Para las fracciones más finas (arcillas) es necesario aplicar un método de sifonado. Los resultados se expresan en porcentajes de tamaño de partículas (ejemplo: % arenas, limos y arcillas, etcétera).

# Análisis de sedimentos de fondo

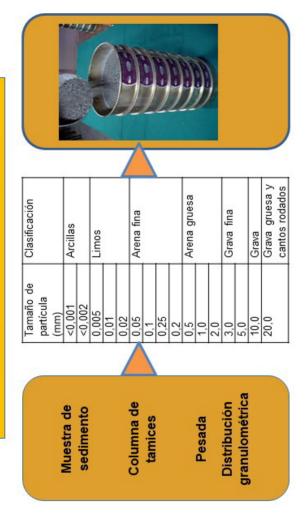


Figura 4 · Procesamiento de muestras para análisis de sedimentos de fondo y escala granulométrica de Wentworth.

# Concentración de materia orgánica suspendida (MOS)

El cálculo de materia orgánica suspendida se realiza a partir del agua filtrada con los filtros tipo Chamberland mencionados en el punto anterior. Luego se somete en cápsulas de porcelana a la calcinación en mufla a 550±50 °C durante 20 minutos. Posteriormente se debe pesar lo retenido en las cápsulas de porcelana con balanza (±0,1mg) (APHA, 1989).

#### Materia orgánica del sedimento

Las muestras de sedimento para la determinación del contenido de materia orgánica son analizadas mediante el método de ignición o incineración. Una alícuota del sedimento se coloca en crisoles de porcelana, previamente secadas en estufa, y pesadas en balanza de precisión (±0,1mg) (APHA, 1989) se llevan a mufla durante 3 horas a una temperatura de 500 °C (figura 5). Luego se coloca la muestra en un disecador para enfriar y luego pesar. Así se obtiene el peso seco libre de cenizas y el contenido de materia orgánica se calcula a partir de la diferencia de peso antes y después de la ignición.



Figura 5 · Ejemplo de mufla para incineración de materia orgánica.

# Análisis microbiológico

Se puede definir el análisis microbiológico como el conjunto de operaciones para determinar los microorganismos patógenos presentes en una muestra de agua, ya sean bacterias, virus y protozoarios y que pueden proceder de contaminaciones de tipo fecal.

Las muestras de 500 mL deben recolectarse en frascos estériles. En todos los casos los envases se llenarán por completo para excluir el aire. Su análisis debe comenzar idealmente antes de que hayan transcurrido 6 h desde el momento de la toma de muestras. A los fines prácticos pueden mantenerse refrigeradas a 4 °C durante un período máximo de 24 h antes de su análisis.

Las bacterias coliformes son ciertas especies bacterianas pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae. El método de determinación de coliformes totales consiste en desarrollar una prueba presuntiva en el que una reacción negativa excluye la presencia del grupo coliforme. Si se observa crecimiento bacteriano con producción de gas a las 24 h o antes, la presencia de bacterias coliformes se considerará confirmada, prosiguiendo con el método del filtro de membrana para conteo. Las bacterias coliformes de origen fecal son capaces de fermentar la lactosa, con producción de ácido y de gas a 44 °C, en un tiempo máximo de 24 h. El método consiste en la determinación del número de coliformes mediante filtración de volúmenes determinados del agua a analizar por filtros de membrana e incubación sobre medio de lactosa enriquecido. La densidad se estima como el total de coliformes totales cada 100 mL de muestra (Método 9221, 9222 y 9223: APHA, 1998).

# Otras variables o parámetros a medir

Como se mencionó anteriormente, además de las mediciones básicas para una evaluación diagnóstico de calidad de agua, puede ser necesario tomar muestras para determinar metales, plaguicidas y contaminantes emergentes tales como productos farmacéuticos y de cuidado personal, microplásticos, nanopatículas, entre otras.

#### Metales

Previo al trabajo de muestreo es necesario considerar si se pretende analizar metales disueltos o totales, ya que el procedimiento de preservación y los pasos a seguir pueden variar. Es posible utilizar envases esterilizados, plásticos o de vidrio, para la recolección de las muestras en campo. En el caso de realizar un análisis de metales disueltos la muestra debe ser filtrada (filtro de 0,45  $\mu m$ ) al momento de la colecta o lo antes posible. Se recomienda el uso de equipos de filtrado de vidrio o plástico para evitar posible contaminación de la muestra. Para la determinación de metales totales en muestras acuosas, estas no necesitan ser filtradas, solo preservadas en ácido.

La preservación ácida de las muestras puede realizarse en campo, posterior a la colecta de esta, normalmente son suficientes 3 mL de hno (1:1) por litro de muestra. Sin embargo, para evitar los riesgos asociados al transporte y manejo en campo de ácidos fuertes y posible contaminación de los reactivos es recomendado que las muestras sean enviadas al laboratorio y preservadas ácidamente allí mismo. Una vez acidificadas, las muestras deberían ser mezcladas y su pH verificado unas 16 horas después, si el pH no estuviera por debajo de 2 debe repetirse la acidificación. El pH debería ser verificado previo al envío de las muestras para procesamiento y determinación de los metales de interés para asegurar que su preservación ácida fue exitosa.

Particularidades: Cr<sup>+6</sup> y Hg deben ser refrigerados (además de acidificados). El tiempo de conservación de las muestras para análisis de Cr<sup>+6</sup> y Hg es de 24 h y 28 días, respectivamente. Además, requieren tamaños mínimos de muestras (300 mL para Cr y 500 mL para Hg). Para análisis de Hg, se recomienda adicionar a la muestra una solución de ácido nítrico concentrado y dicromato de potasio (5 mL por 300 mL de muestra,

solución de 300 ml de ácido nítrico concentrado y 30 g de dicromato de potasio completando el volumen de 1000 ml con agua destilada).

Las determinaciones de metales se pueden realizar mediante espectrofotometría absorción atómica y técnicas colorimétricas (Cr<sup>+6</sup>) (Método 1.5 difenilcarbazida Standard Methods, 14 th. Edition).

# **Plaguicidas**

En las últimas décadas en Argentina se intensificaron los cambios en el modo de uso de la tierra (Iturburu *et al.*, 2019) junto con la simplificación de los sistemas productivos, el aumento del uso de insumos agopecuarios (plaguicidas y nutrientes), la intensificación de la producción ganadera y la expansión de la frontera agrícola (Andrade *et al.*, 2021, Van Opstal *et al.*, 2022). Los plaguicidas empleados pueden alcanzar los cursos de agua dulce superficial por escorrentía, infiltración o por la fumigación directa sobre ellos. También puede percolar a acuíferos freáticos y profundos que es la única fuente de agua en muchas zonas rurales. Esto ocasiona riesgos ambientales que es preciso considerar y cuantificar.

Para el análisis de plaguicidas en ecosistemas acuáticos, se emplean botellas de vidrio color caramelo y antes de tomar la muestra se enjuagan dos veces con agua del ambiente a estudiar. Las muestras se mantienen refrigeradas a 4 °C y se transportan al laboratorio. En caso de que no sea posible su estudio inmediato, pueden congelarse a -20 °C hasta 6 meses.

Los métodos utilizados tradicionalmente en el análisis ambiental de plaguicidas se han basado en técnicas cromatográficas, tanto líquida (CL) como gaseosa (CG). Más tarde, entre los años 70 y 80, el acoplamiento de la espectrometría de masas (MS) ha permitido desarrollar métodos de CG altamente sensibles y selectivos siendo, posiblemente, una de las técnicas más usadas en este campo en la actualidad.

Al igual que la CG, la CL ha hecho uso de espectrometría de masas en tándem (MS/MS) como sistema de detección, permitiendo así disponer de

métodos altamente sensibles, selectivos y rápidos (Aparicio *et al.*, 2015). Esta técnica presenta la ventaja de permitir la determinación de ciertos plaguicidas mediante inyección directa de muestras acuosas (Marín *et al.*, 2006). A su vez, se obtiene una mayor rapidez en los análisis con el empleo de la cromatografía líquida de ultra alta—resolución (UHPLC). La técnica de UHPLC no solo tiene mayor velocidad de análisis que la HPLC tradicional, sino que presenta mayor resolución, lo que está relacionado con una mejor identificación de los plaguicidas en los análisis (De Gerónimo *et al.*, 2014). Tanto CG—Ms/Ms como la CL—Ms/Ms son técnicas muy poderosas empleadas actualmente en las determinaciones ambientales de plaguicidas. La elección de una u otra dependerá de las propiedades del plaguicida a estudiar.

Antes de la inyección cromatográfica, se deben realizar estudios de influencia de la matriz en el analito, realizando curvas de calibración del solvente y de la matriz. Es importante informar el límite de detección y de cuantificación para cada analito estudiado y validar la metodología empleada con estudios de recuperación, selectividad, linealidad, precisión, repetibilidad y eficiencia de ionización.

Dado que las técnicas cromatográficas, si bien constituyen técnicas de referencia, requieren de equipos costosos y personal altamente calificado, se ha trabajado en el desarrollo de alternativas analíticas que sean más simples, rápidas y económicamente sustentables que los métodos cromatográficos tradicionales. En este sentido, en las últimas décadas, se han implementado diversos ensayos inmunoquímicos para el análisis de diferentes grupos de plaguicidas. Estos métodos están basados en la interacción específica antígeno—anticuerpo (Ag—Ac) (Aparicio *et al.*, 2015). Las principales ventajas analíticas de los métodos inmunoquímicos son la simplicidad y rapidez de las determinaciones, su alta sensibilidad y selectividad, el bajo costo del análisis y la posibilidad de analizar en paralelo un gran número de muestras. Además, la preparación de la muestra es simple, pero a pesar de estas importantes ventajas, los ensayos inmunoquímicos no están exentos de limitaciones, como los posibles efectos de los factores ambientales. Otros

inconvenientes importantes de las metodologías inmunoquímicas es que solo permiten la determinación de uno o dos analitos simultáneamente y pueden presentarse resultados falsos positivos.

Recientemente, los inmunoensayos están ganando aceptación como simples y rentables métodos de barrido (screening), permitiendo así eliminar las muestras negativas. Sin embargo, las muestras positivas requieren una posterior confirmación mediante un método de referencia que, en la mayoría de los casos, es cromatográfico.

Con el gran desarrollo que está teniendo la nanotecnología en la actualidad, los nanosensores prometen ser una alternativa sencilla, rápida, económica y viable para el monitoreo y detección de varios contaminantes. Los nanosensores son estructuras del orden de los nanómetros (1x10<sup>-9</sup> m), generalmente compuestos de copolímeros en bloque, nanopartículas de metales, nanoclusters, nanotubos, nanoarreglos tipo receptor—ligando, entre otros (Fernández Barbero *et al.*, 2009). Las nanopartículas actúan como pequeñas antenas y amplifican la señal del espectro de la muestra, permitiendo la detección de cantidades extremadamente pequeñas del compuesto. Si el analito no tiene afinidad por la nanopartícula, este no se acerca lo suficiente como para amplificar el campo y poder registrar el espectro.

En años recientes, el empleo de biosensores también ha ido ganando interés en la detección de plaguicidas en el ambiente. Los biosensores están conformados por un elemento biológico de reconocimiento (célula, receptor, ácido nucleico, enzima, anticuerpo, entre otros) asociado a un mecanismo de detección e interpretación de la señal obtenida de la interacción entre el analito y el dispositivo analítico. Los biosensores presentan alta sensibilidad, especificidad, reproducibilidad y sencillez; además son de fácil manejo, bajo costo y corto tiempo de análisis, no requieren de tratamientos previos de las muestras y permiten la obtención de resultados *in situ* (Patel, 2002 cit. en Aparicio *et al.*, 2015).

#### **Contaminantes emergentes**

La ocurrencia de contaminantes emergentes (CE) en el ambiente, se reconocieron como una nueva clase de contaminantes. Solo recientemente algunos países están elaborando niveles máximos permitidos de algunos CES. Los CECS incluyen (pero no están limitados) a: productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCPS), compuestos perfuorinados (PFCS), contaminantes orgánicos persistentes (POPS) y nanomateriales (NMS). En las últimas décadas se desarrollaron nuevos métodos e instrumentos analíticos que permiten la detección de concentraciones traza de varios CES en múltiples muestras ambientales, tales como muestras de aguas residuales, efluentes, suelo, sedimento, biota, aguas superficiales y profundas y agua de bebida, resumidos entre otros, por Llorca *et al.* (2017), Qi *et al.* (2018); Peña—Guzmán *et al.* (2019).

En cada caso, la toma de muestras y la metodología de análisis y cuantificación varía según el tipo de contaminante a evaluar.

#### Productos farmacéuticos

La toma de muestras de productos farmacéuticos se realiza siguiendo las mismas recomendaciones que las detalladas anteriormente para la obtención de muestras de agua dulce superficial. También disponibles en el Protocolo de Muestreo, Transporte y Conservación de Muestras de Agua con Fines Múltiples de INTA (2011).

Bajas concentraciones de medicamentos pueden causar disrupción de procesos fisiológicos, que pueden afectar a los sistemas nervioso y endócrino de organismos acuáticos (Bringolf *et al.*, 2010). En Argentina hay pocos registros de antibióticos sintéticos (quinolonas) en ambientes debido a que no existen programas de monitoreo para distintos CEs. Se registraron en agua subterránea de *feed lots* de Santa Fe, Córdoba y Santiago del Estero (Kergaravat *et al.*, 2018a) y en agua superficial de reservorios de la Reserva Urbana del Oeste (Reno *et al.*, 2018a). Se desarrolló un método para la detección de quinolonas (Kergaravat *et al.*, 2018b) en muestras de agua.

#### **Nanomateriales**

Si bien los nanomateriales (NMS) se han producido durante décadas, su producción industrial se incrementó recientemente (Bour et al., 2015). Los NMS y nanopartículas (NPS) poseen al menos una dimensión menor a 100 nm. Debido a su composición, pequeño tamaño y forma, las NPS muestran propiedades fisicoquímicas únicas que permiten diversas aplicaciones tecnológicas. Sin embargo, las mismas características que las hacen tan atractivas por sus aplicaciones, pueden generar un riesgo para el ser humano, la biota y el ambiente (Nowack y Bucheli 2007; Beer et al., 2012) debido a que pueden interferir con actividades físicas, químicas y biológicas de los organismos causando modificaciones estructurales o desequilibrios funcionales (Handy et al., 2008). Actualmente, existe un gran desconocimiento sobre la inocuidad y el grado de toxicidad de las diferentes y cada vez más variadas NPs que se vuelcan al ambiente (Khan y Shanker, 2015). Aún a nivel global es incipiente el estudio de los efectos de NMs sobre la biota acuática, a pesar de que los cuerpos de agua son un sumidero de contaminantes inorgánicos y orgánicos co-ocurrentes (Bundschuh et al., 2018).

En Argentina, son muy recientes y sumamente escasos los estudios de efectos ecotoxicológicos de NPS, registrándose trabajos en condiciones de laboratorio, de NPS metálicas en organismos acuáticos, tales como bacterias, microalgas, microcrustáceos, peces y anfibios. En estos estudios se analiza el efecto de NPS previamente sintetizadas por métodos químicos o biológicos (Davico *et al.*, 2015; Ibarra *et al.*, 2015; Bacchetta *et al.*, 2016; Svartz *et al.*, 2017; Ale *et al.*, 2018; Lajmanovich *et al.*, 2018; Romero *et al.*, 2020, 2021; Kergaravat *et al.*, 2020, 2021).

La toma de muestras para caracterización de nanopartículas se realiza teniendo especial cuidado de no contaminar las muestras. Todo el material de muestreo y los recipientes deben ser lavados con agua ultrapura MiliQ. El instrumental que se utiliza para investigación con nanomateriales debe ser exclusivo y no compartirse con otras actividades que se realizan en los laboratorios.

Entre las NPs de metales, se destacan por su potencial toxicidad las NPs de Ni, Cd, Cr, Ag, Cu, Zn, Co y Pb. La toma de muestras ambientales debe realizarse por triplicado en contenedores de PVC (0,5 L), enjuagado tres veces con el agua del sistema a estudiar, previo a su llenado. Se realiza un pretratamiento para concentrar la muestra, luego se acidifica y la fracción metálica se mide con espectrofotometría de Absorción Atómica. Se calibra la muestra con soluciones de NPs de concentración conocida que fueron sometidas a un proceso completo de extracción y medidas de igual forma que las muestras ambientales. La caracterización y distribución de tamaños de NPs puede realizarse por sp-ICP-MS (Lingxiangyu *et al.*, 2016). Ver otros métodos de caracterización física y química de nanomateriales, en el apartado siguiente.

Por otro lado, NMS no metálicos con posible efecto negativo (Quantum Dots, nanotubos de carbono, entre otros) se han identificado en matrices ambientales tales como el agua dulce superficial, efluentes de distinto origen, lixiviados pos tratamiento de residuos sólidos urbanos, suelo y sedimento. Gottschalk *et al.* (2013) realiza una revisión histórica (desde 2008), de las determinaciones de NMS en muestras ambientales, las distintas técnicas de análisis empleadas, sus alcances y limitaciones.

En comparación con los análisis de NP inorgánicas en compartimientos ambientales, el análisis de NP orgánicas es aún muy incipiente. Las técnicas analíticas para NP orgánicas, se han desarrollado para fulerenos y nonotubos de carbono, pero son poco selectivas en relación con las altas concentraciones ambientales de carbono (interferencia de la matriz). Asimismo, son necesarias mejores técnicas de extracción para evaluar NP orgánicas en muestras ambientales y para diferenciar entre NPS naturales y manufacturadas (Bundschuh *et al.*, 2018).

# Caracterización física y química de nanomateriales

Las técnicas de detección, caracterización y cuantificación de NMS son, entre otras (Yu *et al.*, 2013): Cromatografía hidrodinámica (CHD) acoplada con ICP—MS, Fraccionamiento de flujo de campo (FFF) por su eficiencia de separación y capacidad de acoplamiento con varios detectores, por

ejemplo, FFF—ICP—MS; por otro lado, TEM/SEM—EDS/UV—vis son técnicas aplicadas para caracterizar la presencia de NPS y la cuantificación de los iones puede realizarse por ICP—MS o espectrofotometría de AA. La microscopía electrónica de alta resolución también proporciona directamente el número y área superficial de las partículas, y, cuando se combinan sus resultados con los de espectrometría de rayos X de energía dispersiva (EDX), se consigue información valiosa sobre la composición elemental de los nanomateriales analizados.

La distribución de tamaños y caracterización de las poblaciones de partículas y potencial se realiza por Dispersión Dinámica de la Luz (DLS) utilizando un Nano Zetasizer SD. En pruebas de laboratorio, existen desarrollos eficientes y menos costosos, por ejemplo, la voltametría de redisolución anódica (SWASV) usando un electrodo de film de bismuto (BIFE). Las determinaciones mencionadas se realizaron, entre otras, en tejidos biológicos, agua superficial, efluentes y en medios de cultivo (Romero *et al.*, 2020; Kergaravat *et al.*, 2020).

# Microplásticos

Los microplásticos son pequeñas piezas de plástico que provienen de una gran variedad de fuentes, incluidos los cosméticos, ropa, artículos de pesca, deshechos plásticos de uso cotidiano y de procesos industriales, que pueden contaminar el ambiente. Se discute a partir de qué tamaño pueden ser considerados microplásticos, aunque la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica (NOAA) considera < 5 mm de diámetro.

Actualmente se los clasifica en microplásticos primarios, fabricados específicamente para ser utilizados en productos y microplásticos secundarios, que derivan del proceso de deterioro de desechos plásticos más grandes. Ambos tipos permanecen en el ambiente en altas concentraciones luego de su vuelco en ecosistemas acuáticos. Debido a que no son biodegradables y solo se desintegran en partes más pequeñas, los microplásticos pueden ser absorbidos o ingeridos por muchos organismos acuáticos.

Para la recolección y el procesamiento de las muestras se recomienda filtrar un volumen conocido de agua dulce superficial con un copo o red de no más de 300 micras de abertura de malla. Se enjuaga el copo completamente desde el exterior y se vierte el resto de la muestra a través del tamiz. Este paso debe ser repetido hasta que ya no haya partículas dentro del copo.

Luego, se debe concentrar todo el material en el tamiz y con un embudo, se enjuaga el tamiz en un frasco de vidrio o botella de plástico con 70 % de etanol. Posteriormente se cierra la botella, se limpia con toallas de papel y se rotula en la parte superior de la tapa y en la parte exterior del recipiente con el nombre de la muestra y la fecha con un marcador resistente al agua. Finalmente, se transporta la muestra al laboratorio para su posterior análisis.

En el laboratorio, se toma una pequeña cantidad de la muestra (submuestra), se coloca en una placa de Petri y se analiza con microscopio estereoscópico. Se miden las partículas con regla ocular y se clasifican según tablas estandarizadas.

Algunas de las técnicas de cuantificación química de los microplásticos son por Espectroscopia ATR—FTIR y Espectroscopía micro—FTIR ATR. Por último, se recomienda un análisis químico de la cantidad total o la más alta posible de partículas por muestra. El resultado final será mostrar si una partícula dada es de plástico o no, e indicar el tipo de plástico a partir de la estructura química (Manca *et al.*, 2016).

Wanda Polla <sup>1</sup>
Melina Devercelli <sup>23</sup>

# 3. Fitoplancton

#### Introducción

El fitoplancton (del griego, *fito:* planta; *plancton*: errante) es el ensamble de microorganismos autótrofos que viven suspendidos en la columna de agua durante toda o gran parte de su vida, conformado por microalgas y cianobacterias. Si bien la nutrición autotrófica es su principal característica, algunas especies pueden alimentarse alternativamente por heterotrofia ante condiciones de escasez de luz y de nutrientes. Para mantenerse en suspensión en la columna de agua y disminuir la velocidad del hundimiento, presentan estrategias morfológicas como púas, espinas y protuberancias, mientras que otras tienen la capacidad de generar vesículas intracelulares de gas y lípidos y envolturas mucilaginosas.

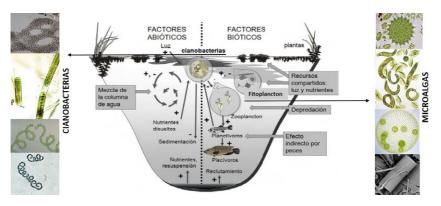
<sup>1.</sup> Facultad de Humanidades y Ciencias, UNL.

<sup>2.</sup> Instituto Nacional de Limnología (INALI, CONICET, UNL).

<sup>3.</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

El fitoplancton habita en todos los cuerpos de agua: lagunas, cañadas, esteros, pantanos, turberas, ríos, arroyos, mares y océanos. La diversidad taxonómica y funcional de los organismos que componen el fitoplancton les permite habitar en una amplia variedad de condiciones, desde aquellas con condiciones de luz, temperatura y nutrientes ideales para su desarrollo hasta otras más extremas en donde solo unos pocos organismos son capaces de tolerarlas (Margalef, 1983).

La importancia del fitoplancton en los ambientes acuáticos reside en que, por su diversidad morfológica, fisiológica y funcional, interviene en numerosos procesos ecosistémico. Junto con las bacterias, es responsable de la captación y transferencia de energía y materia en la trama trófica, y cumple un papel fundamental en los ciclos biogeoquímicos del carbono, el fósforo y el nitrógeno. Constituye un buen indicador de los procesos que ocurren en los ecosistemas por su capacidad de responder en forma rápida a los cambios ambientales (Whitton y Kelly, 1995) (figura 1).



**Figura 1** · Corte transversal de una laguna de agua dulce. Se muestran las interrelaciones abióticas y bióticas para el desarrollo de cianobacterias y microalgas. Las interrelaciones abióticas (son disponibilidad, resuspensión y reclutamiento de los nutrientes, mezcla en la columna de agua y sedimentación, y disponibilidad de luz). Las interrelaciones bióticas con macrófitas, zooplancton, peces planctívoros y piscívoros (modificado de Bonilla, 2009).

Entre los rasgos morfológicos, el tamaño sintetiza gran parte de la información funcional de los organismos ya que se relaciona con las tasas metabólicas, flotabilidad, captación de nutrientes, entre otros. Pueden clasificarse según su tamaño en picoplancton ( $<2~\mu m$ ), nanoplancton ( $<2~00~\mu m$ ), microplancton ( $<2~00~\mu m$ ) y mesoplancton ( $<2~00~\mu m$ ).

Los principales grupos que componen el fitoplancton de agua dulce son *Cyanobacteria*, *Chlorophyta* (algas verdes), *Bacillariophyta* (diatomeas), *Euglenophyta*, *Cryptophyta*, *Chrysophyta* y *Dinophyta* (figura 2).

El grupo Cyanobacteria es particularmente relevante ya que muchas de sus especies tienen la capacidad de desarrollarse masivamente generando floraciones o «blooms» (Bonilla, 2009). Estas floraciones se encuentran fuertemente asociadas a procesos de eutrofización que consisten en el incremento gradual de la productividad de un ecosistema acuático ocasionado por altas cargas de nutrientes, especialmente fósforo y nitrógeno. Esto conlleva una alteración y deterioro de la calidad de agua y consiguiente disminución de la biodiversidad. En este escenario, es frecuente la aparición de especies potencialmente tóxicas que ocasionan problemas y riesgos sanitarios. Estas toxinas resultan peligrosas aun con bajas densidades de organismos debido a en muy poca concentración pueden resultar letales (Giannuzzi, 2009). Reciben el nombre de cianotoxinas y los dos principales tipos son las *hepatototoxinas* (microcistinas, nodularina, cylindropermopsina) y las *neurotoxinas* (saxitocinas, anatoxina—a, homoanatoxina—a, anatoxina—a).



**Figura 2** • Ejemplo de cianobacterias y microalgas por grupo taxonómico *Fuente: imágenes extraídas de Lund y Lund 1995.* 

# Diseño de muestreo del fitoplancton

La planificación de un muestreo es fundamental para diagramar estrategias metodológicas óptimas. Para ello, resulta útil la observación de mapas, reconocer el área de estudio y detallar el número de estaciones según el objetivo y la heterogeneidad del paisaje. La cantidad de muestras y sitios de muestreo dependerán del propósito del estudio, ya sea taxonómico,

ecológico, de monitoreo o línea de base. En cuanto al horario de toma de las muestras, es conveniente hacerlo siempre dentro del mismo rango, y en caso del desarrollo de floraciones, hay que evitar las horas de máxima insolación.

El muestreo de lagunas, pantanos, arroyos o ríos de poca profundidad se puede realizar desde la orilla o las márgenes, teniendo las precauciones necesarias si hay barrancas o pendientes pronunciadas, y la consistencia del suelo (duro o blando); mientras que en el caso de los embalses, lagos, lagunas y ríos de mayor profundidad se debe acceder con embarcaciones.

La observación del paisaje, el tipo de vegetación, presencia de asentamientos poblacionales, tipos de industrias, puentes y otras construcciones, son datos a tener en cuenta porque condicionan el desarrollo del fitoplancton. La coloración y la turbidez del agua, acumulaciones o franjas densas superficiales o subsuperficiales, son datos valiosos e indicadores de lo que está ocurriendo en el ambiente, y determinarán posibles sitios de muestro.

# Materiales y equipos

De protección personal

- Botas o vadeadores.
- Guantes de látex.
- Gafas de protección.
- Chaleco salvavidas (cuando el muestreo se hace desde una embarcación).
- Cámara fotográfica o celular.

#### Para la colecta de la muestra

- GPS para determinar la localización geográfica.
- Libreta de campo o planillas.
- Lápices y marcadores de tinta indeleble.
- Etiquetas de papel resistente al agua.

- Recipientes de 100 a 300 mL para las muestras cuantitativas del fitoplancton, preferentemente de vidrio y boca ancha con tapa hermética, aunque también pueden utilizarse de plástico (figura 3).
- Recipientes de 50 a 100 mL para las muestras cualitativas.

Los recipientes pueden ser reutilizados lavando con agua (puede utilizarse hipoclorito de sodio diluido) y cepillo para desprender sólidos u organismos adheridos, y luego deben enjuagarse con abundante agua. Los frascos deben identificarse con etiquetas de papel resistentes al agua o utilizar marcadores de tinta indeleble.

Baldes de 5 a 10 litros de capacidad para tomar muestras de agua en caso que sea difícil acceder en forma directa con los recipientes de colecta (figura 3).

- Heladera o conservadora portátil para el traslado y conservación de muestras.
- Botellas de Van Dorn (botella de agua horizontal o vertical). Permiten tomar muestras de aguas a distintas profundidades, en aguas abiertas desde las embarcaciones, en puentes o en las márgenes donde hay vegetación ribereña. Permite tomar un volumen de muestra específico a la profundidad deseada. Las capacidades en general, son de 2 a 5 litros. Están formadas por un cuerpo cilíndrico en pvc blanco o transparente, y presentan cierres laterales circulares, que se activan con un disparador mensajero (figura 3).
- Red de fitoplancton. Permite obtener una muestra concentrada de organismos para el análisis cualitativo del fitoplancton e identificación de especies. El diámetro del poro de la red puede variar entre 10 y 30 µm. Algunas redes tienen un mango rígido y otras poseen una soga para realizar arrastres en el agua (figura 3).

Conservantes para la fijación de muestras

- Formalina (Formaldehido diluido en agua): se utiliza como conservante de las muestras cualitativas a una concentración final del 2 al 5 % final en la muestra.
- Lugol acético (Acido acético y lugol): se utiliza como conservante de las muestras cuantitativas y cualitativas a una concentración final del 1 % en la muestra.



Figura 3 · Materiales utilizados para muestreos en trabajo de campo.

## Obtención de muestras en campo

Las muestras cuantitativas se utilizan para estimar la abundancia total de microalgas y cianobacterias y de las especies que componen el fitoplancton. Se extraen en forma directa con el recipiente de la zona subsuperficial de

la columna de agua, y se fijan *in situ* con Lugol acético a una concentración final del 1 %, o bien hasta que la muestra adquiera color ámbar. Los frascos se deben enjuagar tres veces con el agua del ambiente antes de ser llenados con la muestra. Las muestras deben trasladarse refrigeradas en heladeras con hielo.

Las muestras cualitativas se utilizan para un análisis más detallado y para la identificación de especies. Se obtienen con una red de entre 10 y 30 µm de diámetro de poro. Pueden conservarse vivas (se recomienda no más de 24 hs) para su observación, o fijarse *in situ* con formalina al 2–5 %. Estas son muestras que permiten concentrar una mayor cantidad de organismos para su observación e identificación, y captar una mayor diversidad de la fracción de tamaño determinada por el poro de la red, por lo que no pueden utilizarse para calcular la abundancia de los organismos en el ambiente.

Análisis de las muestras en laboratorio

Cuantificación del fitoplancton

El análisis cuantitativo del fitoplancton consiste en realizar un inventario de los taxa y un conteo de los individuos presentes de cada taxón.

Los métodos cuantitativos más utilizados son:

• Sedimentación de la muestra (Utermöhl, 1958). Para la implementación de este método, se utilizan cámaras de sedimentación con columnas de volumen variable y se observan con microscopio invertido. Las cámaras de sedimentación permiten la concentración del fitoplancton en el fondo de la cámara (figura 4). Se debe homogeneizar la muestra previamente y elegir una columna de sedimentación según el volumen de muestra a procesar. La cámara con la muestra se deja aproximadamente 24 horas sobre una superficie plana para que sedimente uniformemente. Una vez cumplido el tiempo, se retira la columna y se desplaza el vidrio sobre la cámara para llevar al microscopio invertido. Las observaciones se realizan

a un aumento de 400 x aunque puede utilizarse aumentos menores si solo se quiere contar los individuos de mayor tamaño. Una vez colocada la muestra en el microscopio invertido, se cuentan los individuos teniendo en cuenta la forma en la que se presentaban en la naturaleza (células, colonias, filamentos) hasta alcanzar los 100 individuos de la especie más frecuente. En el caso de presentar una baja abundancia algal o una alta concentración de sedimentos, se deben contar tantos campos como fueran necesarios hasta estabilizar el número de especies según el método del área mínima. La estimación de la densidad se calcula teniendo en cuenta el área de cada campo, el número de campos y el volumen de la cámara (figura 4).

Los resultados de los conteos de microalgas o cianobacterias se expresan en abundancia (individuos por mililitro=ind mL<sup>-1</sup>). También se puede calcular su biovolumen (mm³ L<sup>-1</sup>) como se detalla luego.

• Conteos con cámara de Sedgwick-Rafter. Estas cámaras tienen la capacidad para un volumen fijo de muestra (1 mL). Se homogeneiza la muestra y con una pipeta se obtiene una submuestrea de la muestra original. La cámara se observa con microscopio de luz directa, y la identificación de los organismos se realiza mediante recorridos de transectas horizontales. La estimación de la densidad se calcula en forma similar al método de Utermöhl (1958) (figura 4).

En el caso de las cianobacterias, además de contabilizarse el número de individuos, se cuenta el número de células por colonia o por filamento, ya que los niveles guía se encuentran estandarizados en esa unidad. Si la densidad es mayor a 5000 cél mL<sup>-1</sup> se considera una floración (O'Farrell *et al.*, 2016). Otros autores consideran floración cuando los valores alcanzaron los definidos para el Nivel de Alerta 1 que corresponden a 20 000 cél mL<sup>-1</sup> (Chorus y Bartram, 1999).



Figura 4 · Materiales para el laboratorio y observación de muestras.

#### Identificación del fitoplancton

Un paso clave es la identificación de las especies que componen el fitoplancton para lo cual se requiere entrenamiento. Las muestras cualitativas se utilizan como apoyo para la identificación de los organismos, y se observan con microscopio de luz directa. Para el reconocimiento de las especies se utilizan aumentos que van desde los 200x, 400x y 1000x. En muchos casos, no es posible alcanzar una identificación a nivel de especie mediante la morfología de las algas y se requiere de microscopios electrónicos o de la aplicación de otras técnicas. Por ejemplo, para la identificación de las diatomeas se emplea como principal carácter la morfología, ornamentaciones y detalles de las valvas para lo cual se deber realizar un procedimiento de digestión del material orgánico de los individuos (ver capítulo 4, Biofilms). Las determinaciones taxonómicas se realizan siguiendo claves y bibliografía específica de cada grupo algal tales como: Prescott (1978), Komárek y Fott (1983), Komárek et al. (1983), Tell y Conforti (1986), Popovsky y Pfiester (1990), Menezes (1994), Comas González (1996). La bibliografía para las determinaciones de Bacillariophyta se detalla en el protocolo de Biofilm. Para la identificación de Cyanobacteria los autores recomendados son Komárek y Anagnostidis (1999, 2005), Bonilla (2009), Komárek (2014). Las claves generales de Lee (2008) y Bellinger y Sigee (2010) resultan útiles para identificar los grandes grupos y algunas especies, y luego chequearlas con la bibliografía específica.

Las clasificaciones funcionales son otra alternativa para analizar la respuesta del fitoplancton a las condiciones ambientales, en virtud de sus requerimientos ecológicos y sus características adaptativas. En la clasificación de los Grupos Funcionales de Reynolds (Reynolds *et al.*, 2002; Kruk *et al.*, 2017) las especies se asignan a grupos determinados según su tolerancia y sensibilidad a la luz, los nutrientes, la mezcla del agua y las pérdidas por sedimentación y depredación.

Otra opción es la de Kruk (2010) cuya clasificación funcional está basada en rasgos morfológicos (grupos funcionales basados en la morfología). Esta clasificación requiere de un menor grado de experticia que la propuesta por Reynolds *et al.* (2002) y agrupa a las algas en 7 grupos a partir de 9 rasgos identificables con microscopio óptico (Kruk *et al.*, 2010).

# Indicadores del fitoplancton

La densidad o la biomasa total del fitoplancton resulta un buen indicador de los procesos ecosistémicos. La biomasa algal se encuentra particularmente asociada a procesos de eutrofización. Una de las formas de estimarla es mediante el biovolumen. Para su cálculo se obtienen mediciones de las dimensiones celulares a por lo menos 25 individuos y de cada especie.

Con estos valores se calcula un volumen medio por cada especie a partir de aproximaciones a la forma geométrica más cercana (Hillebrand *et al.*, 1999; Sun y Liu, 2003) que luego se multiplica por la densidad de dicho individuo (ind. mL<sup>-1</sup>). Las estructuras celulares en las microalgas como espinas, setas y flagelos no son incluidas en el cálculo del biovolumen. La unidad en la que se expresa el biovolumen es um³ mL<sup>-1</sup> o mm³ L<sup>-1</sup>.

En el caso de las cianobacterias, el biovolumen y el número de células se relaciona con los niveles guías establecidos de las toxinas en agua ya sea para usos recreativos u otros usos que puedan afectar la salud. Si bien no existen definiciones de estándares en Argentina, la Comisión Administradora de Río Uruguay emplea una tabla de valores adaptados de las regulaciones de distintos países del hemisferio sur y de la oms.

El desarrollo de una floración puede ser un proceso natural del ambiente o indicadora de una modificación, y es posible observarlas a simple vista. En un ambiente lótico, puede indicar algún cambio en las condiciones hidrológicas o hidráulicas. Sin embargo, no siempre las floraciones son visibles, ya que algunas poblaciones pueden presentarse dispersas en toda la masa de agua o concentrarse a cierta profundidad, por lo que es necesario analizarlas con microscopio (Meichtry de Zaburlín *et al.*, 2009).

Los índices de diversidad también pueden utilizarse como indicadores de cambios ambientales. Algunos de ellos son la diversidad específica que se calculan con el índice de Margalef (1958) y de Shannon y Weaver (1949) y la riqueza que tiene en cuenta el número de taxa.

También existen otros índices basados en especies o grupos taxonómicos, aunque no siempre resultan adecuados en todos los ambientes por lo que debería ser validada y analizada su respuesta. Para la provincia de Santa Fe y el país existen algunas experiencias en la aplicación de bioindicadores para la calidad de agua (Polla *et al.*, 2016; Frau *et al.*, 2018; Licursi y Gómez, 2003; Bazán *et al.*, 2014; Frau *et al.*, 2019). Algunos de ellos son:

#### Índice de clorofíceas (Thunmark, 1945)

Este índice relaciona el número de taxones de Chlorophyta del tipo clorococales y desmidiales, y es utilizado en ambientes leníticos. Si los valores son menores o iguales a 1, el ambiente es calificado como oligotrófico y si los valores son superiores a 1 es calificado como eutrófico.

 $\frac{\text{Índice de cloroficeas}}{N^{\circ} \text{ de taxones de clorococales}}$ 

# Índice Compuesto (IC) (Nygaard, 1949)

Este índice establece relaciones entre el número de taxones de algas planctónicas de ambientes oligotróficos y el número de taxones de aguas eutróficas. Si las primeras predominan, se espera que el sistema sea de buena calidad, y si lo hacen las segundas, las condiciones del agua pueden no serlo.

Si el valor es <1 indica un ambiente oligotrófico, entre 1–2,5 el ambiente es mesotrófico, 3–5 moderadamente eutrófico, y si es > 5 el ambiente es eutrófico.

IC= N° de taxones Cyanobacteria + clorococales + diatomeas céntricas + Euglenophyta

N° de taxones desmidiales

# Índice Euglenal (Nygaard, 1949)

Utiliza la riqueza de diferentes grupos del fitoplancton: *Euglenophyta*, *Cyanobacteria*, *Chlorophyta* del tipo clorococales. Determina la calidad trófica de lagunas y ríos de pequeño tamaño en oligotróficos, mesotróficos y eutróficos.

# Índice de Pantle y Buck (1955)

Este índice se basa en el sistema de saprobios de Kolkwitz y Marson (1908) que consiste en calcular inicialmente la frecuencia (h) de los diversos taxones. La frecuencia (h) se expresa en números absolutos. Pantle y Buck (1955) utilizaron solo tres grados de frecuencia: 1: hallazgos casuales, 3: hallazgos frecuentes y 5: hallazgos abundantes. Posteriormente, se asigna un valor sapróbico (s) a cada organismo (Sládecek, 1973). El valor s oscila entre 1 y 4 siendo s=< 1.5, organismos oligosapróbicos; s=1.5-2.5, organismos beta—mesosapróbicos; s=2.5-3.5, organismos alfa—mesosapróbicos y s=3.5-4, organismos polisapróbicos.

A partir de esta clasificación se halla el índice de saprobiedad a los ambientes según la fórmula:

$$SI = \sum (s \times h) / \sum h$$

Donde: s1= valor del índice de saprobiedad obtenido; s= valor sapróbico de la especie individual según Sladecek (1973) y h= frecuencia de cada especie encontrada según los tres grados de frecuencia de aparición: 1 (casuales, < 20 %), 3 (frecuentes, de 20 a 60 %) y 5 (abundantes, > 60 %).

# Índice de Felföldy (1987)

Se basa en la abundancia total de fitoplancton (ind mL<sup>-1</sup>) con lo cual se determinan categorías de estado trófico.

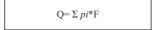
Estado trófico	Abundancia (ind mL <sup>-1</sup> )
Atrófico	0
Ultra oligotrófico	<10
Oligotrófico	10–50
Oligo mesotrófico	50-100
Mesotrófico	100-500
Meso-eutrófico	500–1000
Eutrófico	1000–10.000
Eupolitrófico	10.000–100.000
Politrófico	100.000–500.000
Hipertrófico	>500.000

# Índice de Integridad Biótica para el Río de la Plata IBIRP (Gómez y Cochero, 2013)

Es un índice multimétrico desarrollado para el estuario del Río de la Plata que utiliza información del fitoplancton y otras comunidades tales como: abundancias de cianobacterias planctónicas y microalgas y dos ensambles bentónicos (diatomeas e invertebrados (% Tanaidacea). Aporta información sobre la integridad biótica que puede asumir valores entre o (muy mal estado) y 10 (muy buen estado).

# Índice Q (Pádisak et al., 2006)

Es un índice que se calcula sobre la base de grupos funcionales del fitoplancton (Reynolds *et al.*, 2002). El uso del índice Q surgió en Europa y se amplió a otras latitudes del mundo (Crossetti y Bicudo, 2008; Santana *et al.*, 2017; Frau *et al.*, 2019).



Donde pi = ni/N; ni es la biomasa del grupo funcional y N el biovolumen total de fitoplancton; F es el factor con un número asignado para cada GFR de fitoplancton. Rango de Q varía de o a 5 para indicar la calidad del agua, donde: O—I=«Mala», I—2 =«Regular», 2—3=«Moderada», 3—4=«Buena», 4—5=«Excelente».

Magdalena Licursi <sup>1</sup>

# 4. Biofilms

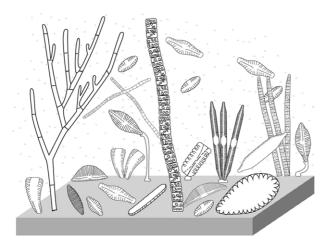
#### Introducción

Una parte fundamental de los ecosistemas fluviales, incluyendo los servicios ecosistémicos que ellos sustentan, es la comunidad del perifiton (también llamada Biofilm). Esta comunidad es la capa viscosa que se encuentra recubriendo las rocas, sedimentos, plantas y sustratos artificiales sumergidos (figura 1). Se compone principalmente de algas, hongos bacterias, protozoos y pequeños invertebrados, incluidos en una matriz gelatinosa de polisacáridos. Su apariencia varía desde una película delgada de color marrón o verdoso, a gruesas matas de color oscuro, con masas de filamentos verdes o marrones. Por su actividad, el biofilm constituye un auténtico microsistema en el cual las algas absorben nutrientes inorgánicos y emplean la energía solar, mientras que los heterótrofos aprovechan la materia orgánica disuelta, así como los excedentes sintetizados por los productores primarios vecinos (Sabater *et al.*, 1993).

<sup>1.</sup> Instituto Nacional de Limnología (INALI, CONICET, UNL).

De acuerdo con el tipo de sustrato sobre el cual se desarrolla el biofilm se denomina:

- epifiton, sobre macrófitas acuáticas;
- epiliton, sobre piedras;
- episammon, sobre arena;
- epipelon, sobre sedimentos finos;
- epixilon, sobre madera sumergida.



**Figura 1** · Esquema que representa la disposición de las algas en el biofilm *Fuente: extraído de Licursi, 2005.* 

El presente protocolo se centra en el análisis de la fracción autótrofa del biofilm y su utilización en la evaluación de la calidad del agua. Para la elaboración del mismo se tuvieron en cuenta las recomendaciones incluidas en los siguientes documentos:

• Charles et al. (2002) ANSP Protocols for Analysis of NAWQA Algae Samples

- Barbour *et al.* (1999) Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers.
- Metodología para el establecimiento del estado ecológico según la directiva marco de la Cuenca Hidrográfica del Ebro.

## Técnicas de muestreo

Los sistemas acuáticos de la provincia de Santa Fe presentan en sus lechos el predominio de sedimentos arenosos o limoarcillosos (Bertoldi de Pomar et al., 1983), razón por la cual en el presente protocolo se brindarán recomendaciones para el muestreo de episammon y epipelon y su utilización como bioindicador de calidad del agua. Al llegar al sitio de muestreo se recomienda recorrer el sitio y seleccionar un tramo de 10 m del río o arroyo dentro del cual se definirán 5 (cinco) puntos de muestreo espaciados equitativamente para la toma de muestras. En sitios que presentan variaciones del nivel del agua es importante que el sustrato a muestrear haya permanecido cubierto por el agua al menos durante 8 semanas para asegurar una comunidad madura. Si en el sitio de muestreo se evidencia el ingreso de una fuente de contaminación puntual (descarga de efluente) el tramo seleccionado para realizar el muestreo debe situarse unos metros aguas abajo, en una zona en que el vertido se haya mezclado con el agua del río/arroyo para que la muestra sea representativa del sitio. Se recomienda tomar muestras por triplicado.

# Recomendaciones generales

- Evitar zonas sombreadas y áreas debajo de puentes.
- Evitar zonas recientemente disturbadas.
- Evitar tomar sustratos de zonas inundadas recientemente.

- Seleccionar sitios para la toma de muestra que sean lo más representativo posible del tramo seleccionado. Evitar zonas de excesiva corriente y zonas de agua estancada.
- Evitar disturbar el sustrato a muestrear accediendo al punto de muestreo desde la orilla.
- Iniciar el muestreo en el punto aguas abajo del tramo y proceder en los sitios aguas arriba minimizando el disturbio y contaminación de las muestras.
- Cada muestra estará integrada por 5 unidades muestreales (submuestras colectadas en cada punto de muestreo definido dentro del tramo).
- En el punto de muestreo se debe colectar la muestra en un sustrato en el que se advierta la presencia de biofilm (superficies parduzcas resbaladizas) y que se encuentre sumergido a una profundidad a la que penetre la luz, no menor de 10 cm.
- Hay ocasiones en que no es posible establecer un tramo de 10 m en el sitio a muestrear por la presencia de estructuras o modificaciones físicas del curso de agua; en este caso se deberán colectar las muestras en el tramo accesible y registrar el impedimento y la longitud efectiva del tramo muestreado en la sección Observaciones de la planilla de muestreo.
- Información que se debe registrar en las etiquetas de los recipientes de las muestras:
  - Sitio
  - Fecha
  - Tipo de muestra (ES: episammon, EP: epipelon)
  - Superficie total muestreada

#### **Materiales**

• Planilla de muestreo y lápiz para registrar detalles de la extracción de muestra (sustrato muestreado, área, cantidad de réplicas, etcétera).

- Recipiente para la muestra.
- Etiquetas resistentes al agua / rotulador indeleble.
- Muestreadores: aspirador (sustratos limo–arcillosos), core o jeringa sin su ápice (sustrato arenoso) (figura 2).
- Piseta con agua destilada.
- Fijador: ser recomienda formol al 4 %.

#### Toma de muestras

### Muestreo del episammon

- Cada muestra del sitio estará integrada por 5 submuestras (1 por cada punto de muestreo dentro del tramo).
- Utilizar un core (o jeringa sin su ápice) para extraer los primeros 5 mm de sedimento teniendo en cuenta las recomendaciones de muestreo mencionadas previamente.
- Colocar 30 mL de agua destilada en el recipiente rotulado destinado a la muestra.
- Extraer 1 core por punto de muestreo a lo largo del tramo (5 cores en total), integrando los 5 cores extraídos en el mismo recipiente.
- Fijar la muestra con formol al 4 %.
- Realizar todo el procedimiento 3 veces para obtener muestras por triplicado del sitio.
- Enjuagar con abundante agua el core utilizado para extraer la muestra.

# Muestreo del epipelon

- Cada muestra del sitio estará integrada por 5 submuestras (1 por cada punto de muestreo dentro del tramo).
- Utilizar un aspirador (figura 2) para extraer la muestra teniendo en cuenta las recomendaciones de muestreo mencionadas previamente.

- Apoyar el aspirador en la superficie del sedimento (sin enterrarlo). Aspirar la capa superficial de sedimento (primeros 5–10 mm), que corresponde a la fotositénticamente activa. En el aspirador presentado en la figura 2 (consistente en pipeta de 10 ml sin punta con una propipeta en el extremo superior) la succión de 4 ml corresponde a 1 cm² de superficie del sedimento.
- Transferir la muestra colectada al recipiente rotulado correspondiente al sitio.
- Integrar en el recipiente las 5 submuestras correspondientes al tramo en el recipiente.
- Fijar la muestra con formol al 4 %.
- Realizar todo el procedimiento 3 veces para obtener muestras por triplicado del sitio.
- Enjuagar con abundante agua el aspirador utilizado para extraer la muestra.

#### Procesamiento de las muestras

Las microalgas que conforman biofilms han sido ampliamente utilizadas para evaluar la calidad del agua. Son especialmente útiles en la detección y seguimiento de los efectos de la eutrofización, incrementos de la materia orgánica, salinidad y acidificación en los cuerpos de agua. Las respuestas de esta comunidad se pueden apreciar mediante cambios en la composición específica, disminución en la diversidad, variaciones en la biomasa, entre otras. La mayoría de los índices de calidad del agua están basados en el análisis de las diatomeas, sin embargo, existen algunos índices que se basan en otros grupos de algas no diatomeas. Si el programa de monitoreo establece ambos estudios será necesario realizar el fraccionamiento de las muestras dado que cada análisis requiere de un procesamiento y observación diferencial.



**Figura 2 ·** Muestreadores utilizados para extraer la muestra en sustratos limo–arcillosos (epipelon) y arenosos (episammon).

#### Fraccionamiento

Si la muestra va a ser utilizada tanto para realizar el recuento de las algas de la comunidad de biofilm como para la identificación de diatomeas a nivel específico y su recuento, es necesario realizar un fraccionamiento de la muestra. Este proceso se realiza en el laboratorio, con las siguientes etapas:

- a. Homogenizar completamente la muestra para evitar agregaciones causadas por las formas de crecimiento natural de las algas (colonias, filamentos, etcétera).
- b. Fraccionar la muestra en dos recipientes rotulados adecuadamente (вғ: Biofilm, D: Diatomeas) anotando en una planilla el volumen original de la muestra, la superficie muestreada y el volumen de la fracción destinada

al recuento de toda la comunidad (BF) y la destinada a la identificación de diatomeas (D).

# Las muestras pueden ser:

- Muestra cuantitativa: previamente al fraccionamiento es imprescindible establecer el volumen exacto de la muestra correspondiente a la superficie muestreada y registrarlo en una planilla.
- Muestra cualitativa: dado que no está asociada a un área muestreada específica, no es imprescindible registrar el volumen total de la muestra.

#### Recuento de muestra de biofilm

Materiales y equipamiento necesario

- Cámara Palmer–Maloney (capacidad 0,1 mL).
- Cubreobjetos de vidrio para cámara, rectangular, 22 x 50 mm, espesor # 1.
- Glicerina (grado analítico).
- Pipetas pasteur.
- Microscopio óptico con objetivo 40X (magnificación total de 400X) y platina mecánica.
- Guías de identificación de los diferentes grupos de algas y floras locales. 1

#### Unidad de conteo natural

Las formas de vida de las algas tal como se presentan en el ambiente (es decir, cada filamento individual, colonia o célula aislada) se define como una unidad de conteo natural. Esta forma de recuento «unidades de conteo naturales» evita que una forma colonial o filamentosa domine un recuento

<sup>1.</sup> Algunas recomendaciones: Bourrelly (1966, 1968); Pestalozzi (1983); Streble y Krauter (1987); Cox (1996); Komárek y Anagnostidis (1999, 2005); Biggs (2000); Komárek (2013).

permitiendo obtener distribuciones aleatorias. La única excepción a este tipo de recuento son las diatomeas en las que cada célula se considera como unidad de conteo natural aun cuando se presente unida a otras células.

Preparar la cámara de recuento: coloque el cubreobjetos sobre la cámara de recuento cubriendo 1/3 de la cámara, sin alcanzar la zona central. Mezclar la muestra, cargarla en una pipeta Pasteur y colocar rápidamente la fracción de muestra gota a gota en el centro la cámara. El cubreobjetos comenzará a deslizarse sobre la cámara debido a la tensión superficial. Ajustar los lados del cubreobjetos hasta que cubra la totalidad de la cámara. Colocar glicerina en el espacio existente entre los bordes del cubreobjetos y la cámara para sellar temporalmente.

Métodos de recuento (a 400–450X de magnificación), puede optar entre las siguientes 2 opciones, registrando el método utilizado en la planilla de recuento:

Recuento de campos al azar: identificar y contar las algas en campos al azar. Previamente se debe escanear la cámara para establecer la cantidad de campos necesarios para alcanzar las 300 unidades de conteo naturales (un mínimo de 10 y un máximo de 100 campos al azar). Establecer mediante un método de azar los campos a contar evitando el centro y los bordes de la cámara.

Recuento por transectas: identificar y contar las algas a lo largo de transectas horizontales o verticales que atraviesen la cámara. Establecer un patrón de transectas evitando el centro y los bordes de la cámara. Comenzar el recuento cercano a un extremo de la cámara y completar la transecta. Con el control mecánico de la platina registrar la longitud del desplazamiento de la transecta en la que se realizó el recuento, moverse a la siguiente transecta y continuar el recuento hasta alcanzar las 300 unidades de conteo naturales (mínimo 3 transectas completas).

Los desplazamientos de la platina para cambiar la localización de campo o transecta de recuento se realizan sin mirar a través de los objetivos.

Tiempo de recuento por muestra (300 unidades de conteo naturales): aproximadamente 2–3 horas, no más de 4 horas (descontando el tiempo

destinado a reconocer nueva flora). Contar las unidades de conteo naturales identificando las formas algales al menor nivel taxonómico posible. Contar las diatomeas como «vivas» o «muertas» (considerar vivas si tienen contenido de cloroplasto dentro del frústulo). Para algas formando colonias o filamentos registrar el número de células que integran cada unidad de conteo natural. Continuar el recuento hasta alcanzar las 300 unidades de conteo naturales (en el caso de las diatomeas solo las «vivas» forman parte de las 300 unidades de conteo). A partir de las abundancias relativas de las distintas especies obtenidas del recuento de los preparados permanentes de diatomeas (ver más adelante) se podrá establecer la densidad de cada especie relacionándola con el número de diatomeas «vivas» por unidad de superficie registradas en la cámara de Palmer—Maloney.

Cálculo de la densidad: se establece mediante la siguiente fórmula que tiene en cuenta la cantidad de volumen recorrido en la cámara, los factores dilución/concentración, los fraccionamientos de las muestras y el área muestreada.

$$Densidad\ organismo\ x\ (cm^2) = \frac{N_{org\ x}\ \times FD\ \times\ V_t}{V_c\ \times Sup.}$$

#### Donde:

Norg x: número contado del organismo x, FD: factor de dilución de la muestra utilizado, Vt: volumen total de la muestra (mL), Vc: volumen de la cámara contado (mL), y Sup.: área de sustrato muestreado (cm²).

# Preparación y recuento de muestras de diatomeas

Para poder realizar la identificación de las especies de diatomeas es necesario realizar un procesamiento de la muestra con el fin de eliminar toda la

materia orgánica presente y así poder observar los detalles de la estructura de los frústulos (esqueleto de sílice) de las diatomeas. Hay varios métodos para oxidar la materia orgánica pero en este protocolo se presenta el de peróxido de hidrógeno por ser efectivo y el más adecuado en relación con las condiciones de seguridad de manipulación requeridas. En aguas ricas en carbonato de calcio o con alto contenido de hierro se recomienda un tratamiento adicional con HCL diluido.

## Materiales y equipamiento necesarios

- Campana extractora.
- Material de protección personal: guantes, guardapolvo, antiparras.
- Estufa, baño de arena o agua.
- Centrífuga (opcional).<sup>2</sup>
- Solución de peróxido de hidrógeno (H2O2) al 30 % (100 volúmenes).
- Ácido clorhídrico diluido (1 M) (HCL).
- Piseta con agua destilada.
- Tubos de centrífuga graduados de 15 ml.
- Gradilla metálica para tubos de centrífuga.
- Propipeta y pipeta de vidrio de 10 mL.
- Cubreobjetos y portaobjetos.
- Pipetas Pasteur o pipeta automática y tips.
- Resina artificial de alto índice de refracción (>1.6) Se recomienda Naphrax<sup>®</sup>.
- Varilla de vidrio con punta redondeada.

# Oxidación de la materia orgánica

• Homogenizar la muestra por agitación y transferir entre 5 ml y 10 ml de muestra a un tubo de centrífuga (el volumen a tratar dependerá de

<sup>2.</sup> Nota: si no se dispone de centrífuga se puede dejar sedimentar el material durante la noche y luego eliminar el sobrenadante cuidadosamente y proseguir con el proceso.

la concentración de diatomeas en la muestra, generalmente 5 ml son suficientes).

- En muestras que tienen fijador (ejemplo: formol) es necesario realizar lavados sucesivos mediante centrifugación con agua destilada. Al menos 2 lavados.
- Concentrar la muestra por centrifugación de manera que el volumen final sea de 2 mL.
- Agregar (utilizando pipeta y propipeta) peróxido de hidrógeno en una relación de 1 parte de peróxido de hidrógeno en 2 partes de muestra.
- Colocar en una gradilla metálica los tubos conteniendo las muestras. Importante: las tapas de los tubos deben estar flojas para permitir la salida de vapores y a la vez evitar derrame y contaminación de las muestras.
- Oxidación (2 posibilidades): en estufa a 60 °C durante 10 hs / en baño térmico de arena o de agua a 90 °C durante 3 hs.
- Si las muestras provienen de un sitio con carbonatos cálcicos añadir unas cuantas gotas de ácido clorhídrico para eliminarlos.
- Realizar lavados sucesivos mediante centrifugación. Para ello completar los tubos con agua destilada o desmineralizada y centrifugar<sup>3</sup> (15 minutos a 1500 rpm suele ser suficiente para la sedimentación de todas las diatomeas). Descartar el sobrenadante y resuspender el pellet con agua destilada o desmineralizada repitiendo el procedimiento. Realizar al menos 3 lavados.
- Resuspender el pellet obtenido en 2–3 mL de agua destilada o desmineralizada de manera de obtener una suspensión lechosa ligeramente turbia y traspasarlo a un vial rotulado. Utilizar para preparaciones permanentes, fijar con unas gotitas de formol y almacenar.

<sup>3.</sup> La velocidad y tiempo necesarios para completar la sedimentación de todas las diatomeas dependerá de las características particulares de la centrífuga empleada. Es necesario realizar pruebas preliminares para asegurar que no quedan diatomeas en el sobrenadante con el tiempo y la velocidad elegidos.

## Preparaciones permanentes

- Agitar el vial que contiene la muestra, utilizando una pipeta Pasteur limpia (o pipeta automática con tips) extraer un pequeño volumen depositarlo en un cubreobjetos cubriendo toda su superficie procurando una distribución homogénea del material.
- Dejar evaporar el líquido a temperatura ambiente o en una placa calefactora a muy baja temperatura.
- Con una varilla de vidrio colocar la resina sobre el portaobjetos (rotulado) distribuyéndola por el área aproximada equivalente al tamaño del cubreobjetos. Con una pinza tomar cuidadosamente el cubreobjetos por una puntita e invertirlo sobre la parte cubierta por resina, presionar suavemente para favorecer su distribución en toda la superficie del cubreobjetos.
- Aplicar calor suave hasta que se produzca la formación de burbujas (evaporación del solvente – tolueno) y luego disminuya significativamente (realizar bajo campana).
- Retirar el preparado de la placa caliente y presionar el cubreobjetos para formar una capa delgada y uniforme de Naphrax® debajo de todo el cubreobjetos.
- Dejar enfriar. Almacenar los preparados fijos en una caja de preparados rotulada.

# Identificación y recuento de diatomeas del biofilm

A partir de las preparaciones permanentes se realiza la identificación, recuento y obtención de la frecuencia relativa de las especies de diatomeas presentes. Estos resultados permiten calcular diversos índices para valorar la calidad del agua de ríos y arroyos.

# Materiales y equipamiento:

 Microscopio óptico con objetivo de inmersión de alta apertura numérica (≥1.3), con platina mecánica y preferentemente con contraste de fases o interferencial (Nomarski). Se requiere ocular micrométrico o sistema de captura de imagen y software que permita realizar mediciones en los especímenes.

- Aceite de inmersión.
- Planilla de recuento.
- Guías de identificación e iconografías regionales.<sup>4</sup>

#### Procedimiento:

Es importante comprobar que las valvas de diatomeas estén distribuídas de manera homogénea en el preparado, si se observan agregaciones de valvas en algunos sectores se debe rehacer el preparado. Contar entre 400-600 valvas con una magnificación de 1000X, de ser posible utilizando contraste de fases o interferencial. Realizar el recuento en transectas horizontales o verticales a través del cubreobjetos, evitando la zona de los márgenes. Registrar las especies identificadas y su abundancia en una planilla de recuento en la que se debe detallar el rótulo de la muestra (sitio, fecha, tipo de muestra) y el nombre del analista, así como cualquier observación que se considere necesaria. Las valvas fragmentadas solo se deben contar si el fragmento corresponde a ¾ parte de la valva. Los especímenes localizados en el borde del campo visual se incluyen en el recuento solo si al menos el 50 % de la valva se observa dentro del campo. La utilización de las guías e iconografías regionales y del ocular micrométrico (o del software asociado al equipo de captura de imágenes) permitirá la identificación de las distintas especies presentes en la muestra.

A partir de los recuentos se establece la abundancia relativa de las diferentes especies identificadas (en el anexo se facilitan planillas modelo para la carga de los datos obtenidos). Esta información permite el cálculo de diversos índices de calidad del agua (ver siguiente apartado) y complementa

<sup>4.</sup> Algunas recomendaciones: Hustedt (1930), Patrick y Reimer (1966, 1975), Krammer, K. y H. Lange–Bertalot (1986, 1988, 1991a, 1991b), Lange–Bertalot (1993), Krammer (1992, 2000), Lange–Bertalot y Moser (1994) y Prygiel y Coste (2000), Zalocar de Domitrovic y Maidana (1997).

el análisis de la densidad de los distintos grupos algales realizado en cámaras de Palmer–Malloney (detallado previamente).

# Bioindicadores, principales índices bióticos

Dado que se conocen las tolerancias ecológicas para muchas especies, los cambios en la composición de la comunidad se pueden utilizar para diagnosticar los factores de estrés ambientales que afectan a la salud ecológica, así como para evaluar la integridad biótica de los sistemas acuáticos (Stevenson y Pan, 1999). Las algas han sido ampliamente utilizadas para monitorear la calidad del agua en ríos de Europa (ver Whitton y Rott, 1996; Whitton *et al.*, 1991).

# Índices de calidad de agua

Diversos índices de integridad biótica a partir del biofilm se han desarrollado y probado en varias regiones. Algunos, como el índice sapróbico de Pantle y Buck o el índice Sladecèk (S) se calculan a partir de todos los organismos de la comunidad del biofilm. Sin embargo, la mayoría de los índices desarrollados y utilizados para establecer la calidad del agua se calculan a partir de las abundancias relativas de las especies de diatomeas presentes en la muestra (Licursi y Gómez, 2003). Esto se debe a que las diatomeas constituyen el grupo mejor representado en el biofilm y las distintas especies se adaptan a un amplio rango de condiciones ecológicas convirtiéndose en indicadores sensibles de cambios ambientales y de condiciones específicas de su hábitat (figura 3). En la actualidad se conoce, para la mayoría de las especies, las preferencias ecológicas en relación con distintas condiciones como la eutrofización, polución orgánica, metales pesados, salinidad, pH y plaguicidas, entre otras. Esta información ha permitido diseñar numerosos índices autoecológicos que permiten evaluar la polución, acidificación, sedimentación, contaminación del agua con materia orgánica o la eutrofización en ríos (Stevenson y Bahls, 1999).

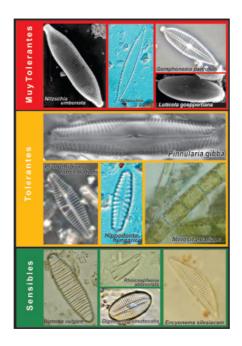


Figura 3 · Algunos taxa de diatomeas agrupados según su tolerancia a la polución orgánica y eutrofización

Fuente: extraído de Licursi y Gómez, 2003.

# Consideraciones generales

- Antes de utilizar un índice por primera vez en un área, es necesario hacer una evaluación previa del índice, considerando la información autoecológica de los taxa así como las condiciones fisicoquímicas del lugar concreto.
- Es importante que los taxa dominantes presentes en la región estén también representados en el índice.
- La correcta aplicación de los índices requiere de la participación de un técnico entrenado en la identificación taxonómica de las diatomeas.

## Índice de Polusensibilidad Específica (IPS)

Entre los numerosos índices europeos desarrollados para establecer la calidad del agua a partir de diatomeas el IPS (Cemagref, 1982) es uno de los más ampliamente utilizados y ha sido considerado como el índice de referencia en la Directiva Marco del Agua de la Comunidad Europea. Fue diseñado considerando más de 5000 taxa a los que se le asignó un valor indicador; por la gran cantidad de información que reúne es ampliamente recomendado en esa región.

El índice IPS se calcula sobre la base de las medias ponderadas de los valores de sensibilidad a la contaminación (Sj), valores de tolerancia a la contaminación (Vj) y la abundancia relativa de cada especie.

La fórmula para obtener el valor del índice es:

IPS = 
$$4,75 * \frac{\sum Aj * Sj * Vj}{\sum Aj * Vj} - 3,75$$

## Donde:

Aj = Abundancia relativa de la especie j

Sj = Valor de sensibilidad de la especie j

Vj = Valor de tolerancia de la especie j

El protocolo detallado para el cálculo e interpretación de este índice se puede obtener en el siguiente link: https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/estado-y-calidad-de-las-aguas/IPS-2013\_24\_05\_2013\_tcm30-175295.pdf

# Índice de Diatomeas Pampeano (IDP)

El IDP (Gómez y Licursi, 2001) fue diseñado con la finalidad de evaluar la eutrofización y polución orgánica de los ríos y arroyos del área pampeana. Este índice regional surge como consecuencia de que muchos de los taxa hallados en los sistemas lóticos estudiados exhibían preferencias

ecológicas distintas a las propuestas en los listados de valores indicadores de las especies para el hemisferio norte. Para su desarrollo se analizaron 164 muestras de *epipelon* (procedentes de 50 sitios de muestreo con distintas problemáticas ambientales) y su relación con las variables físico—químicas. A cada taxón se le asignó un valor de sensibilidad a la contaminación y eutrofización, teniendo en cuenta variables estrechamente relacionadas con la eutrofización y contaminación orgánica, como amonio, la demanda bioquímica de oxígeno (DBO5) y el fósforo reactivo soluble. Estas variables definieron 5 clases de calidad del agua (Tabla 1).

**Tabla 1** · Caracterización de las clases de calidad del agua basadas en  ${\rm NH_4}^+-{\rm N}$ ,  ${\rm DBO_5}$  y  ${\rm PO_4}^{3^-}-{\rm P}$  (mgL $^{-1}$ ) como descriptores de la eutrofización y polución orgánica.

Clases de calidad del agua	DBO <sub>5</sub>	NH <sub>4</sub> +- N	PO <sub>4</sub> 3P
0	≤ 3	≤ 0.1	≤ 0.05
1	> 3-8	> 0.1-0.5	> 0.05-0.1
II	> 8-15	> 0.5-0.9	> 0.1-0.5
III	> 15-25	> 0.9-2	> 0.5-1
IV	> 25	> 2	> 1

Para su cálculo se empleó la siguiente fórmula:

$$IDP = \frac{\sum_{j=1}^{n} I_{idpj} * A_{j}}{\sum_{j=1}^{n} I_{idpj}}$$

### Donde:

I idp: valor del idp para la especie j (fluctúa entre o y 4)

Aj: abundancia relativa de la especie j

Los valores del índice fluctúan entre o y 4. A las distintas calidades del agua se les asignan colores para su identificación gráfica en mapas de calidad del agua y se las relaciona con las actividades antrópicas más frecuentes en el área de estudio (Tabla 2).

**Tabla 2** · Índice de Diatomeas Pampeano (IDP) y su relación con la calidad del agua y grado de disturbio antrópico. El código de color identifica las distintas calidades de agua en relación con la eutrofización y contaminación orgánica y se utiliza para su representación gráfica en mapas.

Valor del	Calidad	Código	Características del	
IDP	del agua	de color	agua	Grado de disturbio
0-0,5	Muy buena		0–0,8	0–0,9
>0,5– 1,5	Buena		Polución y eutrofización leve, bajos niveles de nutrientes y materia orgánica.	Leve: ganadería extensiva y agricultura.
>1,5–2	Aceptable		Polución y eutrofización moderada: altas concentraciones de nutrientes y materia orgánica.	Moderado: actividad industrial y/o ganadería intensiva
>2-3	Mala		Polución y eutrofización fuerte, presencia de materia orgánica parcialmente degradada, nitritos, amonio y aminoácidos.	Fuerte: agricultura intensiva y ganadería, actividad industrial y densidad poblacional
>3-4	Muy mala		Polución y eutrofización muy fuerte, altas concentraciones de materia orgánica, predominio de procesos reductivos y presencia de productos industriales.	Muy fuerte: actividad industrial intensiva y gran densidad poblacional

Fuente: Licursi y Gómez, 2003.

En el anexo 3 se proporciona una planilla de Excel modelo que permite el cálculo del 1DP.

En Francia han desarrollado el programa informático omnidia (Lecointe *et al.*, 1993) que permite el manejo de los inventarios de las muestras de diatomeas y el cálculo de numerosos índices de calidad del agua, así como índices de riqueza y diversidad. Entre los índices de calidad del agua que este software permite calcular se encuentran los presentados en este protocolo: Índice de Polusensibilidad Específica (IPS) y el Índice de Diatomeas Pampeano (IDP).

Ana María Gagneten <sup>1</sup>
Victoria Soledad Andrade <sup>12</sup>
Natali Romero <sup>12</sup>
Luciana Regaldo <sup>12</sup>
Pablo Vaschetto <sup>12</sup>
María Julieta Arias <sup>1</sup>
Ulises Reno <sup>12</sup>

# 5. Zooplancton

## Introducción \*

El zooplancton (del griego *zoo*: animal y *plancton*: errante) (figura 1) es el componente animal de la comunidad planctónica. Son organismos en su mayoría microscópicos heterótrofos que se alimentan de algas y materia orgánica particulada y aunque tienen capacidad de locomoción se desplazan con las corrientes de agua. El zooplancton de agua dulce está constituido principalmente por tres grupos: los rotíferos entre 50–2000 µm (figura 2) y los microcrustáceos: cladóceros de 200 a 3000 µm (figura 3) y copépodos de 500 a 2000 µm (figura 4). Esta comunidad desempeña un rol clave en los ecosistemas acuáticos continentales porque interviene en la transferencia de materia y energía desde los organismos autótrofos

<sup>1.</sup> Facultad de Humanidades y Ciencias, UNL.

<sup>2.</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

<sup>\*</sup> Las fotos de este capítulo fueron proporcionadas por integrantes del Laboratorio de Ecotoxicología (FHUC, UNL) y del INALI (CONICET, UNL).

hacia niveles tróficos superiores y contribuye al ciclado de nutrientes (Sinistro, 2010; Trevisan y Forsberg, 2007). Sirve de nexo entre los productores microscópicos (fitoplancton) y consumidores, como por ejemplo ácaros, larvas de mosquitos, otros invertebrados y peces. Las alteraciones en el zooplancton pueden a su vez, afectar a otros niveles tróficos por lo que sus respuestas a los contaminantes o variables hidrológicas pueden repercutir en todo el ecosistema e informar sobre la magnitud del disturbio (Hanazato, 2001; Gagneten y Regaldo, 2021).

Por otro lado, el zooplancton es muy utilizado como indicador para biomonitoreo y determinación de calidad ambiental de ambientes diferentes perturbaciones (Jeppesen *et al.*, 2011; Souza Costa *et al.*, 2016; Liang *et al.*, 2020). A diferencia de organismos de gran tamaño, pueden responder de forma rápida y con alto nivel de sensibilidad a cambios ambientales, dado su pequeño tamaño, altas tasas de reproducción y ampia distribución (Sommer, 1989; Almeidal *et al.*, 2020).



Figura 1 · Campo en microscopio óptico (10x) de una muestra de zooplancton fijada.



Figura 2 · Rotífero: Platyias quadricornis (Ehrenberg, 1832).



Figura 3 · Ceriodaphnia dubia, con neonatos en cámara incubatriz.



Figura 4 · Copepoda Calanoida macho.

# Toma y procesamiento de muestras

¿Qué hacer antes de salir al campo?

- 1. Planificar adecuadamente los muestreos y seguir un cronograma basado en el número de estaciones o sitios de muestreo y su accesibilidad.
- 2. Organizar los materiales y equipos adecuados según los lugares de muestreo y tipos de muestras a colectar. Dada la complejidad y especificidad del trabajo con zooplancton, con anterioridad al desarrollo de los muestreos sistemáticos, es aconsejable destinar tiempo para verificar la disponibilidad, buen estado y eficiencia en campo de los materiales necesarios, entre ellos, los muestreadores a emplear.
- 3. Elegir los métodos más apropiados de acuerdo con el propósito del estudio (análisis taxonómico, inventarios biológicos, estudio ecológico, biomonitoreo, etc.) y las características de los sitios a muestrear.

## Equipos y materiales

- Personal: botas, guantes y chaleco salvavidas en caso de que el muestreo se realice desde una embarcación.
- Para la recolección de las muestras: GPS (opcional), marcadores de tinta indeleble, etiquetas resistentes al agua, cinta, frascos de 150 mL para las muestras, muestreador adecuado al sistema acuático a estudiar: disco de Secchi para medir la profundidad, red de plancton, botella de van Dorn, trampa de Schindler—Patalas y muestreador tubular. Equipo multiparámetro portátil (análisis físico—químicos *in situ*: temperatura, pH, conductividad). Reactivos para la fijación y coloración de muestras: formol y eritrosina.

## Muestreo de zooplancton

Es aconsejable realizar los muestreos de zooplancton en forma simultánea con la toma de muestras de agua y sedimentos (ver capítulos 1 y 2) a los fines de correlacionar los datos fisicoquímicos de calidad de agua, con los datos biológicos y así obtener mayor certeza de las condiciones ecológicas del sistema en estudio.

Todas las muestras deberán ser etiquetadas para facilitar su identificación con papel y fibrón resistente al agua. En el interior de cada réplica, se puede agregar un rótulo escrito con lápiz de grafito, dado que los rótulos externos pueden dañarse o perderse. Se debe anotar: procedencia, colector, fecha de colecta, tipo de muestra (cualitativa—cuantitativa) y número de réplica.

#### Muestreadores

Se debe seleccionar el tipo de muestreador más adecuado para el tipo de muestra a tomar y las condiciones del sistema acuático donde se tomarán las mismas.

- Red de plancton: Es importante seleccionar redes con la abertura de malla adecuada, entre 35 y 150 micras, para capturar todas las fracciones de tamaño de la comunidad zooplanctónica. Los organismos de menor tamaño son los rotíferos y larvas nauplio de copépodos (microzooplancton) y los de mayor tamaño son los cladóceros y copépodos (macrozooplancton). La red de 45 µm de abertura de malla, es el método más usado y adecuado tanto para estudios cualitativos como cuantitativos por su simpleza y fácil utilización (figura 5).
- Botella de van Dorn: consiste en un cilindro de acrílico transparente abierto en ambos extremos, una vez tomada la muestra se cierra automáticamente porque consta de un sistema de cerrado mecánico, lo que permite tomar un volumen de muestra específica a la profundidad deseada (figura 6).
- Trampa de Schindler–Patalas: consiste en una caja de acrílico abierta en ambos extremos, que lleva adosada una red de plancton de 45 µm de abertura de malla y de un frasco colector en la parte inferior de uno de sus lados. Permite filtrar grandes volúmenes, a una profundidad específica y evitar las pérdidas por evasión. Se emplea habitualmente en sistemas acuáticos de mayor profundidad (figura 7).
- Muestreador tubular: consiste en un tubo de PVC provisto en su parte inferior, de una red de 45 µm de abertura de malla (el tamaño de la abertura de malla puede ser menor o mayor según el objetivo sea recolectar microzooplancton o mesozooplancton) y de un frasco colector, que permite tomar muestras integradas en diferentes puntos de la columna de agua. Se recomienda para tomar muestras en charcas o arroyos muy poco profundos y de escaso caudal o aún para la toma de muestras de mesocosmos o limnocorrales (Paggi *et al.*, 2001, figura 8).

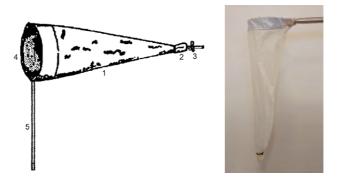
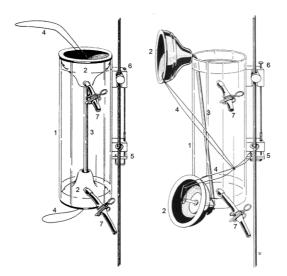


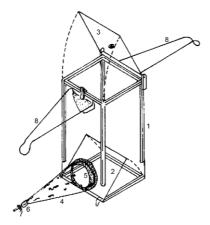
Figura  $5 \cdot$  Red de zooplancton. (1) malla de  $45 \,\mu\text{m}$  de apertura, (2) recipiente colector, (3) llave de desagote, (4) anillo metálico, (5) mango.

Fuente: modificada de De Bernardi, 1984.



**Figura 6** · Botella de van Dorn (1) tubo de acrílico, (2) sopapas o desatascadores, (3) tubo quirúrgico de látex (4) tensores para mantener abierta la botella, (5) pistón de sujeción de los tensores, (6) mensajero de cerrado, (7) Mangueras con llave de desagote.

Fuente: modificada de van Dorn, 1956.



**Figura 7 ·** Trampa de Schindler–Patalas. (1) caja de acrílico de 20 L, (2) compuerta inferior, (3) compuerta superior, (4) malla de 45  $\mu$ m de apertura, (5) anillo roscado para sujetar la red, (6) recipiente colector, (7) llave de desagote, (8) manijas para sujeción mediante una soga.

В

Fuente: modificada de De Bernardi, 1984.

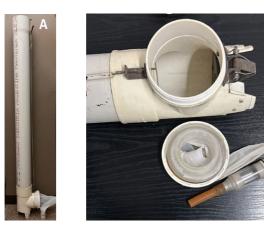


Figura 8 · Muestreador tubular (A), detalle de su estructura (B)

Fuente: construido según Paggi et al., 2001.

#### Tubo muestrador



**Figura 9 ·** Ejemplo de uso en estudio de mesocosmos (C). (*Polla et al., 2022*). *Fuente: Mesocosmos construido según Paggi et al., 2001*.

Colecta de muestras cualitativas para estudios taxonómicos

Para obtener registros cualitativos de zooplancton, en cada sitio se debe filtrar un volumen de agua considerable, aunque no es relevante cuantificarlo. La red se pasa repetidas veces realizando movimientos en forma de 8 a distintas alturas de la columna de agua con el fin de obtener muestras representativas de todos los estratos. Si en el sitio hubiera macrófitas, es importante pasar la red por debajo de las mismas, dado que muchas especies buscan refugio entre sus raíces. Una vez filtrada la muestra y retenida en el recipiente colector de la red, se pasa a un recipiente de vidrio o plástico (150 mL de capacidad), se fija y colorea con formol y eritrosina en campo (formol al 10 % = 10 mL de formol + eritrosina en 90 mL de muestra) para evitar su deterioro y facilitar su posterior visualización durante el análisis taxonómico. El formol debe manipularse con guantes y máscara, dado que es muy tóxico.

### Colecta de muestras cuantitativas

Para registros cuantitativos de zooplancton el muestreo debe ser exhaustivo, filtrando volúmenes conocidos de agua a través de la red de zooplancton. El volumen a muestrear dependerá de la profundidad y el cauce del sistema acuático a muestrear, en cada sitio se deben toman entre 3 y 5 muestras (réplicas) de zooplancton con el muestreador más adecuado entre los anteriormente descriptos. El contenido que queda retenido en el colector de la red se coloca en un recipiente de vidrio o plástico de 150 mL, y en campo se fija con formol y se colorea con eritrosina. En el laboratorio, previo a la observación de la muestra al microscopio, se debe comprobar que cada muestra contenga 100 mL, en caso contrario se debe enrazar con agua destilada hasta obtener este volumen.

# Identificación de zooplancton

## Materiales necesarios

- Lupa estereoscópica.
- Microscopio con objetivos de 10x-100x.
- Cámara digital.
- Cámara de Sedgwick–Rafter de 1 mL para microzooplancton. Ver figura 4, pág. 65.
- Cámara de Bogorov de 5 mL para mesozooplancton.
- Goteros.
- Pipetas.
- Estiletes y pinzas.
- Aceite de inmersión.
- Glicerina.
- Hipoclorito de sodio.
- Guías y claves de identificación para cada grupo de zooplancton. Es importante la comprobación de la información ecológica (distribución, hábitat, etc.). Se recomienda la realización de dibujos y/o fotos.

### Técnicas de análisis

#### Cualitativo

Se recomienda realizar el análisis cualitativo antes de iniciar el recuento. con la finalidad de confeccionar una lista de los taxa presentes en la muestra. Consiste en el reconocimiento e identificación de las especies zooplanctónicas presentes en el sistema en estudio. Es necesario hacer revisiones completas hasta no encontrar nuevos especímenes. Frecuentemente surgen dificultades metodológicas vinculadas a la definición taxonómica de rotíferos, cladóceros y copépodos debido a su talla extremadamente reducida. Para identificar rotíferos puede ser necesario separar el mástax para determinar las especies mediante la adición de hipoclorito de sodio diluido para desintegrar las estructuras blandas. En el caso de cladóceros, se necesita separar el postabdomen además de realizar observaciones y mediciones de las características externas (forma del cuerpo, rostro, valvas, anténulas, antenas, ornamentaciones). Cuando se trata de identificar copépodos, es preciso separar el quinto par de patas (modificado) de especímenes hembras para Cyclopoida y machos para Calanoida, además del primer par de anténulas de especímenes machos de Cyclopoida y Calanoida. Los organismos se identifican al menor nivel taxonómico posible consultando claves específicas (Reid, 1985; Koste y Shiel 1989; José de Paggi, 1996; Paggi, 1995, Segers 2002, 2007; FADA 2010; Kotov et *al.*, 2013, entre otros).

#### Cuantitativo

El análisis cuantitativo de las muestras se realiza mediante el conteo de los organismos en cámara de Bogorov de 5 mL para mesozooplancton (copépodos adultos y cladóceros) con lupa estereoscópica y de Segdwick–Rafter de 1 mL para microzooplancton (rotíferos y larvas nauplio de copépodos) con microscopio óptico. En cada réplica se analizan 5 alícuotas de 5 mL

para mesozooplancton y 5 alícuotas de 1 mL para microzooplancton. Los recuentos de la fracción animal de la comunidad planctónica se llevan a cabo en base a alícuotas extraídas de la muestra previamente homogeneizada por agitación y burbujeo. Las alícuotas deben ser extraídas con una pipeta de no menos de 4 mm de abertura para no dañar los ejemplares. El número de alícuotas a analizar dependerá del que fuera necesario para alcanzar un nivel de abundancia de no menos de 100 individuos de la especie dominante. Cuando fuera necesario por la escasez de ejemplares, las muestras deben ser contabilizadas en su totalidad. En caso de que las muestras estén saturadas, pueden realizarse diluciones considerando que el volumen total de organismos se deberá referir a un litro de agua del ambiente del cual se tomaron las muestras.

Dado que los ambientes acuáticos pueden ser poco profundos, además de las especies típicamente planctónicas (*Daphnidae*, *Asplanchnidae*, copépodos calanoideos) suelen encontrarse especies que no pertenecen al plancton en sentido estricto, sino que son de hábitos litorales y bentónicos (*Macrothricidae*, *Chydoridae*, copépodos ciclópidos, rotíferos bdelloideos), pero que por su importancia no pueden dejar de considerarse porque deben incluirse todas las especies que integran la comunidad, siendo entonces más complejo el análisis de la fracción animal del plancton.

## Análisis cuantitativo y estadístico de los atributos de la comunidad

Se evalúa la composición de la fracción animal de la comunidad zooplanctónica y la de sus atributos más representativos tales como: abundancias absolutas y relativas de las poblaciones correspondientes a los taxa identificados, y la diversidad específica incluyendo sus componentes de riqueza y equitatividad. Las abundancias se calculan como densidad expresada en individuos por litro; esta estimación se realiza para cada especie y para cada grupo de mayor nivel (rotíferos, cladóceros, copépodos; microzooplanton, mesozooplanton).

$$Abundancia \ (Ind./L) = \frac{(N*V_m)/V_c}{V_f}$$

Donde:

N: individuos

V<sub>m</sub>: volumen de la muestra

V: volumen de la cámara

V.: volumen filtrado

Como atributos de la comunidad se analizan la diversidad de especies de cada sitio de muestreo y sus componentes de riqueza (S: número de especies) y diversidad (H) mediante el índice de Shannon y Weaver (Omori e Ikeda, 1984):

$$H = -\sum_{i=1}^{S} Pi \bullet \ln Pi$$

Donde:

H: diversidad específica,

Pi: proporcion de individuos de la especie *i* respecto al total de individuos,

S: número total de especies presentes.

La equitatividad (*E*) del inglés «*equitability*» también llamada «equidad» (o *evenness*, también del inglés), se cuantifica expresando la diversidad específica *H* como una proporción del valor máximo de *H* si todos los individuos estuvieran uniformemente distribuidos entre las especies (Begon *et al.*, 1988):

$$E = \frac{\sum_{i=1}^{S} Pi \bullet \ln Pi}{S}$$

Donde:

Pi: n° de individuos de la especie i.

S: riqueza de especies

Las posibles diferencias entre densidad de especies entre sitios de muestreo se analizan con diferentes pruebas estadísticas paramétricas o no paramétricas.

Por otro lado, se pueden realizar análisis de correlación (de Pearson o Spearman según corresponda) para detectar relaciones entre los atributos de la comunidad con los parámetros de calidad de agua y sedimento de los diferentes puntos de muestreo, a fin de establecer si los ambientes estudiados poseen factores que pueden condicionar la estructura de la comunidad.

Para el análisis de afinidades entre las muestras de zooplancton, tanto por su composición como por sus atributos comunitarios, se pueden aplicar análisis de conglomerados, que posibilitan cuantificar la similitud entre las entidades a agrupar. Los valores contenidos en las matrices de similitud, distancia o correlación, se pueden expresar gráficamente mediante la construcción de dendrogramas, entre otros.

## **Bioindicadores**

La comunidad del zooplancton y su estructura son buenos indicadores de los cambios en el ambiente debido a que poseen talla pequeña y ciclos de vida cortos, con tasas de reproducción elevadas en condiciones favorables, respondiendo con alta sensibilidad y rapidez a las alteraciones de las condiciones ambientales (DeLorenzo et al., 2001; Hanazato, 2001; Resh, 2008). Además, los diferentes componentes del zooplancton presentan una sensibilidad diferencial ante los cambios en el ambiente: los microcrustáceos, especialmente los cladóceros, son particularmente sensibles (Sakamoto *et al.*, 2006) mientras que los rotíferos son más resistentes a las alteraciones ambientales (Kefford et al., 2016). Los rotíferos poseen ciclos de vida más cortos que los microcrustáceos y un metabolismo más elevado (Smirnov, 2017), lo que puede implicar una detoxificación más rápida, contribuyendo a una mayor tasa de recuperación ante perturbaciones de distinto tipo. Además, la gran variabilidad de rasgos funcionales de los rotíferos comparada con los microcrustáceos, hacen a los primeros más exitosos y dominantes en un amplio rango de condiciones ambientales (Obertegger y Flaim, 2015; Vogt et al., 2013). Dado que el zooplancton desempeña un rol clave en los ecosistemas acuáticos continentales, las alteraciones en la comunidad zooplanctónica pueden, a su vez, afectar a otros niveles tróficos por lo que sus respuestas pueden repercutir en todo el ecosistema e informar sobre la magnitud de la perturbación (Hanazato, 2001).

# Principales índices bióticos

Se encuentran disponibles diversos índices para determinar la integridad ecológica de sistemas acuáticos en relación con la estructura de las comunidades (Gallardo *et al.*, 2011; Gagneten y Regaldo, 2022). Sin embargo, su utilidad varía considerablemente dependiendo de los parámetros medidos; la información que proveen dependerá de las condiciones ambientales,

dificultando así la selección de los índices más apropiados para biomonitoreos de cuencas hidrográficas y la comparación entre diferentes sistemas. En Marchese *et al.* (2020) se sintetiza información sobre bioindicadores de distintas comunidades, incluido el zooplancton, de la Región de Humedales del Corredor Fluvial Chaco–Mesopotámico y del Corredor Fluvial Paraguay–Paraná.

Las métricas más tradicionales son la riqueza y diversidad de especies, pero hay otras tales como la diversidad funcional, la diversidad de tallas (Quintana *et al.*, 2008) y la diversidad taxonómica. Se han establecido grupos funcionales tróficos zooplanctónicos, dependiendo específicamente de su método de alimentación en DeMott y Kerfoot (1982), Barnett *et al.* (2007), ampliados en Arias *et al.* (2022). A su vez, se pueden realizar regresiones entre los índices y variables ambientales para determinar qué factores ambientales se relacionan (positiva o negativamente) con los indicadores de biodiversidad en una determinada cuenca.

A la luz de los resultados encontrados por diversos grupos de investigación en distintas partes del mundo, pueden establecerse algunas generalizaciones en cuanto al grado de sensibilidad/tolerancia a contaminantes, y eventualmente, establecer gradientes de sensibilidad o tolerancia de especies o asociaciones de especies ante cada situación ambiental en particular. Por ejemplo, en lagunas urbanas de la ciudad de Santa Fe, las métricas que resultaron efectivas dentro de las propuestas por Gallardo *et al.* (2011) fueron: abundancia rotíferos/abundancia total de zooplancton (Gagneten y Paggi, 2009), abundancia microcrustaceos/abundancia total zooplancton y abundancia macrozooplancton (>100 µm)/abundancia microzooplancton (<100 µm) (Arias *et al.*, 2022). Los análisis permitieron, comparar el impacto sobre la comunidad zooplanctónica y macroinvertebrados bentónicos, así como discriminar entre sitios con distinto grado de impacto y se estableció un gradiente de mayor a menor perturbación.

Florencia Lucila Zilli <sup>24</sup> Mercedes R. Marchese <sup>24</sup> María J. Arias <sup>3</sup> Julieta Capeletti <sup>24</sup> Florencia Facelli <sup>24</sup> Miguel Saigo <sup>3</sup>

# 6. Macroinvertebrados acuáticos 1

## Introducción

En la provincia de Santa Fe los invertebrados acuáticos habitan en todo tipo de ambientes de origen antrópico y naturales leníticos (lagunas, humedales temporarios, reservorios urbanos) y lóticos (ríos, arroyos, canales). En los cuerpos de agua, se los encuentra en los sustratos en el fondo (bentos), ya sea sobre los sustratos o enterrados en los sedimentos. Pueden también estar asociados a la vegetación flotante (camalotes) y palustre (canutillos, totorales, juncales) o a la película de agua superficial (neuston), etc. En los ríos y lagunas de mayor profundidad, la diferenciación entre dichas asociaciones de organismos o comunidades puede ser más clara; pero, en los arroyos y lagunas someros, zonas costeras o ribereñas, humedales temporarios originados por desborde de los cuerpos de agua permanentes, la separación entre las mismas es muchas veces imposible.

<sup>1.</sup> M. J. Arias; J. Capeletti; F. Facelli y M. Saigo contribuyeron en igual medida al capítulo.

<sup>2.</sup> Instituto Nacional de Limnología (INALI, CONICET, UNL).

<sup>3.</sup> Facultad de Humanidades y Ciencias, UNL.

<sup>4.</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Los macroinvertebrados tienen un tamaño mínimo de 0,20 mm (Rosenberg y Resh, 1993) y, en general, son visibles a simple vista. Dentro de los macroinvertebrados más comunes en cuerpos de agua de la provincia se encuentran anélidos (oligoquetos, hirudíneos o sanguijuelas), estadios inmaduros (larvas, pupas) y adultos de diferentes insectos (quironómidos, efemerópteros, coleópteros, tricópteros, odonatos, etc.), moluscos (bivalvos y gasterópodos), crustáceos (decápodos, anfípodos, etc.), nematodos y en menor medida turbelarios, ácaros, briozoos, poríferos, etcétera (figura 1).



Figura 1 · Muestra de macroinvertebrados que pueden ser registrados en un ambiente acuático de la Provincia de Santa Fe.

Estos grupos son importantes en el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos ya que actúan en el procesamiento de materia orgánica y reciclado de los nutrientes y participan en las tramas tróficas acuáticas y terrestres. Por ejemplo, los estadios tanto acuáticos como aéreos o terrestres son consumidos por otros invertebrados, peces, aves y mamíferos, muchos de importancia comercial. Además, participan en la translocación de contaminantes y nutrientes del sedimento por bioturbación, bioacumulación, biomagnificación, biodegradación y migración (ver glosario).

Los macroinvertebrados presentan una serie de características que los hacen especialmente buenos indicadores de calidad ambiental (figura 2) y además han sido muy empleados a nivel global y en Argentina como biomonitores o bioindicadores:

- Muchos grupos, sobre todo los bentónicos, son sedentarios o de movilidad reducida, por lo que están en contacto directo con los xenobióticos e impactos derivados de alteraciones físicas de los cuerpos de agua. Por esto son especialmente útiles en diseños de estudios con sitios aguas arriba y debajo de un impacto.
- Para los invertebrados bentónicos, el sedimento en que habitan es receptor final de gran parte de los xenobióticos que se descargan al cuerpo de agua, por lo que están en contacto directo y permanente con ellos.
- Poseen ciclos de vida de menos de un mes hasta más de un año, por lo que los ensambles pueden indicar alteraciones a corto, mediano y largo plazo.
- Presentan una alta diversidad con taxa de diferentes grupos funcionales, con requerimientos ecológicos diferentes relacionados con las características hidrogeomorfológicas, fisicoquímicas y biológicas del ambiente.
   Los ensambles están integrados por especies en un amplio rango de tolerancia a contaminación por lo que pueden dar información sobre efectos acumulativos.
- Son alimentos de vertebrados, incluyendo a muchos de importancia comercial y recreativa.
- Son abundantes en la mayoría de los arroyos, ríos, lagunas y humedales.
- Pueden ser empleados para la detección y seguimiento de presiones fisicoquímicas (relacionadas con la contaminación térmica, cambios en la mineralización del agua, contaminación orgánica, eutrofización, contaminación por metales u otros contaminantes) e hidrogeomorfológicas (relacionadas con alteración del régimen de caudal, alteración de la morfología del lecho fluvial o lacustre).

• Su recolección e identificación son relativamente sencillas. El muestreo requiere de pocas personas, es de bajo costo y tiene un mínimo efecto negativo sobre la biota residente. Son relativamente simples de identificar a nivel de familia (para la aplicación de muchas métricas); muchos taxa intolerantes pueden ser fácilmente identificados a menores niveles.

La mayoría de las agencias y países con tradición en medir la calidad ambiental y que rutinariamente recolectan datos para biomonitoreos y diagnóstico ambiental se focalizan en los macroinvertebrados. En nuestro país, también existen muchos estudios en diferentes regiones donde es común el uso de macroinvertebrados e inclusive se desarrollaron índices bióticos regionales para la evaluación de calidad ambiental. Sin embargo, a nivel de organismos gubernamentales de gestión y del sector privado principalmente en la provincia de Santa Fe aún no es una práctica común.

En esta sección brindamos información sobre metodologías de recolección, procesamiento en laboratorio y cálculo de métricas basadas en macroinvertebrados que pueden ser útiles para diagnóstico y monitoreo de calidad de aguas en ambientes acuáticos de la provincia de Santa Fe. Se presenta información sobre metodología basada en estudios de taxonomía morfológica; sin embargo, es importante mencionar que existen novedosas técnicas de bioindicación a través de ADN ambiental de macroinvertebrados que no reemplazan, sino que complementan a las metodologías de evaluación clásica.

#### Ephemeroptera(larva) Trichoptera(larva) Coleoptera(larva) Bivalvia autóctonos



Figura 2 · Macroinvertebrados tolerantes (en rojo) y sensibles (en verde) a distintos grados de contaminación.

## Metodologías

#### Diseño de muestreo

El diseño de muestreo dependerá de los objetivos del estudio, de las características de los sitios (tipo de ambiente, presencia o no de diferentes microhábitats, etc.) y del tipo de datos a obtener y deberá ser estandarizado, reproducible y comparable en caso de ser requerido (ver Introducción).

Diseño por transectas. Muestreos cuantitativos

El diseño de muestreo por transectas es recomendable para la realización de muestreos cuantitativos, especialmente en ambientes de tamaño medio o grandes. Este tipo de muestreo permite el cálculo de las métricas de riqueza, estructura, funcionales y de tolerancia y, en caso de no presentarse otro tipo de microhábitat como vegetación flotante o palustre, puede ser empleado para calcular los índices bióticos.

- 1. Bentos. Se establece el número de transectas en el tramo de río o ambiente lenítico a estudiar, necesarias para incluir las variaciones geomorfológicas e hidráulicas del cauce. En los ríos se recolectan muestras en puntos en las riberas (derecha e izquierda) y centro del río y en lagunas como mínimo en los puntos extremos (costas) y el centro considerando el eje mayor del cuerpo de agua. Lo ideal es contar con una batimetría de las lagunas para definir el número y localización de los puntos de muestreo. En caso de no contar con una batimetría, se establecen los puntos equidistantes del punto central (figura 3).
- 2. Macroinvertebrados asociados a la vegetación arraigada o palustre. Se determinan los parches de vegetación existentes en el tramo a estudiar si es un río o en la costa si es una laguna. Una vez seleccionados y visualmente delimitados, se recolectan muestras en cada uno de ellos, al azar, sin sobremuestrear en el mismo sector.

Se recomienda recolectar entre 3 y 5 muestras en cada punto de la transecta o parche de vegetación.

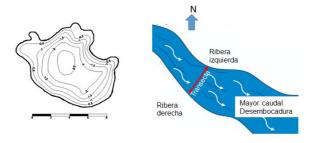


Figura 3 · Morfometría y batimetría de una laguna y tramo de un río.

#### Sustratos artificiales

Es una metodología muy útil cuando el sitio ha sido muy impactado, ya que permite proveer sustratos homogéneos de materiales no encontrados en el sitio y así comparar los efectos derivados de los impactos sobre las comunidades.

Los sustratos artificiales (figura 4) imitan las características de un sustrato de interés para la colonización por macroinvertebrados. El peso seco, el área de colonización de los sustratos pueden ser medidos antes de colocar en el sitio de estudio si se desea obtener la densidad. Considerando los objetivos del estudio, el periodo de tiempo para la colonización es importante (generalmente más de dos semanas) y además se debe tener en cuenta que los sustratos deben ser colocados en la columna de agua o dentro de los sedimentos a una profundidad que permita colectar todos los organismos. Para retirarlos se pueden emplear copos de una abertura de malla adecuada para impedir la pérdida de macroinvertebrados.

Muestreos multihábitats o de hábitat múltiples. Pueden ser cuantitativo, semicuantitativo o cualitativo

Se menciona especialmente este diseño de muestreo dado que es el más frecuentemente empleado para el cálculo de índices bióticos en diagnósticos y monitoreos (*multihabitat approach*, Agencia de Protección Ambiental de los EE. UU., EPA – Barbour *et al.*, 1999). Con ajustes apropiados, permite el cálculo de todas las métricas.

- 1. Se selecciona un tramo de río (como norma general, tendrá una longitud aproximada de 100 m) o el área de una laguna o un humedal.
- 2. Se documentan las características observables del sitio de estudio aguas abajo y arriba del tramo fluvial o en las inmediaciones de los sistemas leníticos ya sean naturales o derivados de los posibles impactos humanos debidos a las actividades y/o usos existentes.
- 3. Se genera un mapa del sitio de estudio con los microhábitats/parches presentes. Este es un diseño de muestreo en que se deben muestrear y documentar todos los microhábitats presentes que puedan ser habitados por macroinvertebrados. Por ejemplo: vegetación acuática, raíces, hojas en descomposición, troncos, afloramientos rocosos o calcáreos, afloramientos rocosos o calcáreos, diferentes tipos de sedimentos (grava, arena, limo—arcilla), etc. En tramos meandriformes de un río, lo que es muy común en la llanura aluvial del río Paraná, puede incluirse la zona de erosión y la de depositación, zonas de aguas rápidas y zonas de remansos y estructuras de origen antrópico presentes.
- 4. Se muestrean los microhábitats en cantidad relativa a su representación porcentual en el sitio. Se recomienda recolectar entre 3 y 5 muestras en cada punto de la transecta o parche de vegetación.
- 5. Los parches se muestrean con el dispositivo (equipo) adecuado al tipo de sustrato y considerando los datos necesarios (cuantitativos, semicuantitativos, cualitativos).

6. Las muestras se pueden integrar o no, es decir, las muestras tomadas de un determinado sitio se pueden analizar en forma separada o integrarlas en una única muestra. Se emplea esta técnica cuando el objetivo es comparar sitios en términos de riqueza o abundancia en promedio y no importa la variabilidad entre muestras.

Se prosigue con el traslado y procesamiento de muestras tal como se describe en la sección correspondiente.

## Toma y procesamiento de muestras en campo y laboratorio

#### En campo

Las muestras pueden ser colectadas con diferentes dispositivos, que deberán ser apropiados para el tipo de microhábitat, sustrato y diseño de muestreo (figura 4).

Para el muestreo de macroinverterbados bentónicos, se pueden emplear dragas, descorazonadores (muestreadores tubulares) o redes dependiendo, en general, de la profundidad y dureza de los sustratos de cada parche, la existencia o no de velocidad de la corriente suficiente y del tipo de datos a obtener (anexo 4). Las dragas y descorazonadores presentan dispositivos de cierre para evitar la pérdida de macroinvertebrados al recolectar la muestra y las redes se operan tratando de evitar la pérdida de material.



Figura 4 · Diseño de para la recolección de muestras de bentos.

Para el muestreo de macroinvertebrados asociados a las macrófitas, cada muestra se recolecta con copos de diámetro y abertura de malla adecuados que se colocan por debajo del área seleccionada para muestrear. Puede ayudar recortar con una tijera de podar las partes aéreas de las plantas.

Los macroinvertebrados asociados a la vegetación arraigada palustre (por ejemplo: totorales), se pueden muestrear con el método de Kornijow y Kairesalo (1994). La metodología consiste en la recolección de tallos individuales o grupos de tallos, mediante tubos de PVC. Se seleccionan los tallos sumergidos, se cortan a nivel de la superficie del agua y se coloca el tubo de PVC intentado perturbar lo mínimo posible tanto el tallo como el agua de su alrededor. Se tapa la parte superior del tubo

con un tapón de goma, se corta el tallo a la altura de la parte inferior del tubo para colocar el otro tapón de goma. Se retira el tubo con cuidado de no perder el contenido de agua y se vierte en una bandeja. Se lavan los tallos con agua de la muestra para despegar todos los macroinverebrados adheridos. Para realizar análisis cuantitativos se puede medir la longitud y el diámetro de los tallos.

Las muestras una vez colectadas, deben ser tamizadas para lavarlas tanto como sea posible con cuidado de no destruir el material biológico. Se recomienda el uso de tamices de nylon monofilamento de 200 a 500 um de abertura de malla según el objetivo del monitoreo. Para posibilitar la conservación adecuada de las muestras, estas deben ser colocadas en recipientes de plástico con cierre hermético y fijadas con solución de formaldehido. Esto se realiza añadiendo formaldehido a la muestra hasta conseguir una concentración final entre 4-10 %. Este procedimiento se debe hacer con mucho cuidado utilizando guantes y máscara ya que el formaldehido es cancerígeno. También puede usarse como conservador de la muestra en el campo, una solución de etanol, pero al no ser un fijador de tejidos, puede perderse algunos organismos de cuerpo blando (por ejemplo, oligoquetos, turbelarios). Dado que es prácticamente imposible por el tipo de sustratos de los ambientes en la provincia y por el tamaño de la mayoría de los invertebrados, separarlos en campo, se deberá emplear directamente alcohol al 96 % para asegurar la correcta conservación de los organismos. En este tipo de muestras es aconsejable sustituir el alcohol de la muestra de campo por nuevo alcohol de 70 %, al llegar al laboratorio (si las muestras se van a almacenar por un período superior a una semana). Estas sustancias son tóxicas y su uso requiere la aplicación de medidas de seguridad e higiene (evitar derrames, trabajar al aire libre o en ambientes bien ventilados, usar guantes y recipientes herméticos). Para facilitar la posterior separación de los invertebrados de la muestra, se puede emplear colorantes, tal como eritrosina que colorea de rojo a los invertebrados facilitando su visualización (figura 5). En algunos casos (estudios moleculares como el de ADN ambiental) se puede requerir transportar material no fijado, para lo cual este se refrigerará y se transportará en conservadoras.

#### En laboratorio

En laboratorio, con el uso de guantes, mascarilla y gafas de protección se procede a lavar el recipiente que contiene la muestra; se vierte la muestra sobre el tamiz seleccionado y se recoge el agua con formol o alcohol para su tratamiento posterior como residuo tóxico. Luego bajo la canilla, se lava la muestra con abundante agua, hasta que desaparezca el olor. Se retiran manualmente, gravas, guijarros, piedras, hojas, los restos más gruesos de detritos revisando muy bien que al eliminarlos no queden macroinvertebrados adheridos.

Si se desea expresar el número de macroinvertebrados asociados a macrófitas, en general son referidos a peso seco vegetal (ind/gramo peso seco). Para ello, se secan las partes sumergidas en estufa a 60–80 °C hasta peso constante.

Los invertebrados se extraen con pinzas y/o pipetas Pasteur de la muestra directamente o con ayuda de lupas (generalmente de 4x de aumentos es suficiente); luego se identifican bajo microscopio estereoscópico u óptico empleando claves taxonómicas (ver listado de claves para los diferentes taxa en la bibliografía) y se asignan a grupos funcionales en caso de ser requerido (se listan referencias bibliográficas clásicas y para estudios en la provincia). Se cuentan los macroinvertebrados ya sea de toda la muestra o de submuestras según corresponda y se conservan en solución de etanol al 70 % con el rotulado correspondiente (figura 5). Algunos organismos pueden requerir para su correcta identificación aclararlos o realizar preparados permanentes sobre portaobjetos. Para aclarar a los quironómidos se puede utilizar hidróxido de potasio al 10 % o medio de Hoyer (Trivinho—Strixino, 2011) y lactofenol para oligoquetos (Marchese, 2009).

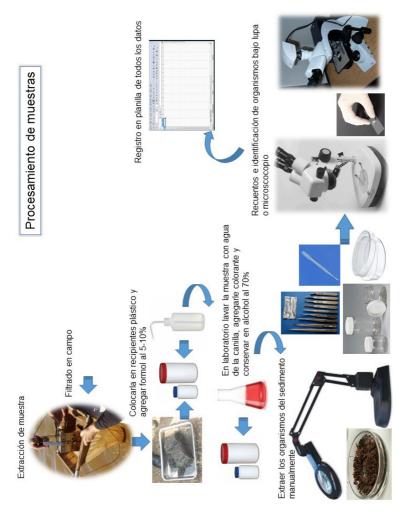


Figura 5 · Procesamiento de muestras de macroinvertebrados en campo y laboratorio.

Cada muestra se identificará mediante rotulado o con una etiqueta adhesiva con fibra indeleble en el exterior del recipiente y con una etiqueta de papel vegetal escrita en lápiz colocada en el interior del frasco. En todas las etiquetas se anotará la información que se detalla en el aparatado de diseño. En la etiqueta externa se anotará también:

Conservante (por ejemplo, formaldehído 4–10 % o alcohol 70–96 %). Si se utiliza más de un recipiente por muestra, estos se numerarán (por ejemplo, 1 de 2, 2 de 2, etcétera).

La densidad se puede expresar en unidades de área (individuos/m²) o biomasa en el caso de los macroinvertebrados asociados a macrófitas (individuos/g peso seco), esfuerzo de muestreo (individuos/tiempo) o una combinación (individuos/m²/m/g\*tiempo).

#### Materiales

## De protección personal:

- Botas o vadeadores de pescador.
- Guantes.
- Máscara con filtros adecuados.
- Gafas.

# Para la recolección de muestras en campo:

- Equipos para la recolección de muestras, baldes, palanganas.
- Recipientes contenedores con cierre hermético de por lo menos ½ L.
- Bolígrafo o rotulador permanente. Si se usan etiquetas, estas deben ser resistentes al agua.
- Lápiz, tijeras, cinta aislante.
- Planilla de campo (ver anexo).

## Para la manipulación de muestras en el laboratorio:

- Bacha con canilla.
- Bateas blancas de plástico para la separación.
- Tamices de abertura de malla adecuada.
- Cajas de Petri.

- Pinzas de diversos tamaños.
- Recipientes de plástico con cierre hermético.
- Lupa, microscopio estereoscópico, microscopio óptico.
- Campana de gases o extractor.
- Rotulador resistente al agua.
- Etiquetas.
- Formularios previamente preparados para anotar la identificación y recuentos. Pueden contener una lista de taxa con espacios para indicar su presencia en la muestra y anotar el recuento; esta misma planilla se tendrá en formato digital para ir cargando los datos (ver anexo 2).
- Guías de identificación taxonómica y clasificación funcional adecuadas.

#### **Bioindicadores**

A continuación, se sugieren indicadores que han sido aplicados en ambientes de la región y otros que podrían ser buenos candidatos pero que aún no se han validado. Es importante remarcar que los indicadores deben ser ajustados a las condiciones ambientales y fauna regionales y, que, si bien actualmente el equipo de investigación se encuentra trabajando en esa temática, aún no se cuenta con esta información.

Se mencionan métricas que pueden ser utilizadas para diagnosticar la calidad ambiental, a nivel de comunidades o ensambles en estudios de campo; algunas se basan en alteraciones morfológicas derivadas de los impactos a nivel de individuos o poblaciones mientras que otras funcionan a nivel de las metacomunidades. Asimismo, existen estudios que se desarrollan en laboratorio como los ensayos de toxicidad agudos y crónicos que complementan los estudios de campo.

Existe una gran variedad de métricas que se pueden agrupar en métricas de riqueza, estructura, tolerancia, funcionales e índices bióticos (tradicionales y multimétricos). Un mayor detalle de numerosas métricas se puede encontrar en la Tabla 1.

Tabla 1 · Métricas e índices bióticos aplicados en ambientes acuáticos de la provincia de Santa Fe.

Medidas	Fórmula	Tipo de	Tipo de impacto que mide	Aumenta o disminuye	Tipo de muestreo	Referencia bibliográfica
					cualitativo, cuantitativo	tivo
	descripción metodológica	hábitat			semicuantitativo	
				con el impacto		
	N° ET taxa∗	Río, arroyo	Contaminación orgánica	Disminuye	Cuantitativo	
	N° Ephemeroptera	Río, arroyo	Contaminación orgánica	Disminuye	Cuantitativo	Barbour e <i>t al.</i> (1996b)
Riqueza	N° Trichoptera taxa	Río, arroyo	Contaminación orgánica	Disminuye	Cuantitativo	Barbour e <i>t al.</i> (1996b)
	N° Total taxa	Río, arroyo	Contaminación orgánica	Disminuye	Cuantitativo	Barbour <i>et al.</i> (1996b)
				(variable)		

			Contaminación			
	% ET	Río, arroyo	orgánica	Disminuye	Cuantitativo	Barbour <i>et al.</i> (1996b)
	%		Contaminación			
	Ephemeroptera	Río, arroyo	orgánica	Disminuye	Cuantitativo	Barbour <i>et al.</i> (1996b)
			Contaminación			
	% Chironomidae	Río, arroyo	orgánica	Aumenta	Cuantitativo	Hayslip (1993), Barbour <i>et al.</i> (1996b)
	Limnodrilus		Contaminación			
Estructura	hoffmeisteri/	Río, arroyo	orgánica	Aumenta	Cuantitativo	Marchese (1997);
						Marchese y Ezcurra de Drago (1999),
	densidad total					Pavé y Marchese (2005)
			Contaminación			
	% Naidinae	Río, arroyo	orgánica	Aumenta	Cuantitativo	Marchese <i>et al.</i> (2008)
	Chironomidae/		Aumento de			
	Oligochaeta	Río, arroyo	salinidad	Disminuye	Cuantitativo	Marchese y Ezcurra de Drago (1999),
						Pavé y Marchese (2005)
	N° Taxa		Contaminación			
	intolerante	Río, arroyo	orgánica	Disminuye	Cuantitativo	Barbour <i>et al.</i> (1996b)
	% Organismos		Contaminación			
	tolerantes	Río, arroyo	orgánica	Aumenta	Cuantitativo	Barbour <i>et al.</i> (1996b)
Tolerancia	Hilsenhoff Biotic		Contaminación			
	Index	Río, arroyo	orgánica	Aumenta	Cualitativo	Hilsenhoff (1987), Barbour et al. (1992)
	(HBI)					Hayslip (1993), Kerans y Karr (1994)
	% Taxa		Contaminación			
	dominante	Río, arroyo	orgánica	Aumenta	Cuantitativo	Barbour <i>et al.</i> (1996b)

	N° Taxa		Contaminación			
	reptantes	Río, arroyo	orgánica	Disminuye	Cuantitativo	Cummins y Klug (1979);
						Cummins et al. (2008)
			Contaminación			
	% Reptantes	Río, arroyo	orgánica	Disminuye	Cuantitativo	Cummins y Klug (1979);
						Cummins et al. (2008)
			Contaminación			
runcionales	% Filtradores	Río, arroyo	orgánica	Variable	Cuantitativo	Kerans y Karr (1994),
						Barbour <i>et al.</i> (1996b)
			Contaminación			
	% Raspadores	Río, arroyo	orgánica	Disminuye	Cuantitativo	Barbour et al. (1996b)
	N° Grupos		Contaminación			
	funcionales	Río, arroyo,	puntual	Disminuye	Cuantitativo	Merrit et al. (2017)
	Tróficos	laguna	o difusa			
			Contaminación			
	ASPT	Río, arroyo	orgánica	Disminuye	Cualitativo	Armitage et al. (1983)
	SIGNAL	Río, arroyo	Enriquecimiento de nutrientes y salinidad,	Variable	Semicuantitativo	Chessman (2001)
			contaminación urbana, agrícola o industrial	ana, agrícola c	industrial	
	IBPAMP	Río	Contaminación orgánica	Disminuye	Cualitativo	Rodrigues Capítulo et al. (2001)
Indices Bióticos	IMRP	Río, arroyo,	Contaminación orgánica	Disminuye	Semicuantitativo	Rodrigues Capítulo (1999)
		laguna				
	ICBrio	Río, arroyo	Contaminación orgánica y química	Aumenta	Cuantitativo (multimétrico)	Kuhlmann et al. (2012)
	lCBrepresas	Lagunas,	Contaminación orgánica y química	Aumenta	Cuantitativo (multimétrico)	Kuhlmann et al. (2012)
		humedales				

\*El indicador original era EPT, pero dado que Plecoptera no se registra en Santa Fe, se sugiere un indicador modificado.

En cuanto a la diversidad, esta suele ser menor en ambientes alterados como resultado de la disminución del número de taxa y de la diferente distribución de la abundancia (unos pocos taxa muy abundantes). Entre los índices más usados se encuentra el índice de Shannon–Wiener (1963) y el de Margalef (1958). El uso de los índices de diversidad requiere muestreos cuantitativos. El primero ha sido cuestionado para monitoreos y se ha dicho que solo debe ser tenido en cuenta como un parámetro más a analizar en la estructura de la comunidad, pero no para determinar por sí solo grados de polución (Prat *et al.*, 2009).

En ríos del sistema del río Paraná se ha aplicado la relación *Limnodrilus* hoffmeisteril densidad total, que aumenta en ambientes con contaminación orgánica. Por otra parte, en los ambientes de alta conductividad como los de la cuenca del río Salado, se registró una disminución de la relación quironómidos/oligoquetos (Marchese y Ezcurra de Drago, 1999; Pavé y Marchese, 2005). Por otro lado, en cauces secundarios y tributarios de menor caudal y lagunas, se han aplicado otros índices tales como el Índice de Macroinvertebrados para ríos Pampeanos (IMRP, Rodrigues Capítulo, 1999), Índice Biótico para arroyos y ríos Pampeanos (IBPAMP, Rodrigues Capítulo et al., 2001), Biological Monitoring Working Party (BMWP, Armitage et al., 1983; Alba Tercedor y Sánchez Ortega 1988), Average Score Per Taxon (ASPT), Índice Biótico de Familias (IBF, Hilsenhoff, 1988), SIGNAL 2 (Chessman, 2003) (Damborsky v Poi, 2015; Capeletti et al., 2017, 2019; Arias et al., 2022; Marchese et al., 2020). En algunos ríos de la región también se aplicó el Índice multimétrico de Comunidad Bentónica (ICB, propuesto por Kuhlmann et al., 2012) (Informes técnicos ríos Baradero y Paraná de Las Palmas). Recientemente se propuso un índice multimétrico para ser aplicado en ríos salinos, Index of Benthic Invertebrates in Saline Rivers (IBIS) (Capeletti et al. 2021). Los índices bióticos han sido más ampliamente desarrollados y aplicados en ambientes lóticos que en ambientes leníticos, no siendo la provincia de Santa Fe la excepción. Para

ambientes de la provincia aún se requiere determinar valores de tolerancia de muchos taxa comunes en los ambientes acuáticos de la región para ajustar mejor los resultados obtenidos de la aplicación de los índices bióticos utilizados en otras regiones del país (Tabla 1).

A continuación, se explican los índices que fueron aplicados y que demostraron su eficiencia en ríos de Santa Fe.

## Índice de Macroinvertebrados para rios pampeanos (IMRP)

Este índice (Rodrigues Capítulo, 1999) surge como adaptación a ríos de la región pampeana del índice BMWP (Alba–Tercedor y Sánchez–Ortega, 1988), siendo:

IMRP= 
$$\Sigma Vx$$
,

donde Vx, es el valor de tolerancia—sensibilidad de cada taxón de los invertebrados registrados. El valor Vx es inversamente proporcional al grado de tolerancia a la contaminación y varía desde un valor de 0,1 adjudicado a los invertebrados más tolerantes, como por ejemplo Nematoda hasta 1,9 otorgado a grupos más sensibles tales como larvas de Ephemeroptera.

Estos índices están basados en el efecto que produce la contaminación orgánica sobre distintos taxa y el IMRP considera solo datos cualitativos referidos a la presencia de macroinvertebrados y su tolerancia a la contaminación.

**Tabla 2** · Valores del Índice de Macroinvertebrados para Ríos Pampeanos (IMRP) y su condición asociada.

IMRP	Condición
0-1	Contaminación muy fuerte
1,1-2,5	Contaminación fuerte
2,6–3,9	Contaminación moderada
4,0–7,9	Contaminación débil
8,0–12	Contaminación escasa
12,1–20	Contaminación muy leve o nula

## Índice Biótico para arroyos y ríos pampeanos (IBPamp)

Este índice (Rodrigues Capítulo *et al.*, 2001)) combina la riqueza de taxa, a un nivel taxonómico de resolución variable (orden, familia, género o especie), con su tolerancia a la contaminación. Considera solo datos cualitativos referidos a la riqueza de macroinvertebrados en relación con su tolerancia a la contaminación. El valor asignado depende de la presencia de taxa, definidos como unidades sistemáticas (US) que determinan el ingreso horizontal en una tabla de doble entrada. Según el valor obtenido con el IBPAMP se definen cinco clases de calidad del agua que varían entre muy fuertemente poluída (1–3), muy poluída (4–5), moderadamente poluída (6–7), ligeramente poluída (8–9), no poluída (10–13).

 Tabla 3 ⋅ Clases de calidad de agua basada en el índice IBPAMP.

Clase	IBPAMP	Significado	Color
T	10–13	No poluída	
II	8–9	Ligeramente poluída	
III	6–7	Moderadamente poluída	
IV	4–5	Muy poluida	
V	1–3	Muy fuertemente poluida	

#### SIGNAL 2

Pondera aspectos cualitativos y cuantitativos para la calificación de la calidad del agua del río del cual procede la muestra analizada. Este índice (Chessman, 2003), requiere una identificación de los macroinvertebrados al nivel taxonómico de familia o mayor. A cada categoría taxonómica se le asigna un puntaje que varía entre 1 y 10, de acuerdo a su tolerancia a la contaminación, al grupo de mayor sensibilidad le corresponde un puntaje más alto. Se asigna otro número, un factor de ponderación, que

varía entre 1–5 según la abundancia absoluta de cada taxón. El puntaje final resulta de la siguiente fórmula:

SIGNAL  $2 = \Sigma$  puntaje de taxon x factor de ponderación/ $\Sigma$  factor de ponderación

El siguiente paso es graficar en un biplot el puntaje final (en y) y el número de categorías taxonómicas registradas (en x).

Para darle significado en términos de nivel de impacto, se debe dividir el gráfico en 4 cuadrantes. Los límites se establecen considerando que los sitios de menor impacto o referencia se ubiquen en el cuadrante 1.

Límites entre cuadrantes varían con áreas geográficas, métodos de muestreo y tipo de hábitats.

## **CUADRANTE 3** CUADRANTE 1 Los resultados en este cuadrante Los resultados en este cuadrante frecuentemente indican contaminación generalmente indican hábitat favorable tóxica o condiciones físicas desfavorables y agua químicamente diluida (o muestreo inadecuado) **CUADRANTE 4 CUADRANTE 2** Los resultados en este cuadrante Los resultados en este cuadrante generalmente indican contaminación urbana. frecuentemente indican altos niveles industrial o agrícola, o efectos aguas debajo de salinidad o conductividad de una represa (pueden ser naturales)

Número de familias de macroinvertebrados.

Diagrama 1 · Diagrama de cuadrantes para las familias de macroinvertebrados para la aplicación de Signal 2. Tomado de Chessman (2003).

### Índice Biótico de Familia

Este índice (Hilsenhoff, 1988) es una adaptación del índice Biótico de polución orgánica (Hilsenhoff, 1987) para una evaluación rápida dando valores de tolerancia para familias. Así el IBF es un promedio de valores de tolerancia de todas las familias de artrópodos (insectos y crustáceos) de una muestra.

Se calcula multiplicando el número de organismos de cada familia por el valor de tolerancia asignado (apéndice) a dicha familia, se suman esos productos y se divide por el número total de artrópodos en la muestra para obtener el índice del río. Los artrópodos se identifican en general por familia pero también se pueden identificar al nivel taxonómico de género.

**Tabla 4** · Evaluación de la calidad del agua usando el índice biótico a nivel familia (IBF, Hilsenhoff, 1988).

Índice Biótico de Familia	Calidad del agua	Grado de contaminación orgánica
0.00 – 3.75	Excelente	Contaminación orgánica poco probable
3.76 – 4.25	Muy buena	Posible contaminación orgánica
4.26 – 5.00	Buena	Alguna probable contaminación orgánica
5.01 – 5.75	Regular	Probable contaminación orgánica sustancial
5.76 – 6.50	Muy regular	Contaminación orgánica sustancial probable
6.51 – 7.25	Mala	Contaminación orgánica
7.26 – 10.00	Muy mala	Severa contaminación orgánica

## Índice de Comunidad Bentónica para ríos (ICBrío)

Los siguientes descriptores componen el 1CB río (Kulhmann *et al.*, 2012) que es un índice multimétrico:

- 1. Riqueza (S), siendo simplemente la suma de las categorías taxonómicas encontradas en la muestra.
- 2. Índice de Diversidad de Shannon–Wiener (H'), calculado como log en base 2.
- 3. Índice de Comparación secuencial (ICS) (Cairns y Dickson, 1971).
- 4. Relación Tanytarsini/Chironomidae (Tt/Chi), con datos de densidad (USEPA, 1989).
- 5. Riqueza de taxa sensibles (Ssens). Los Ephemeroptera, Plecoptera (este grupo no se registra en la región), Trichoptera y género Stempellina de Chironomidae-Tanytarsini.
- 6. Dominancia de grupos tolerantes (T/DT). Los Tubificidae (actualmente Tubificinae) sin quetas capilares y los Tubificinae con queta capilar (Tubifex), Naididae v Chironomus son considerados tolerantes.

Para el cálculo de Índice de Comunidad Bentónica uno solo de los índices, el de diversidad (H') o el 10s es considerado.

El valor final que dará un diagnóstico o una clasificación de calidad de hábitat, será simplemente una media aritmética del valor obtenido con la suma de puntos de cada métrica.

Clase	Puntaje	S	ICS	H′	T/TD
Pésima	5				
		_			

**Tabla 5** · Índice de Comunidad Bentónica para ríos (ICBrío)

Clase	Puntaje	S	ICS	H′	T/TD	Ssens
Pésima	5					
Mala	4	≤5	≤3.00	≤1.00	>0.75	0
Regular	3	6 – 13	>3.00 - ≤9.50	>1.00- ≤1.50	≥0.50- ≤0.75	1
Buena	2	14 – 20	>9.50- ≤ 20.00	>1.50 -≤2.50	>0.25- <0.50	2
Óptima	1	≥21	>20	>2.50	≤0.25	≥3

Mercedes R. Marchese <sup>13</sup> Florencia L. Zilli <sup>13</sup>

# 7. Macrófitas acuáticas

#### Introducción

Actualmente el término macrófitas o macrófitos acuáticas se refiere a un grupo diverso de organismos fotosintéticos lo suficientemente grandes como para ser visibles a ojo desnudo, sumergidas, flotando o creciendo sobre la superficie del agua (Chambers *et al.*, 2008). Por su enfoque ecológico y no taxonómico, el término macrófitas acuáticas incluye desde macroalgas (por ejemplo: caráceas), briófitos o musgos (como el género *Ricciocarpus*), pteridófitas o helechos (por ejemplo: géneros *Salvinia* y *Azolla*) hasta los vegetales superiores, en especial las angiospermas (como los géneros *Eichhornia* y *Limnobium*) que constituyen la mayoría de las especies (Thomaz y Esteves, 2011). Se incluyen imágenes de las macrófitas que pueden encontrarse en cuerpos de agua de la provincia de Santa Fe (figura 1,<sup>2</sup> provistas por Schneider, B.).

<sup>1.</sup> Instituto Nacional de Limnología (INALI, CONICET, UNL).

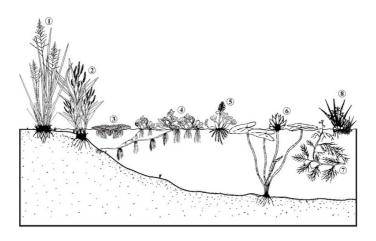
<sup>2.</sup> Agradecemos a la doctora Berenice Schneider por facilitarnos fotografías de diferentes macrófitas.

<sup>3.</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Se pueden distinguir distintas formas de vida de las macrófitas, tales como: (a) especies emergentes, arraigadas en el sedimento, con tallos aéreos y hojas que crecen por encima de la superficie del agua (Ludwigia, Thalia, Polygonum); (b) arraigadas en el sedimento, que extienden los tallos sobre la superficie con las hojas emergiendo de la columna de agua (Eichhornia azurea, Paspalum); (c) arraigadas en el sedimento, con pecíolos que alcanzan la superficie del agua y las láminas de las hojas son flotantes (Nymphoides, Victoria); (d) flotantes libres, con hojas sobre la superficie del agua y raíces acuáticas (Eichhornia crassipes, Salvinia, Pistia, Lemna, Azolla); (e) sumergidas que permanecen libres por debajo de la superficie del agua y pueden fijarse a otras plantas o estructuras sumergidas (Ceratophyllum, Utricularia); (f) sumergidas arraigadas en el sedimento, con todas sus estructuras debajo del agua (excepto flores, en algunas especies) (Egeria, Cabomba, Potamogeton); (g) epífitas que crecen en contacto con el agua superficial sobre otras macrófitas flotantes y tienen tallos y hojas aéreas (Oxycarium) (Schneider et al., 2018) (figura 2).



**Figura 1** · Fotografías de diferentes especies de macrófitas representativas. *Fuente: B. Schneider.* 



**Figura 2 ·** Formas de vida de macrófitas (modificado de: Thomaz y Bini, 2003). 1 y 2 emergentes, 3 y 5 flotantes libres, 4 y 6 flotante arraigada, 7 sumergida, 8 epífita.

Las macrófitas desempeñan un papel muy importante en el funcionamiento de los ecosistemas, ya que participan en los ciclos biogeoquímicos y en los flujos de nutrientes y materia orgánica en el medio acuático y terrestre a través de los productos de su descomposición y por su uso como alimento por muchos animales. Muchos organismos acuáticos y aéreos como invertebrados, anfibios y peces utilizan a las macrófitas como áreas de refugio, de desove o depósito de huevos fertilizados (Tundisi y Tundisi, 2008). Por otro lado, algunas macrófitas son utilizadas en tratamientos de aguas residuales cloacales y domiciliarias por la capacidad de bioacumulación y remoción de contaminantes. Por ejemplo, en la provincia, se ha propuesto la utilización de humedales artificiales con distintas especies de macrófitas para el tratamiento de efluentes industriales que contienen metales (Maine *et al.*, 2004, 2006; Hadad *et al.*, 2006; Mufarrege *et al.*, 2010, entre otros).

Además, las macrófitas son buenos indicadores de presiones físicas y químicas producidas por la reducción de la transparencia del agua, variación de la conductividad y salinidad y cambios en el estado trófico de los ambientes. Asimismo son considerados indicadores de modificaciones hidromorfológicas, tales como variaciones del régimen de caudal, de la continuidad y características morfológicas del lecho en ríos, alteraciones del nivel del agua en ambientes leníticos o cambios en la duración del período de inundación en humedales.

#### Diseño de muestreo

El diseño del muestreo depende de los objetivos, pero lo ideal sería primero identificar y mapear los estands o bancos de macrófitas representativos en composición y cobertura del tamo de río, arroyo o en la laguna a estudiar. También de los hábitats con los posibles impactos por actividades y usos en el ambiente y alrededor del mismo. La caracterización de los hábitats debe incluir: tipo de sustrato, profundidad, condiciones de iluminación y tipo de vegetación costera o ribereña (árboles, arbustos) que pueden afectar el sombreado. Luego se seleccionan por sorteo un número de estands o estaciones a muestrear y en ellos se toman las muestras con los cuadrados (figura 3). En lagunas se establecen transectas desde la orilla al centro de la laguna y a distancias a determinar (según el tamaño del cuerpo de agua) se establecen los cuadrados (figura 3).

# Ejemplos de muestreo para recolección de macrófitas acuáticas en lagunas



En áreas representativas, después de reconocimiento de bancos o estands de macrófitas. Se recomienda los cuadrados al azar



En una transecta desde la orilla al centro de la laguna

Figura 3 · Representación gráfica mostrando diseños de muestreo para recolección de macrófitas.

En algunos casos, como cuando el ambiente es una laguna grande (Setúbal, Coronda), o si el tramo del río a analizar tiene una longitud superior a 50–100 m o bien hay partes profundas y cuando el objetivo es comparar ambientes con las mismas características hidrogeomorfológicas conviene seleccionar varias estaciones de muestreo para realizar transectas perpendiculares a la orilla. Las transectas deben estandarizarse (en largo y ancho) lo máximo posible para permitir la comparación entre ambientes.

Una vez identificadas las estaciones de muestreo se fijará su posición tomando las coordenadas geográficas con un GPS para su localización posterior. Para las transectas se fija coordenada de inicio y coordenada de fin de transecta.

En ríos vadeables, como los arroyos pampeanos del sur de la provincia, la toma de muestras se realiza a partir de recorridos de la totalidad del tramo seleccionado, en zigzag desde una orilla a la otra. En ríos más profundos se puede hacer en zigzag o recorriendo una ribera del tramo seleccionado y luego la otra.

Para el monitoreo de un impacto hidromorfológico, los muestreos se deben realizar en aguas altas y aguas bajas mientras que para monitorear las condiciones tróficas a inicio (primavera) y final (inicio otoño) del período vegetativo. No se requieren frecuencias cortas de muestreo, teniendo en cuenta que la respuesta de las macrófitas es más lenta que la de otros indicadores como las microalgas.

#### Técnicas de recolección

Los relevamientos de macrófitas pueden ser realizados a diferentes escalas espaciales que resultan en diferentes niveles de detalles. Un análisis de imágenes satelitales, fotografías aéreas es útil para clasificar y mapear la vegetación acuática a mayor escala. Una de las mayores dificultades de esta metodología es el reconocimiento de plantas sumergidas y discriminar entre macrófitas emergentes o flotantes. La recolección en campo, en general no presenta muchas dificultades para especies flotantes, emergentes o fijas con hojas emergentes. Mientras que la recolección de plantas sumergidas requiere de cuidados adicionales, principalmente en sitios con poca transparencia del agua que dificulta su visualización.

El método del cuadrado es una de las formas más comunes de muestreo de vegetación con partes flotantes o emergentes. Estos cuadrados pueden ser confeccionados de madera o PVC que permitan su flotabilidad (figura 4). El método consiste en colocar un cuadrado sobre la vegetación, para determinar la densidad, cobertura y frecuencia de las plantas. El tamaño del cuadrado está inversamente relacionado con la facilidad y rapidez con que se lleva adelante el muestreo. El tamaño del cuadrado puede variar

y depende de la forma de vida y de la densidad de los individuos. En general, se utilizan áreas entre 0,5 y 1 m² (1 x 1m) (figura 3) y de 0,25 m² para la obtención de biomasa (Thomaz *et al.*, 2004; Schneider *et al.*, 2015).



Figura 4 · Técnica del cuadrado para recolectar macrófitas.

Fuente: Fotos tomadas por Schneider, B. (INALI-CONICET-UNL).

Para la recolección de plantas completamente sumergidas se recomienda emplear ganchos o rastrillos con mango extensible o con sogas en caso de ambientes con mayor profundidad (figura 5). También se pueden emplear dragas (ver capítulo 7, macroinvertebrados). En algunos casos, los estands sumergidos se pueden observar a simple vista ya que los sitios pueden ser muy transparentes. En otros casos, es complejo debido a la escasa transparencia como en muchos de nuestros ríos y lagunas, por lo que es necesario sistematizar el muestreo para poder colectar las muestras. Para esto perpendicularmente a la orilla, en la zona donde crecen las macrófitas sumergidas se toman muestras cada cierta longitud (0,5 m o bien cada 2–5 m o >5 m según la escala de trabajo).



Figura 5 · Rastrillo para recolectar macrófitas sumergidas.

En general, se recomienda tomar o recolectar 5 réplicas en cada estand pero esto también depende de las limitaciones financieras y del tiempo. Las especies se identifican y anotan su abundancia. Se puede emplear una lupa en campo. En caso de ser necesario identificar con empleo de lupa de mayor resolución o microscopio, se trasladan al laboratorio. Para la mayoría de los indicadores empleados se requiere la identificación a nivel de especie, por lo que en muchos casos debe ser realizada por un especialista.

Para la determinación de biomasa, se deben extraer las plantas retenidas en los cuadrados, colocarlas en bolas plásticas y transportarlas en frío al laboratorio. Luego, se deben lavar cuidadosamente para eliminar los sedimentos retenidos, y organismos vivos asociados. Se separan por especies o no (dependiendo de los objetivos), se seca en estufa a 60 °C hasta peso constante y se pesan en balanza. Los datos son expresados en g PS/m² (gramos de Peso Seco /m²).

#### Cobertura o abundancia

La cobertura ha sido utilizada para medir la abundancia de especies y sirve para determinar la dominancia de especies o formas de vida (Matteucci y Colma, 1982). En el método de cuadrantes, la cobertura se obtiene en porcentajes. Existen varias escalas, pero la mayoría se basa en el área cubierta por cada especie.

La mayoría de los valores para determinar la abundancia o cobertura se basan en la técnica desarrollada por Braun-Blanquet (1932), ya que requiere de poco tiempo y puede ser repetible independientemente del observador. Se utilizan cuadrantes y se realiza un inventario de todas las especies que existen en el área muestreada; se procede a darle categorías de cobertura a cada especie (Tabla 1). Este procedimiento (el censo) se repite en tantos sitios como sea necesario según el diseño de muestreo.

**Tabla 1** · Escala de cobertura-abundancia de Braun Blanquet (1932).

R	Muy baja cobertura, uno o pocos individuos
+	Menos de 1 % de cobertura
1	Cobertura entre 1 y 5 %
2	Cobertura entre 5 y 25 %
3	Cobertura entre 25 y 50 %
4	Cobertura entre 50 y 75 %
5	Cobertura entre 75 y 100 %

## Conservación, etiquetado y transporte de las muestras

Se recomienda obtener y conservar muestras de las diferentes especies cuando no se tenga total certeza en la identificación *in situ*. Las muestras recolectadas en campo se guardan en bolsas de plástico herméticas y colocan en frío hasta su identificación o conservación permanente. Para la conservación permanente de las macrófitas de pequeño tamaño se pueden colocar en bolsas de plástico con una solución de formaldehído al 4 %. También se pueden conservar entre hojas de papel al igual que las plantas de mayor tamaño. Los musgos se secan al aire y se guardan en sobres de papel. Las macrófitas de mayor tamaño se conservan en seco y se coloca el ejemplar entre hojas de papel secante que se prensará

durante 3–5 días, cambiando el papel cada dos días hasta que la planta esté lo suficientemente seca. Todas las muestras y preparaciones deben estar convenientemente etiquetadas de forma que se identifique un código de la muestra, procedencia (localización), fecha de recolección, fijador utilizado y persona o entidad a cargo de la recolección e identificación. El código de la muestra servirá de enlace en la base de datos. Se utilizará un rotulador resistente al agua o lápiz sobre papel vegetal.

## Equipos y materiales

En muchos ambientes se puede muestrear desde la orilla en las zonas someras o requerirse embarcaciones para las zonas profundas.

- Botas o vadeadores de caucho, salvavidas.
- Guantes de látex (para aguas sospechosas de contaminación).
- Gafas de sol polarizadas.
- Rastrillo, gancho, draga.
- Sogas y boyas para fijar transectas.
- Scandallo o cinta métrica lastrada para medir profundidades.
- Cinta métrica lavable con plomos para marcar transectas
- Bandejas de plástico blanco.
- Bolsas de plástico herméticas.
- Recipientes de plástico y tubos pequeños de plástico (para especies pequeñas).
- Conservadora portátil.
- Prensa portátil para la conservación en seco de plantas vasculares.
- Aparato de localización geográfica (GPS).
- Mapas, con escalas compatibles con el muestreo de macrófitas.
- Rotulador permanente (o cualquier otro método para etiquetar las muestras). Si se usan etiquetas, estas deben ser resistentes a la humedad.
- Embarcación adecuada.
- Lupa, x10 aumentos como mínimo o microscopio para identificar.
- Claves de identificación y guías de campo.

#### Indicadores

Para la provincia de Santa Fe no se cuenta con experiencias previas publicadas de la aplicación de índices bióticos basados en macrófitas. Sin embargo, a nivel mundial, existen muchos estudios que han utilizado a las macrófitas como indicadores biológicos de calidad ambiental en lagos y represas (Beck *et al.*, 2010; Radomski y Peleberg, 2012), ríos y arroyos (Aguiar *et al.*, 2014) y humedales (Dekeyser *et al.*, 2003). Entre los índices comúnmente aplicados en regiones templadas se pueden mencionar Mean Trophic Rank (MTR, Dawson *et al.*, 1999; Holmes *et al.*, 1999), Trophic Index of Macrophytes (TIM, Schneider y Melzer, 2003), el Indice Biologique Macrophytique en Rivieres (IBMR, AFNOR, 2003; Haury *et al.*, 2000) y un antecesor del IBMR, el Scientific Group GIS Index (GIS, Haury *et al.*, 1996); el Índice de Vegetación Acuática Macroscópica (IVAM, que tiene dos versiones según la resolución taxonómica, el IVAM—G (Género), el IVAM—B (Baja resolución) (Moreno *et al.*, 2006).

Por otro lado, en regiones tropicales o subtropicales los estudios son muy escasos con este enfoque. Neiff *et al.* (2014) estudiaron la importancia de las plantas acuáticas como indicadoras de fases hidrológicas (aguas altas y aguas bajas) a lo largo del río Paraná desde la confluencia con el río Paraguay hasta su desembocadura en el Río de la Plata. Más recientemente, Alonso *et al.* (2018) analizaron el potencial uso de macrófitas como biomonitores de humedales periurbanos del tramo medio del río Paraná. En Brasil, Pereira *et al.* (2012) y Hegel y Melo (2016) evaluaron el potencial indicador de especies de macrófitas registradas en lagos someros y arroyos de Río Grande do Sul. Más recientemente, Umetsu *et al.* (2018) desarrollaron el Macrophyte Index of Biotic integrity in Itanhaém (MIBI—ITA) donde evalúan a las macrófitas como indicadores de calidad de la cuenca del río Itanhaém en Brasil y proporcionan un índice para monitorear los impactos de la agricultura y el uso del suelo urbano en

la calidad del agua. En dicho índice seleccionan las métricas de riqueza de especies, proporción de formas de vida (número de taxa por grupo/ número total de taxa) de macrófitas flotantes, sumergidas y emergentes. En sitios degradados registraron menos especies y una menor proporción de macrófitas flotantes y sumergidas y una mayor proporción de macrófitas emergentes. Alguno de estos índices se podría aplicar y ajustar a ambientes de la provincia.

Ulises Reno <sup>12</sup> Natali Romero <sup>12</sup> Luciana Regaldo <sup>12</sup> Mercedes R. Marchese <sup>32</sup> Ana María Gagneten <sup>1</sup>

# 8. Ensayos ecotoxicológicos

### Introducción \*

Los ambientes acuáticos pueden ser impactados debido a la incorporación de contaminantes de diferente origen a través de diversas vías, que modifican su composición y su calidad (Lopretto y Tell, 1995).

Una de las herramientas de gestión ambiental utilizada para controlar o anticipar eventos de contaminación es el monitoreo químico, que proporciona información sobre la concentración de uno o más contaminantes en un lugar y/o tiempo determinados. Sin embargo, no permite determinar el comportamiento de las sustancias en el ambiente ni los efectos de eventos de contaminación actuales o pasados sobre organismos, comunidades o ecosistemas (Schwarzenbach *et al.*, 2006).

<sup>1.</sup> Laboratorio de Ecotoxicología. Facultad de Humanidades y Ciencias. Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

<sup>2.</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

<sup>3.</sup> Instituto Nacional de Limnología (INALI-CONICET), Santa Fe, Argentina.

<sup>\*</sup> Las fotos de este capítulo fueron proporcionadas por integrantes del Laboratorio de Ecotoxicología (FHUC, UNL) y del INALI (UNL, CONICET).

En este contexto, la relevancia ecológica de las pruebas ecotoxicológicas se pone en evidencia a la hora de evaluar los efectos de distintos xenobióticos sobre la complejidad biológica. Los primeros criterios ecotoxicológicos para evaluar la toxicidad de los contaminantes sobre especies acuáticas fueron la mortalidad y los daños reproductivos en ensayos estáticos agudos de 48 a 96 horas. Sin embargo, la necesidad de obtener información sobre efectos subletales a dosis bajas, que permitan detectar el estrés previo a la muerte y posibiliten tomar medidas oportunas para mitigar los riesgos, promovió nuevos enfoques metodológicos. Esto permitió el desarrollo de pruebas crónicas, donde los puntos finales considerados son la sobrevivencia, el crecimiento, la fecundidad, cambios morfológicos, fisiológicos y funcionales, y parámetros poblacionales integradores como la tasa neta de crecimiento poblacional (Ro) (Gagneten y Regaldo (2021).

Diferentes organismos gubernamentales y trabajos científicos proponen utilizar especies representativas de ecosistemas acuáticos, como microalgas, macrófitas, cladóceros, copépodos, macrocrustáceos, oligoquetos, dípteros quironómidos y pequeños vertebrados, para evaluar el efecto sobre especies no blanco de distintos contaminantes puros o en mezcla y efluentes de diverso origen y composición. Además, algunos autores destacan la importancia de realizar estudios ecotoxicológicos con especies de biota nativa (Reno *et al.*, 2015; Arias *et al.*, 2022). Utilizar especies que sean sensibles y representativas de los ambientes regionales donde se vuelcan efluentes originados por múltiples actividades antrópicas, permite elaborar evaluaciones de riesgo y niveles guías —máximas concentraciones permitidas— más certeros.

A continuación, se describen las características ecológicas y funcionales de las especies y las condiciones experimentales de los bioensayos con algunas especies representativas de los ambientes acuáticos de Argentina, que fueron utilizadas en investigaciones o propuestas por organismos gubernamentales como organismos de prueba en ensayos ecotoxicológicos.

# Especies representativas del valle aluvial del río Paraná propuestas para ensayos ecotoxicológicos

# Chlorella vulgaris

Las microalgas son el primer eslabón de la cadena trófica, contribuyen al balance de oxígeno en ecosistemas acuáticos, y gracias a ellas, se inicia el flujo de energía en los mismos (Luna, 2007).

Chlorella vulgaris (Beijerinck Novakova, 1890) es una microalga unicelular (2–10  $\mu$ m), cosmopolita (Richmond, 2003) (figura 1), de reproducción asexual, que perteneciente al Phyllum Chlorophyta, Clase Trebouxiophyceae, Orden Chlorellales. Chlorella vulgaris, crece rápidamente en laboratorio y es sensible a contaminantes de diversa naturaleza, características relevantes para seleccionarla como organismo de prueba. Considerando que su crecimiento puede verse afectado por la luz, la temperatura y la disponibilidad de nutrientes, para su cultivo se requieren condiciones estables y controladas (Sabater et al., 2007).

Los ensayos de inhibición del crecimiento algal han sido recomendados por organismos de protección ambiental para la evaluación ecotoxicológica de muestras ambientales y compuestos puros (USEPA, 1996; OECD, 2011) y son utilizadas para evaluar los efectos de diferentes contaminantes tales como plaguicidas y nanopartículas de plata (Reno *et al.*, 2014, 2015, 2016, 2017; Romero *et al.*, 2020).

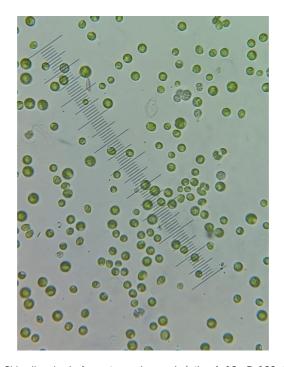


Figura 1 · Chlorella vulgaris. Aumento en microscopio óptico: A: 10x; B; 100x (Reno, 2017).

 $\textbf{Tabla 1} \cdot \text{Resumen de las condiciones experimentales para desarrollar el test de inhibición del crecimiento algal.}$ 

Ensayo de inhibición del crecimiento algal	
Especie	Chlorella vulgaris
Tipo de ensayo	Estático
Duración	96 h o 72 h
Temperatura	23 ± 2 °C
Intensidad de la luz y fotoperiodo	4000–8000 lux – Iluminación constante
Recipiente de prueba	250 ml
Volumen de la solución	100 ml
Renovación de solución	Sin renovación
Agua de dilución	Medio de cultivo sintético (BBM)*
Biomasa inicial	10 000 cél. mL <sup>-1</sup>
Nro. de réplicas por dilución	3 + control negativo*
Nro. de diluciones	5 mínimas
Factor de dilución	0.5
Efecto medido	% Inhibición del crecimiento
Resultado final	Concentración efectiva 50 (CE <sub>50</sub> )
Criterio de aceptabilidad	Densidad celular en el control > 16 veces la densidad inicial

<sup>\*</sup> BBM: Bold's Basal Medium (Bischoff, H. W. y Bold, H. C., 1963).

<sup>\*</sup> Control negativo: tratamiento sin tóxico.

# Lemna gibba

Lemna gibba L. (figura 2) es una macrófita acuática de agua dulce, ampliamente distribuida en Sudamérica. Esta especie se utiliza comúnmente en estudios ecotoxicológicos y fue propuesta por diferentes organizaciones para determinar la fitotoxicidad de contaminantes ambientales (US EPA, 1996; ASTM, 1999; Environment Canadá, 1999; OECD, 2002).

Estas pequeñas plantas tienen importancia ecológica porque son productores primarios y sirven de alimento a aves acuáticas, peces y pequeños invertebrados, intervienen en el reciclado de nutrientes y proporcionan hábitat para pequeños organismos acuáticos (Lemon *et al.*, 2001). Esta especie posee características que permiten que sea utilizada como organismo de prueba en bioensayos: (i) rápida adaptabilidad a las condiciones de laboratorio y facilidad de cultivo, (ii) asimilación de compuestos químicos desde el medio acuático, tanto de compuestos orgánicos como inorgánicos, (iii) ensayo de duración corta debido a su rápido crecimiento, que puede realizarse sin equipamiento especial; (iv) pueden realizarse numerosos ensayos de forma simultánea gracias a su pequeño tamaño, (v) presentan alta sensibilidad frente a diferentes contaminantes y (vi) permiten el uso de plantas genéticamente idénticas debido a su reproducción asexual (Greenberg *et al.*, 1992; Romero, 2022b).



**Figura 2** · Vista inferior y superior de las fondas *Lemna gibba* L. *Fuente: Romero, N.* 

**Tabla 2** • Resumen de las condiciones experimentales para desarrollar el test con *Lemna gibba* en base a la guía de procedimientos 221 OECD (2002).

Ensayo de inhibición del crecimiento	
Tipo de ensayo	Semiestático
Duración	7 días
Temperatura	24 ± 2 °C
Intensidad de la luz y fotoperiodo	6500-10000 lux, exposición continua
Recipiente de prueba	Profundidad mínima de 20 mm
Volumen de la solución	Mínimo 100 mL
Renovación de solución	Cambio en los días 3 y 5
Agua de dilución	20X – AAP
Biomasa inicial	9–12 frondas por réplica
Nro. de réplicas por dilución	3 + control negativo*
Nro. de diluciones	Mínimo 5
Factor de dilución	Serie geométrica, factor que no exceda 3,2
Efecto medido	% Inhibición del crecimiento
Resultado final	Concentración efectiva 50 (CE <sub>50</sub> )
Criterio de aceptabilidad	El tiempo de duplicación del número de frondas en el control debe ser inferior a 2,5 días con un aumento de aproximadamente siete veces en el número de frondas.

<sup>\*</sup> Control negativo: tratamiento sin tóxico.

# Microcrustáceos: Simocephalus vetulus, Ceriodaphnia dubia y Notodiaptomus conifer

Los microcrustáceos son organismos muy utilizados en las pruebas de toxicidad. Entre ellos, *Daphnia magna* es la especie más utilizada en los protocolos internacionales de calidad del agua (OECD, 2000; ISO, 2012; US EPA, 2016). Sin embargo, esta especie no se encuentra presente en los cuerpos de agua de Sudamérica por lo que es conveniente utilizar especies representativas, que respondan a contaminantes relevantes en la región donde se realizan los estudios, tales como *Simocephalus vetulus*, *Ceriodaphnia dubia y Notodiaptomus conifer* (Paggi y Jose de Paggi, 1990; Paggi, 1994; Gutierrez *et al.*, 2010). Las mencionadas especies son componentes principales de la comunidad planctónica en ríos y arroyos de Sudamérica y juegan un rol importante en la red trófica de estos ecosistemas.

# Ceriodaphnia dubia y Simocephalus vetulus

Ceriodaphnia dubia (figura 3) es un microcrustáceo de distribución cosmopolita, caracterizado por Negrea (1983, cit. en Ruíz y Bahamonde, 1989) como especie holártica, etiópica y neotropical, común en ecosistemas leníticos (DeGraeve et al., 1992, Anderson y Benke, 1994). Por otro lado, Simocephalus vetulus (figura 4) está presente en nuestro país (Paggi, 1995) y puede encontrarse en la zona limnética de los ambientes acuáticos, asociados a macrófitas.

Ambos microcrustáceos poseen una alta sensibilidad a diferentes tóxicos en comparación con otros invertebrados de agua dulce, elevada fecundidad, reproducción partenogenética y facilidad para su cultivo en laboratorio, razones por las cuales son muy utilizados para evaluar los efectos de diversos contaminantes (Schroer *et al.*, 2004, Wu *et al.*, 2007, Reno *et al.*, 2014; Reno *et al.*, 2018; Kergaravat *et al.*, 2018); en el caso de *C. dubia* su uso ha sido estandarizado para ensayos ecotoxicológicos (US EPA 2002; Environment Canada 2007; 2010; ASTM, 2015).



Figura 3 · Ceriodaphnia dubia. Aumento en microscopio óptico: 10x (Reno, 2017).



**Figura 4 ·** Simocephalus vetulus. Aumento en microscopio óptico: 10x (Ferrando, 2015).

**Tabla 3 ⋅** Resumen de las condiciones experimentales para desarrollar el test agudo con *Ceriodaphnia dubia* y *Simocephalus vetulus*.

Ensayos de toxicidad aguda		
Especies	C. dubia	S. vetulus
Tipo de ensayo	Estático	Estático
Duración	48 h	48 h
Temperatura	20 ± 1 °C	25 ± 1 °C
Calidad de luz	Iluminación ambiental de laboratorio	Iluminación ambiental de laboratorio
Intensidad de luz y fotoperíodo	10–20 μE/m²/s (50–100 ft-c) - 16 h L/8 h 0	10–20 μE/m <sup>2</sup> /s (50–100 ft-c) - 16 h L/8 h 0
Capacidad del recipiente	30 mL	30 mL
Volumen de solución	15 mL	25 mL
Agua de dilución	Medio sintético (APHA, 1998)	Medio sintético (APHA, 1998)
Edad de los organismos	Neonatos (<24 horas)	Neonatos (<24 horas)
Neonatos por recipiente	5	5
Réplicas por dilución	4	4
Organismos por dilución y control	20	20
Alimentación	Sin alimentación	Sin alimentación
Diluciones	5 + 1 control negativo*	5 + 1 control negativo*
Factor de dilución	≥ 0.5	≥ 0.5
Efecto evaluado	% Mortalidad	% Mortalidad
Resultado final	Concentración Letal 50 (CL <sub>50</sub> )	Concentración Letal 50 (CL <sub>50</sub> )
Criterio de aceptabilidad	Supervivencia del 90 % o más en los controles	Supervivencia del 90 % o más en los controles

<sup>\*</sup> Control negativo: tratamiento sin tóxico.

**Tabla 4**  $\cdot$  Resumen de las condiciones experimentales para desarrollar el test crónico con *Ceriodaphnia dubia* y *Simocephalus vetulus*.

Ensayos de toxicidad crónicos		
Especies	C. dubia	S. vetulus
Tipo de ensayo	Semiestático	Semiestático
Duración	21 días	21 días
Temperatura	20 ± 1 ℃	25 ± 1 ℃
Intensidad de luz y fotoperíodo	15–20 μE/m²/s – 16 h L/8 h O	15–20 μE/m²/s – 16 h L/8 h O
Recipiente de prueba	30 mL	50 mL
Volumen de solución	15 mL	25 mL
Renovación de la solución	Tres veces por semana	Tres veces por semana
Edad de los organismos	Neonatos (<24 horas)	Neonatos (<24 horas)
Agua de dilución	Medio sintético (APHA, 1998)	Medio sintético (APHA, 1998)
Organismos por recipiente	1	1
Réplicas por dilución	10	10
Organismos por dilución y control	10	10
Alimentación	40 μL de <i>C. vulgaris</i> , 3 veces por semana	40 μL de <i>C. vulgaris</i> , 3 veces por semana
Diluciones	5 + 1 control negativo*	5 + 1 control negativo*
Factor de dilución	≥ 0.5	≥ 0.5
Parámetros	Sobrevivencia, mortalidad, nro. de neonatos por hembra, edad de la primera reproducción, nro. de mudas	Sobrevivencia, mortalidad, nro. de neonatos por hembra, edad de la primera reproducción, nro. de mudas
Criterio de aceptabilidad	Supervivencia del 90 % o más en los controles	Supervivencia del 90 % o más en los controles

<sup>\*</sup> Control negativo: tratamiento sin tóxico.

# Notodiaptomus conifer

Notodiaptomus conifer (figura 5) es un copépodo calanoideo representativo de la fauna de América del Sur. Los copépodos son un componente importante en la dieta de las larvas de los peces. Debido a su importancia ecológica y a su ciclo de vida complejo (12 etapas de nauplio y 5 copepodito), se han utilizado para evaluar los efectos de metales (Gutierrez et al., 2010), agroquímicos (Reno et al., 2014; Gutierrez et al., 2017), hidrocarburos y contaminantes orgánicos persistentes (Bakr Hussain et al., 2020).



Figura 5 · Macho adulto de Notodiaptomus conifer.

Fuente: Gutiérrez, M. F.

**Tabla 5**  $\cdot$  Resumen de las condiciones experimentales para desarrollar el test agudo y crónico con *Notodiaptomus conifer*.

Ensayos de toxicidad		
	Agudo	Crónico
Tipo de ensayo	Estático	Semiestático
Duración	48 horas	19–30 días
Temperatura	25 ± 1 °C	25 ± 1 °C
Intensidad de luz y fotoperíodo	15–20 μE/m²/s – 16 h L/8 h 0	15–20 μE/m²/s – 16 h L/8 h 0
Recipiente de prueba	50 mL	50 mL
Volumen de solución	30 mL	30 mL
Renovación de la solución	Sin renovación	Tres veces por semana
Edad de los organismos	Nauplio (<72 horas)	Nauplio (<24 h)
Agua de dilución	Agua de red declorinada o medio sintético	Agua de red declorinada o medio sintético
Organismos por recipiente	5	1
Réplicas por dilución	4	20–30
Organismos por dilución y control	10	-
Alimentación	Sin alimentación	40 μL de <i>C. vulgaris</i> , 3 veces por semana
Diluciones	5 + 1 control negativo*	5 + 1 control negativo*
Factor de dilución	≥ 0.5	≥ 0.5
Efecto medido	% Mortalidad	Tiempo de desarrollo de nauplios, (b) copepoditos (1–5), tiempo total de desarrollo, longitud corporal de cada copepodito (como medida de crecimiento), número de sacos ovígeros en hembras, fecundidad (número de huevos por hembra), y tiempo necesario para producir el primer saco de huevos
Resultado final	Concentración Letal 50 (CL <sub>50</sub> )	-
Criterio de aceptabilidad	Supervivencia del 90 % o más en los controles	Supervivencia del 90 % o más en los controles

<sup>\*</sup> Control negativo: tratamiento sin tóxico.

# Hyalella curvispina

Hyalella curvispina (figura 6) se puede encontrar en lagos, estanques y arroyos de Argentina y la zona austral de Sudamérica (Peralta, 2001; Doyle y Momo 2009). Este anfípodo se encuentra principalmente asociado a macrófitas sumergidas y flotantes y al bentos (Poi de Neiff, 1992; Casset et al., 2001). Hyallella curvispina consume fitobentos (Giorgi y Tiraboschi, 1999) y por sus hábitos alimentarios como colector recolector y triturador facultativo (Saigo et al., 2009) juegan un papel fundamental en las redes tróficas vinculando la producción primaria a los consumidores de orden superior (Peralta, 2001; Casset et al., 2001). Además, en ecosistemas acuáticos poco profundos puede realizar transferencia de energía entre el bentos y el pleuston. Esta especie de macrocrustáceo es importante como bioindicador de la calidad del agua y adecuada para realizar ensayos de toxicidad por diversas características: (i) especie nativa con alta densidad poblacional, (ii) rol importante en el ecosistema, (iii) fácil reproducción en condiciones de laboratorio (García et al., 2010).

En los últimos años, *H. curvispina* se ha utilizado como organismo de prueba para evaluar la toxicidad de diversos contaminantes en condiciones de laboratorio y de campo, aunque no existe un protocolo estandarizado.



Figura 6 · Ejemplares de Hyalella curvispina.

**Tabla 6** · Resumen de las condiciones experimentales para desarrollar el test con *Hyalella curvispina* según la metodología propuesta por Mugni *et al.*, 2013.

Ensayo de toxicidad	
Tipo de ensayo	Estático
Duración	48 h
Temperatura	22 ± 1 °C
Fotoperíodo	16 h L/8 h O
Capacidad del recipiente	250 mL
Volumen de solución	100 mL
Agua de dilución	Medio sintético (APHA, 1998)
Edad de los organismos	Individuos de 5 – 10 mm de longitud
Individuos por recipiente	10
Réplicas por dilución	3
Organismos por dilución y control	30
Alimentación	Sin alimentación
Diluciones	5 + 1 control negativo*
Factor de dilución	0.5
Efecto medido	% Mortalidad
Resultado final	Concentración Letal 50 (CL <sub>50</sub> )
Criterio de aceptabilidad	Supervivencia del 90 % o más en los controles

<sup>\*</sup> Control negativo: tratamiento sin tóxico.

# Marocrustáceos: Zilchiopsis collastinensis y Trichodactylus borelianus

Los crustáceos decápodos ocupan una posición central en las redes tróficas, dado que son un eslabón fundamental en el traspaso de materia y energía en las redes tróficas acuáticas y acuático-terrestres. Estos crustáceos se alimentan de vegetación, restos de peces e invertebrados acuáticos y a lo largo de su desarrollo pueden ser presas de invertebrados, peces, aves,

reptiles, mamíferos y otros crustáceos decápodos (Collins *et al.*, 2006; 2007). Por este motivo algunas especies de cangrejos y camarones son consideradas como especie test en ensayos de toxicidad (US EPA, 1993; Iannucci *et al.*, 2020) o como bioindicadores en estudios de campo. Entre ellas, *Macrobrachium borellii* (figura 7) y *Zilchiopsis collastinensis* (figura 8), dos especies con distribución en Sudamérica que fueron utilizadas para evaluar los efectos de diferentes contaminantes en ecosistemas acuáticos (Gagneten *et al.*, 2008; Gagneten e Imhof, 2009).

#### Macrobrachium borellii

Macrobrachium borellii están ampliamente distribuidos de la Cuenca del Plata, norte de Argentina, Paraguay y sur de Brasil (Morrone y Lopretto, 1995). Esta especie es importante en la zona litoral de lagunas poco profundas y arroyos de la llanura aluvial del río Paraná (Boschi, 1981). Macrobrachium borellii es un componente frecuente en la dieta de peces y aves. Además, frecuentemente tiene alta densidad poblacional y es fácil de cultivar en laboratorio (Fossi et al., 2000; Gerhardt et al., 2002). Sin embargo, actualmente no se encuentran disponibles protocolos estandarizados o propuestos por entes gubernamentales para esta especie.



Figura 7 · Ejemplar de Macrobrachium borellii.

Fuente: Musin, 2018.

**Tabla 7**  $\cdot$  Resumen de las condiciones experimentales para desarrollar el test con *Macrobrachium borellii*.

Ensayos de toxicidad		
	Agudo	Crónico
Tipo de ensayo	Semiestático	Semiestático
Duración	96 h	4 a 7 días
Temperatura	22 ± 2 °C	22 ± 2 °C
Fotoperíodo	14 h L/10 h O	14 h L/10 h O
Capacidad del recipiente	2,5 L	1 L
Volumen de solución	2 L	0,5 L
Agua de dilución	Agua de red declorinada	Agua de red declorinada
Edad de los organismos	Adultos (peso medio de 1,05 g)	Adultos (peso medio de 1,05 g)
Individuos por recipiente	6	1
Réplicas por dilución	3	12
Organismos por dilución y control	18	_
Alimentación	Sin Alimentación	Sin Alimentación
Diluciones	5 + 1 control negativo*	3 + 1 control negativo*
Factor de dilución	2	2
Efecto Medido	% Mortalidad	% Mortalidad, actividad enzimática
Resultado final	Concentración Letal 50 (CL <sub>50</sub> )	_
Criterio de aceptabilidad	Supervivencia del 90 % o más en los controles	Supervivencia del 90 % o más en los controles

<sup>\*</sup> Control negativo: tratamiento sin tóxico.

# Zilchiopsis collastinensis

Esta especie de cangrejo es común en sistemas acuáticos asociados al río Paraná. Es depredador y detritívoro. Además, está presente en la dieta de peces, reptiles, aves y mamíferos, incluso humanos. Por sus hábitos, estos crustáceos desempeñan un papel clave tanto en el intercambio de materia como de energía en las zonas ribereñas, ya que conecta los ambientes terrestres y acuáticos. Se puede mantener en laboratorio, es de fácil cultivo y ha sido utilizada para evaluar los efectos de metales y de agroquímicos (Gagneten *et al.*, 2012; Tobke, 2013; Negro, 2013; Negro y Collins, 2017).



Figura 8 · Ejemplar adulto de Zilchiopsis collastinensis.

Fuente: Gagneten, A.M.

**Tabla 8**  $\cdot$  Resumen de las condiciones experimentales para desarrollar el test con *Zilchiopsis collastinensis*.

Ensayo de toxicidad		
Tipo de ensayo	Semiestático	
Duración	96 h	
Temperatura	25 ± 1 °C	
Fotoperíodo	12 h L/12 h O	
Capacidad del recipiente	60 L	
Volumen de solución	30 L	
Agua de dilución	Agua de red declorinada	
Edad de los organismos	Adultos en intermuda* (individuo más grande no mayor que 1,5 veces el tamaño del más pequeño)	
Individuos por recipiente	4	
Réplicas por dilución	5	
Organismos por dilución y control	20	
Alimentación	Sin alimentación	
Diluciones	5 + 1 control negativo**	
Factor de dilución	2	
Efecto medido	% mortalidad	
Resultado final	Concentración letal 50 (CL <sub>50</sub> )	
Criterio de aceptabilidad	Supervivencia del 90 % o más en los controles	

<sup>\*</sup> En caso de ocurrir la ecdisis de alguno de los individuos durante la experimentación, los animales deben ser descartados.

<sup>\*\*</sup> Control negativo: tratamiento sin tóxico.

### Anélidos Oligoquetos: Branchiura sowerbyi y Limnodrilus hoffmeisteri

Los oligoquetos son dominantes en el bentos de la mayoría de los ambientes acuáticos y son los organismos bentónicos más utilizados en técnicas de bioensayos por su actividad alimentaria y excavadora.

Branchiura sowerbyi (figura 9) en comparación con Tubifex tubifex (mundialmente utilizada), es una buena alternativa para monitorear ambientes tropicales y subtropicales. Es una especie índigena mucho más común que T. tubifex en ambientes enriquecidos orgánicamente en Sudamérica, donde la forma blanchardi de Tubifex tubifex es dominante solo en ambientes con alta conductividad (Marchese, 1988). Además, es fácil de reconocer, manipular y cultivar en laboratorio. Otra especie que puede ser utilizada también es Limnodrilus hoffmeisteri (Claparede, 1862) (figura 10). Los puntos finales en ensayos de 28 días son medidas de reproducción, crecimiento y supervivencia. Con respecto a reproducción, se considera al número de capullos u ootecas como indicador de los efectos de calidad de sedimento sobre la gametogénesis, tasa efectiva de desarrollo o eclosión de las ootecas como medida de los efectos de calidad de sedimento sobre la embriogénesis y el número de juveniles que también estima la embriogénesis y efectos del sedimento sobre las crías. La tasa media específica de crecimiento diaria (G<sub>w</sub>%) se calcula de acuerdo a Reynoldson (1987):

donde,  $W_1$  = biomasa en mg al comienzo de la experiencia;  $W_2$  = biomasa en mg al final de la experiencia; y t= tiempo en días.

Se sugiere que el protocolo de bioensayo estandarizado (USEPA, 2000; OECD, 2008) usando *B. sowerbyi* podría ser reducido a 21 días a 30 °C, pero los tests conducidos a 25 °C deberían llevar una semana extra (Marchese y Brinkhurst, 1996).



Figura 9 · Branchiura sowerbyi (Annelida, Oligochaeta).



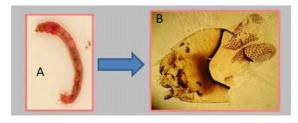
Figura 10 · Limnodrilus hoffmeisteri (Annelida, Oligochaeta).

**Tabla 9 ·** Resumen de las condiciones recomendadas para ensayos de toxicidad crónica en sedimento con oligoquetos.

Ensayo de toxicidad crónica en sedimento	
Tipo de ensayo	Estático
Duración	28 días
Temperatura	23± 1 °C
Fotoperíodo	16 h L/8 h O
Recipiente de prueba	300 mL
Volumen de sedimento/agua sobrenadante	4:1
Sedimento	Reconstituido, del sitio a evaluar, de sitio de referencia
Agua sobrenadante	Agua reconstituida, agua del sitio a evaluar, agua de red declorinada
Renovación agua sobrenadante	2 volúmenes adición/d; continuo o intermitente (ej. agregar 1 volumen cada 12 h)
Edad de los organismos	Adultos
Individuos por recipiente	4–5
Réplicas	5
Alimentación	Sin alimentación
Aireación	Sí
Efecto medido	Supervivencia, reproducción
Criterio de aceptabilidad	80 % o más de supervivencia en el control

# Dípteros quironómidos: Chironomus calligraphus, Chironomus grupo decorus

Las larvas de *Chironomus* (figura 11) a partir del segundo estadio (>8 días de edad), construyen sus tubos en el sedimento del fondo, con algas y partículas del sedimento. Ellas se alimentan, ingiriendo detritus y partículas del sedimento de fondo, sacando del tubo su cabeza y parte anterior del cuerpo. Al estar en contacto directo con el sedimento, el agua intersticial, así como también con la columna de agua, pueden acumular altas concentraciones de tóxicos, principalmente a través de su dieta en la mayor parte de su ciclo de vida, que es el bentónico o asociado a macrófitas. A nivel mundial diferentes especies de *Chironomus* son utilizadas en ensayos (USEPA, 2000; OECD 2004), mientras que en América del Sur son más comunes *Chironomus calligraphus*, *Chironomus xanthus* (=*C. domizzi* Paggi, 1979), y *Chironomus santicaroli*. En ensayos de 10 días se puede analizar supervivencia y malformaciones bucales en lavas y en test de 28 días emergencia de adultos (Pavé, 2012).



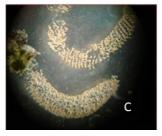


Figura 11 · Chironomus calligraphus, A: larva de 2 estadio, B: Vista ventral de cápsula cefálica, C: masa de huevos (Pavé, 2012).

**Tabla 10.** Resumen de las condiciones recomendadas para ensayos de toxicidad crónica en sedimento con *Chironomus*.

Ensayo de toxicidad cónico	
Tipo de ensayo	Semiestático
Duración	10 días
Temperatura	23 ± 1 °C
Fotoperíodo	16 h L/8 h O
Capacidad del recipiente	300 mL
Volumen de sedimento	100 mL
Volumen agua sobrenadante	175 mL
Edad de los organismos	Segundo a tercer estadio (10 días edad)
Individuos por recipiente	10
Réplicas	Mínimo 8
Aireación	Ninguna, excepto que el oxígeno disuelto en el agua sobrenadante sea inferior a 2.5 mg/L
Alimentación	Nutrafin®, agregar 1.5 mL diariamente a cada recipiente (1.5 mL contiene 6.0 mg de sólido seco)
Renovación agua sobrenadante	2 volúmenes adición/d; continuo o intermitente (ej. agregar 1 volumen cada 12 h)
Agua sobrenadante	Agua reconstituida, agua del sitio a evaluar, agua de red declorinada
Sedimento	Arena
Efecto medido	Supervivencia y crecimiento (peso seco)
Criterio de aceptabilidad	70 % o más de supervivencia en el control

#### Cnesterodon decemmaculatus

Cnesterodon decemmaculatus (figura 12) es un pez de aguas continentales y distribución neotropical que se usa frecuentemente en bioensayos tanto de laboratorio como de campo (Ferrari, 2017). Es un representante endémico de la familia de peces Poeciliidae, con amplia distribución tanto en ríos y arroyos como en ambientes lénticos de Argentina, de fácil reproducción en laboratorio, rápido crecimiento, corto tiempo generacional y económico en cuanto a los cuidados que requiere (Ferrari, 2017). Por estas razones, esta especie ha sido propuesta como organismo de prueba en bioensayos de toxicidad letal y subletal y ha sido ampliamente utilizada en estudios ecotoxicológicos (IRAM, 2008; Ruiz de Arcaute et al., 2016).



Figura 12· Hembra adulta de Cnesterodon decemmaculatus.

Fuente: Macagno, 2018.

**Tabla 11**⋅ Resumen de las condiciones experimentales para desarrollar el test con *Cnesterodon decemmaculatus*.

Ensayo de toxicidad		
	Agudo	
Tipo de ensayo	Semiestático	
Duración	96 horas	
Temperatura	24 ± 1 °C	
Intensidad de luz y Fotoperíodo	540–1000 lux, 16 h L/8 h O	
Recipiente de prueba	2 L	
Volumen de solución	1 L	
Renovación de la solución	Cada 48 h	
Edad de los organismos	Juveniles, talla similar (<2 cm)	
Agua de dilución	Agua de red declorinada	
Organismos por recipiente	10	
Réplicas por dilución	3	
Organismos por dilución y control	30	
Alimentación	Sin alimentación	
Nro. de diluciones	5 + 1 control negativo*	
Factor de dilución	Serie geométrica, factor que no exceda 2,2	
Efecto medido	% Mortalidad	
Resultado final	Concentración Letal 50 (CL <sub>50</sub> )	
Criterio de aceptabilidad	90 % o más de supervivencia en los organismos progenitores	

<sup>\*</sup> Control negativo: tratamiento sin tóxico.

#### Rhinella arenarum

Los anfibios tienen determinadas características que los convierten en buenos bioindicadores: son presas y depredadores en la cadena alimentaria de los ecosistemas que habitan, tienen ciclos de vida complejos, viven en ambientes acuáticos y terrestres durante las diferentes etapas de su ciclo vital. Además, los anfibios poseen un tegumento permeable que los hace sensibles a la exposición de contaminantes.

Los renacuajos del sapo común sudamericano *Rhinella arenarum* (figura 13) se utilizaron como organismos para estudiar los efectos de la exposición a metales, agroquímicos y contaminantes emergentes. Esta especie posee amplia distribución en la región neotropical (Cei, 1980) y específicamente en Argentina se distribuye en las provincias de Buenos Aires, Formosa, Chaco, Corrientes, Santiago del Estero, Entre Ríos y Santa Fe (Paradina *et al.*, 2020), se encuentra en ambientes naturales y artificiales (humedales, bosques, cultivos agrícolas y ciudades) (Attademo *et al.*, 2005). Esta especie fue reportada por Lajmanovich *et al.*, (2018), como la especie de anfibio más sensible para evaluar la contaminación en ecosistemas acuáticos de la región.



Figura 13· Rhinella arenarum. A: Ejemplar adulto. B: larva premetamórfica.

Fuente: Svartz, 2014.

 $\textbf{Tabla 12} \cdot \text{Resumen de las condiciones experimentales para desarrollar el test con } \textit{Rhinella arenarum.}$ 

Ensayo de toxicidad	
Tipo de ensayo	Estático
Duración	48 horas
Temperatura	22 ± 2 °C
Fotoperíodo	12 h L/12 h O
Recipiente de prueba	2 L
Volumen de solución	1 L
Renovación de la solución	Cada 48 h
Edad de los organismos	Renacuajos premetamórficos (etapas de Gosner, GS 26–30; Gosner, 1960)
Agua de dilución	Agua de red declorinada
Organismos por recipiente	1
Réplicas por dilución	3
Organismos por dilución y control	30
Alimentación	Sin alimentación
Nro. de diluciones	5 + 1 control negativo*
Factor de dilución	que no exceda 2
Efecto medido	% Mortalidad
Resultado final	Concentración Letal 50 (CL <sub>50</sub> )
Criterio de aceptabilidad	90 % o más de supervivencia en el control

<sup>\*</sup> Control negativo: tratamiento sin tóxico.

Virginia Trevignani <sup>1</sup> Claudio Passalía <sup>23</sup> Manuel Del Rey <sup>1</sup>

# 9. Indicadores socioeconómicos

#### Introducción

Las decisiones de manejo y uso de los sistemas acuáticos, en tanto sistemas socioecológicos (sse), se nutren de insumos provenientes de distintos campos disciplinares, que proveen indicadores que combinan distintas dimensiones de análisis. La dimensión socioeconómica compone el entramado de relaciones de los sse y su estudio se enfoca en los vínculos diferenciales que distintos grupos sociales tienen con los sistemas acuáticos de cercanía. El análisis de los vínculos directos o indirectos entre grupos sociales y recursos naturales permite conocer cómo los individuos intervienen en su evolución, dado que aborda tanto los efectos ambientales de las actividades antrópicas como el impacto del deterioro del recurso natural para ciertas comunidades o grupos.

Incorporar esta dimensión en el estudio de un recurso natural es una tarea compleja que supone cuatro desafíos. Primero, involucra saberes

<sup>1.</sup> Facultad de Humanidades y Ciencias, UNL.

<sup>2.</sup> Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas, UNL.

<sup>3.</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

provenientes de distintas disciplinas, con lenguajes y metodologías diferentes. Segundo, requiere tomar decisiones metodológicas para resolver las dificultades de combinar atributos de individuos (hogares, grupos sociales) con atributos del recurso natural, especialmente en lo referido a su delimitación y representación espacial. Tercero, exige partir de supuestos sobre la desigualdad de distribución del bienestar de los individuos y comunidades. Dado que los grupos sociales ocupan posiciones desiguales en una determinada estructura social, sus vínculos con el recurso natural no son homogéneos. Cuarto, es importante tener en cuenta que los recursos naturales se despliegan en espacios interjurisdiccionales que involucran distintos actores y en los cuales pueden entrar en tensión reglamentaciones de uso y políticas de manejo.

La revisión de las investigaciones especializadas en estudiar el vínculo entre grupos sociales y recursos naturales muestra una gran variedad de objetivos, metodologías y técnicas de recolección de información y análisis. A continuación, se ofrece un panorama sintético de estas alternativas, identificando fortalezas y debilidades y posibles usos para el abordaje de los sistemas acuáticos locales.

# La relación entre grupos sociales y recursos naturales: una variedad de enfoques

Los abordajes del vínculo entre grupos sociales y recursos naturales, ya sea para su investigación o para la intervención mediante el diseño de políticas, varían según la respuesta posible a los siguientes interrogantes: ¿qué se busca saber o qué problema se procura resolver? (objetivo de la investigación o de la intervención); ¿qué *información* disponible existe? (fuentes de información); ¿con qué *recursos* de tiempo y logística se cuenta? (recursos humanos, plazos). Así, la metodología de abordaje resulta de la combinación posible y plausible de estos tres aspectos.

### ¿Qué se busca saber o qué problema se procura resolver?

De los objetivos de una investigación o intervención se derivan las principales decisiones metodológicas posteriores. Por eso, el primer paso metodológico consiste en delimitar lo que se busca conocer o resolver, formulando preguntas y objetivos, para que sean coherentes con la información recolectada y la interpretación de los hallazgos.

La relación de los grupos sociales con los recursos naturales puede ser abordada mediante dos ángulos de entrada diferentes: la pregunta por el *impacto* de la evolución de un recurso natural para ciertos individuos y la pregunta por el *uso* que ciertos individuos hacen de esos recursos. Ambos objetivos pueden formar parte de un mismo abordaje (no son excluyentes), pero es importante distinguirlos analíticamente, ya que la información que se requiere recolectar y procesar es distinta y puede proceder de diversas fuentes.

A continuación, se detallan las decisiones metodológicas de estos dos objetivos, desagregando sus dimensiones y proponiendo posibles indicadores.

El impacto social de la evolución de los recursos naturales

En la investigación especializada, la pregunta por el impacto de la evolución de un recurso natural para ciertos individuos ha sido abordada desde los enfoques de vulnerabilidad (Wilchez–Chauz, 1993) y de riesgo (Cardona, 2001). En ambos tipos de abordajes se busca conocer y medir las condiciones en las que se encuentran los individuos, grupos y comunidades en relación con el deterioro de los recursos naturales con los que se relacionan. En general, estos estudios han estado enfocados en los desastres naturales y sus formas de gestión, mitigación o prevención.

Estos estudios desagregan múltiples dimensiones de riesgo o formas en las que se expresa la vulnerabilidad, bajo el supuesto de que la falta de servicios sanitarios adecuados, la contaminación del suelo en el caso de los asentamientos y villas de emergencia, la carencia de agua potable, la ausencia de sistemas de recolección y disposición final de los residuos, la contaminación de las napas de agua, la convivencia con áreas de riesgo tecnológico, la falta de infraestructura y equipamiento y —en no pocas ocasiones—, el asentamiento poblacional en áreas inundables, implican un mayor grado de desventaja ambiental para los grupos en situación de pobreza lo que contribuye a incrementar su nivel de vulnerabilidad y a aumentar el riesgo de experimentar catástrofes ambientales (Merlinsky, 2006).

Así, la vulnerabilidad es un fenómeno dinámico que surge como consecuencia de la interacción de una serie de factores y características (internas y externas), que convergen en una comunidad particular (Wilchez–Chauz, 1993).

Cuando se busca conocer la vulnerabilidad de ciertos grupos frente al deterioro de un recurso natural, un primer paso es la delimitación de las dimensiones de la vulnerabilidad y su operacionalización en indicadores. Dado que la vulnerabilidad expresa la posición estructural que ciertos individuos o grupos ocupan en una específica configuración social, es usual que estos estudios se nutran de fuentes de información secundarias. Por eso las decisiones metodológicas relativas a la muestra y la recolección de información, suelen estar atadas a la información disponible para un territorio o espacio social.

Son variadas las propuestas de operacionalización del concepto de vulnerabilidad que se pueden rastrear en las investigaciones especializadas. En el cuadro 1 se detalla una alternativa en base a las propuestas de dimensiones de Wilchez-Chauz (1993) y los indicadores propuestos por Arrillaga *et al.* (2009) para adaptarlos al estudio de la vulnerabilidad hídrica en Santa Fe.

Los usos sociales de los recursos naturales

Las poblaciones urbanas generan una gran demanda de recursos y servicios vitales, incluida el agua. Por otro lado, los hábitats acuáticos sostenibles pueden ofrecer muchos recursos, con el potencial de producir y mantener una variedad de servicios ecosistémicos aprovechados socialmente para el desarrollo económico y el bienestar humano. Estos servicios ecosistémicos incluyen: provisión renovable de agua dulce; sumidero, dispersión y purificación en las aguas receptoras; riego de tierras; regulación climática local; transporte, servicios educativos y recreativos; mantenimiento de la biodiversidad y suministro de alimentos y fibras; aprovechamiento energético, entre otros.

Las crecientes presiones urbanas pueden amenazar la capacidad de los hábitats acuáticos para proporcionar dichos servicios, afectándolos directa o indirectamente. La gestión del agua urbana convencional se ha centrado principalmente en proteger a la población humana urbana contra los extremos hidrológicos (inundaciones y sequías), el suministro de agua potable, el drenaje urbano, la gestión de aguas residuales y, más recientemente, la protección de los ecosistemas acuáticos.

Desde una mirada crítica, es preciso tener en cuenta que el valor de los recursos naturales excede el vinculado exclusivamente con las actividades humanas. Más bien, son reflejo de diversas condiciones derivadas de forma interna y externa, combinando múltiples respuestas y procesos reconfigurantes de origen natural (Castro Díaz y Natenzon, 2019). Atender a las «funciones ecosistémicas» permite construir una definición ampliada de los usos sociales de los recursos naturales, en reemplazo de una más restringida de «bienes y servicios ecosistémicos» (De Groot *et al.*, 2002). Un servicio ambiental es, en resumidas cuentas —y tal como se deriva del Millennium Ecosystem Assessments (MEA, 2005)— cualquier beneficio que la sociedad obtiene de la naturaleza. Así, las comunidades más próximas pueden perfilarse como unas beneficiarias directas de los mismos. La existencia de estos bienes y servicios juega un rol importante en la caracterización de los territorios, le otorgan un «valor» que no siempre

es contabilizado ni percibido como valioso por parte de las comunidades que habitan sus cercanías; están accionando en el territorio, dándole cierta impronta y generando una serie de *beneficios* (de Groot, 2006; Farber *et al.*, 2002) no tan visibles, pero sí esenciales para el normal desarrollo de la vida en el planeta.

Una definición ampliada de los usos sociales del recurso hídrico incorpora al análisis tanto las actividades que afectan la disponibilidad del recurso, disminuyendo su cantidad, como aquellas que afectan la calidad del recurso (Tiburcio, 2011).

En este sentido, es importante diferenciar entre los conceptos de extracción y consumo hídrico. Las extracciones de agua se definen como la cantidad total de agua captada de una masa de agua, independientemente de la cantidad que se consuma de ese volumen total. El consumo de agua se define como la parte de agua extraída que se elimina del entorno al perderse por evaporación o evapotranspiración. Igualmente, puede entenderse como consumo de agua la cantidad de agua total que un individuo utiliza para todos los fines (riego, limpieza, bebida, etcétera).

Las actividades humanas que extraen agua para algún fin, se denominan usos consuntivos. Las fuentes de donde se extrae el agua pueden ser superficiales o subterráneas, y los destinos del agua podrían dividirse en: riego en actividades agrícolas, agua para potabilización y consumo humano directo, agua para uso industrial y para generación termoeléctrica de energía. Los usos no consuntivos son aquellos son los que tienen en entornos de agua superficial: el agua como medio de transporte para navegación, como lugar de recreación (playas, pesca) y también cuando se interviene el curso de agua para aprovechamientos hidráulicos.

Por otro lado, el recurso hídrico puede ser afectado por «calidad», es decir, con acciones socioeconómicas que generan vertidos contaminantes. Es decir, empleando las funciones ecosistémicas de sumidero, dilución y depuración natural. Los efluentes domésticos o industriales suelen tener alta carga orgánica, lo que afecta la disponibilidad de oxígeno y, en términos generales, afecta la integridad del cuerpo de agua y las posibilidades

de sostener vida. Para algunos usos del agua, incluidas las aplicaciones industriales o domésticas, las aguas residuales se colectan, se tratan (si existe planta de tratamiento) y se vierten a cursos de agua con una calidad aceptable o bien se pueden reutilizar (Billing *et al.*, 1999).

La valoración económica de los bienes y servicios ambientales es una posible aproximación al grado de significancia que tienen para una sociedad. Existen distintos métodos de valoración económica (Cristeche y Penna, 2008) que, aun con grandes limitaciones, permiten alcanzar una estimación.

Otra vía para conocer cómo se construye socialmente la valoración de los recursos naturales, es mediante técnicas de investigación social cualitativas (entrevistas individuales o grupales, diagnósticos de valoración colectivos). Los estudios pioneros de Ostrom (2000) sobre la autoorganización y autogestión de los bienes comunes, son una referencia obligada cuando el interés reside en conocer las instituciones colectivas que regulan el uso de los recursos naturales.

En la Cuadro 1 se sintetizan las dimensiones e indicadores posibles de usar en un estudio acerca de los usos de un recurso natural.

Cuadro 1 · Objetivos, dimensiones e indicadores.

OBJETIVOS ¿qué se busca conocer?	DIMENSIONES	INDICADORES
Vulnerabilidad (1)	Física	Altura del terreno
		Área defendida por defensas
		Tipo de vivienda
	Económica	Tasa de desempleo
		Precariedad o informalidad del empleo
	Social	Tamaño poblacional
		Población con NBI
		Cobertura de salud
	Educativa	Analfabetismo
		Nivel de instrucción
	Política	Centralización de los niveles de gobierno
		Instituciones o espacios para canalizar la gestión colectiva
	Institucional	Instituciones de coordinación para manejo de recursos naturales
		Capacitación de recursos humanos de la administración pública
		Regulación normativa actualizada sobre manejo de recursos naturales
	Cultural	Redes sociales de ayuda mutua
		Identidad y pertenencia a grupos y comunidades
		Medios de comunicación y tratamiento de las noticias
	Ideológica	Representaciones sociales sobre la relación entre naturaleza y sociedad
		Articulación entre discurso científico y religioso

OBJETIVOS ¿qué se busca conocer?	DIMENSIONES	INDICADORES
Usos (2)	Cantidad	Extracciones de agua como porcentaje del recurso disponible
		Extracción total para uso consuntivo
		Disponibilidad natural media per cápita
		Extracción de agua subterránea
		Disponibilidad media total y per cápita en aguas
		Extracción bruta de aguas
		Recarga media total en aguas
		Suministro medio de agua potable per cápita (L/hab/dia)
		Huella hídrica per cápita
	Calidad	Cobertura de saneamiento mejorado de agua (letrina, pozo, cloaca)
		Nitrato y fósforo en aguas superficiales
		Agua residual que recibe tratamiento
		Descarga de agua residual municipal
		Población con acceso a alcantarillado
		Porcentaje de tratamiento de efluentes urbanos
		Tasa de ocurrencia de excesos en guías de calidad de agua
	Socioeconómicos	Gasto en agua como porcentaje de la renta disponible de los hogares
		Tarifas para uso doméstico y recaudación
		Acceso a agua de red (% de hogares/individuos)
		Acceso a fuentes de agua mejorada
		Población con acceso a agua potable
	Valoración económica	Cambios mensurables en la producción
		Cambios mensurables en la calidad ambiental
		Disposición a pagar
	Valoración social	Significados asociados al recurso natural
		Usos directos del recurso natural
		Usos indirectos del recurso natural (simbólicos)
		Valencias positivas y negativas asociadas al recurso natural

Fuente: elaboración propia en base a (1) Wilchez–Chauz (1993) y Arrillaga et al. (2009); (2) Cristeche y Penna (2008). Juwana et al. (2012), UNESCO–IPH (2008).

¿Qué información disponible existe?

La segunda tarea metodológica consiste en una revisión y valoración exhaustiva de la información disponible en el territorio en el cual se llevará a cabo la investigación o intervención.

El relevamiento de la disponibilidad de datos en distintas fuentes de información permite tomar decisiones acertadas con respecto a si es suficiente la información proveniente de fuentes secundarias o es necesario afrontar un trabajo de campo para producir información primaria (recolectada *ad hoc* para la investigación o intervención).

Para investigaciones o intervención preocupadas por los *cambios* (monitoreo) en los vínculos entre grupos sociales y recursos naturales (ya sea que se quiera conocer los usos o la vulnerabilidad), es recomendable privilegiar la construcción de indicadores en base a fuentes secundarias de información. Esto permite contar con una medición de base o parámetro, frente al cual comparar mediciones en distintos momentos del tiempo. Además, la utilización de datos disponibles reduce los costos asociados al trabajo de campo (tiempo, recursos humanos y económicos). Para evaluar los datos provenientes de fuentes secundarias, es importante tener en cuenta los siguientes requisitos: desagregación territorial de la información; actualización periódica de la información; disponibilidad y acceso a los microdatos; fuente de información oficial y confiable.

Cuando no fuera posible utilizar información proveniente de fuentes secundarias, se recomienda planificar de antemano el trabajo de campo con un análisis detallado y realista de los recursos con los que se cuenta. Asimismo, es importante definir si se precisa recolectar información cuantitativa o cualitativa, ya que las técnicas de muestreo, recolección, procesamiento y análisis suponen estrategias distintas.

Si la información que se requiere recolectar es cuantitativa (por ejemplo, conocer la vulnerabilidad o las prácticas de uso de un grupo social), es importante desagregar las dimensiones de análisis y operacionalizar sus indicadores. La operacionalización permite la construcción de indicadores pertinentes para responder a los objetivos de la investigación. Estos

indicadores deben guiar el diseño de preguntas a incluir en un cuestionario que puede ser relevado por un encuestador capacitado o aplicarse sin necesidad de recursos humanos (autoadministrado).

Además, es necesario delimitar los territorios bajo análisis y tomar decisiones relativas a la representatividad de los hallazgos deseada. Si el análisis se circunscribe a un solo caso (estudio de caso), es posible que se pueda censar a todos los actores involucrados. Si el análisis requerido involucra grandes espacios territoriales, se recomienda un diseño muestral que responda a los objetivos de la investigación y evite los sesgos de selección.

Si la información que se requiere recolectar es cualitativa (por ejemplo, conocer las representaciones sociales o valoraciones subjetivas que los individuos construyen sobre un recurso natural), es difícil contar con información secundaria. En este caso, no se recomienda abordar extensiones territoriales muy amplias (salvo que se cuente con muestreos intencionales o inteligentes), ya que un relevamiento cualitativo consiste en privilegiar la profundización de ciertas dimensiones resignando la representatividad de sus hallazgos (King, Keohane y Verba, 2000). Tampoco es recomendable abordar muchos objetivos de investigación, ya que las técnicas cualitativas de recolección de información (entrevistas, grupos focales, diagnósticos participativos) demandan mucho tiempo invertido en el diálogo y el intercambio de opiniones.

Relevar información cualitativa resulta útil cuando se necesita conocer los aspectos simbólicos asociados con los recursos naturales y es más factible cuando: se aborda un territorio específico (estudio de caso); se cuenta con recursos humanos expertos en estas técnicas (entrevistadores, coordinadores de grupos); los objetivos son transeccionales y no longitudinales (es complejo replicar muestras cualitativas en el tiempo).

En la Cuadro 2 se sintetizan las fortalezas y debilidades del uso de fuentes de información secundarias y primarias.

Cuadro 2 · Fuentes de información, fortalezas y debilidades.

Fuentes de información	Fortalezas	Debilidades
Secundarias	Menor inversión de recursos logísticos y humanos.	
	Agiliza las decisiones metodológicas relativas a las muestras y la recolección	Requiere adaptar información recolectada para otros fines.
	de información.	
	Facilita la comparación entre espacios y territorios.	Requiere capacitación estadística.
	Pertinente para estudios longitudinales.	
	Permite establecer una línea de base o parámetro.	Dificulta la exploración de aspectos culturales o simbólicos
	Permite combinar atributos del recurso natural con atributos de grupos sociales.	culturales o simbolicos.
Primarias		Mayor inversión de recursos logísticos y humanos.
	Pertinente para estudios de caso o diseños transeccionales.	Requiere tomar decisiones sobre el muestreo en base a criterios (muestras intencionadas o inteligentes).
	Permite incorporar el punto de vista de los actores involucrados.	
	Permite el diseño de herramientas de recolección de información adecuadas a los objetivos.	Requiere capacitación en manejo de grupos y técnicas de investigación social (cuantitativa y cualitativa).
	,	Dificulta la comparación y la replicación.

Fuente: elaboración propia.

¿Con qué recursos de tiempo y logística se cuenta?

Para incorporar la dimensión socioeconómica en el estudio de un recurso natural, es crucial realizar un inventario realista de los recursos con los que se cuenta antes del diseño metodológico.

El inventario de recursos debe incluir los siguientes aspectos: cantidad y experticia de los recursos humanos disponibles; capacidad logística para recolectar información en distintos territorios y distintos momentos del tiempo; temporalidad prevista para la obtención de resultados; recursos económicos disponibles.

De la combinación de estos aspectos del inventario resulta un diseño metodológico que sea factible. Si los recursos humanos son magros y poco capacitados, se recomienda estrategias de recolección de información cuantitativa, ya que solo requieren experticia en el diseño de muestras, construcción de indicadores y análisis de resultados. Si la capacidad logística y los recursos económicos son limitados, es recomendable el diseño de cuestionarios autoadministrados que permitan abarcar distintos territorios. En este caso, es importante ponderar las tasas de no respuesta, usuales ante este tipo de relevamiento. Si los tiempos previstos para la obtención de resultados son cortos, se recomienda estrategias de recolección intensivas que no abarquen una gran cantidad de indicadores y que resignen la comparación en el tiempo. La comparación de grupos sociales puede ser una estrategia eficiente en estos casos.

Combinar en el espacio atributos del recurso natural y de los grupos sociales

La incorporación de la dimensión socioeconómica en el abordaje de los recursos naturales también requiere resolver las dificultades de combinar atributos de individuos y sociedades (hogares, grupos sociales) con atributos del recurso natural, especialmente en lo referido a su delimitación y representación espacial.

En este sentido, a los requisitos que guían la recolección de información sobre individuos y grupos (desagregación y cobertura territorial; distintas mediciones en el tiempo; pertinencia de los indicadores) se suma el de obtener microdatos cuya unidad de análisis permita el cruce con los espacios ocupados por el recurso natural. Las divisiones socioterritoriales que guían los relevamientos oficiales siguen la lógica de la división política de los estados nacionales, que no siempre es adecuada para el abordaje de recursos naturales interjurisdiccionales.

En Argentina, el «radio censal» es la célula básica de relevamiento del Censo Nacional, del cual se extraen la mayoría de las veces los atributos de individuos y grupos. Adaptar estas divisiones a una caracterización de índole físico—natural supone tomar decisiones metodológicas complejas, ya que las dinámicas naturales y los fenómenos sociales suelen tener escalas espaciales y también temporales diferentes; hay «ritmos» específicos de los sistemas ecológicos, así como «espacialidades» que deben ser tomados en cuenta a la hora de vincularlos con los indicadores socioeconómicos (Galafassi, 1998). Es importante identificar la disponibilidad de datos y evaluar alternativas para su combinación y cruce; ejemplos de combinación posible en base a los datos provistos por el Censo Nacional pueden consultarse en Bortoluzzi *et al.* (2013) y Cardoso (2017).

Por otro lado, el avance en las técnicas de sensoramiento remoto y geoinformación, junto con el creciente acceso a información georreferenciada en plataformas en línea, ha puesto a disposición una gran cantidad y variedad de datos espaciales que son susceptibles de ser cruzados¹ con la información socioeconómica disponible. Esta información responde a una lógica y una estrategia de recolección de datos ajena a las divisiones territoriales políticas: los productos y subproductos derivados de estos

<sup>1.</sup> Algunas referencias de plataformas que proveen datos espaciales son: el Land Viewer de EOS (https://eos.com/es/lv/), el Earth Observatory de NASA (https://earthobservatory.nasa.gov/) y el servidor de la CONAE (https://geoportal.conae.gov.ar/geoexplorer/composer/). Estas plataformas constituyen fuentes de geoinformación con diferente nivel de procesamiento y con finalidades diversas. Además, se puede recurrir a servidores de imágenes multiespectrales sin procesamiento previo, como los provistos por el Servicio Geológico de los Estados Unidos (https://earthexplorer.usgs.gov/) y el de la Agencia Espacial Europea (https://scihub.copernicus.eu/-).

esfuerzos son procesados y vinculados a posteriori con aquellas. Una combinación eficiente de ambas lógicas espaciales (la división política y los territorios ocupados por el recurso natural) puede requerir la modificación de las divisiones socioterritoriales para adaptarlas a la realidad física involucrada. En el abanico de posibilidades de combinaciones transitadas por la investigación especializada (Mateucci y Buzai, 1998), la pericia del equipo de trabajo, así como la capacidad de trabajo interdisciplinar, serán fundamentales.

Este tipo de análisis debería estar acompañado de algún otro cuyo objetivo gire en torno a las percepciones y los posicionamientos de los grupos sociales que habitan un territorio a explorar. El *mapeo colectivo*<sup>2</sup> es una herramienta excepcional para este objetivo.

Con otro enfoque, menos técnico y mucho más participativo e igualmente territorial, procura poner en foco el qué piensa y cómo siente y observa su realidad circundante la población que convive día a día con el SSE particular que sea.

Los temas y problemas que pueden abordarse a través de esta metodología son variados (Aguilar Galindo *et al.*, 2017), así como también el perfil de los participantes: la dinámica de los talleres y el mapeo resultante tienen una relación estrecha con los actores involucrados en su desarrollo y elaboración.

Las metodologías participativas (y, específicamente, el mapeo colectivo) tienen como finalidad «dar voz» a los usuarios de un bien común (recurso natural), pero sus opiniones y valoración no son homogéneas. Por esta razón, las características específicas de los participantes (económicas, sociales, culturales) deben ser tenidas en cuenta en la interpretación de hallazgos, ya que el mapeo final puede resultar más o menos cercano a las prenociones construidas por los participantes.

<sup>2.</sup> El mapeo colectivo puede ser definido como «una herramienta de exploración, planificación y transformación social, que posibilita una construcción del conocimiento desde la participación comunitaria; surge como una propuesta conceptual y metodológica, generando un conocimiento integral de un territorio mediante el uso de instrumentos técnicos y vivenciales» (Franco et al., 2019:6).

En el mapeo colectivo la expresión visual es fundamental:<sup>3</sup> las distintas percepciones y valoraciones deben ser sistematizadas gráficamente y existen diferentes alternativas para ello (Risler y Ares, 2013). Una faceta interesante de este tipo de cartografías es que permite utilizar herramientas aceptadas por la sociedad (el mapa base, por ejemplo), las cuales son transformadas por los participantes (Sánchez y Pérez, 2014).

## Alternativas metodológicas

En este apartado se sintetizaron los principales desafíos y variantes metodológicas interdisciplinarias para la incorporación de la dimensión socioeconómica en el abordaje de los recursos naturales. Las distintas alternativas expuestas tienen una preocupación común: conocer el vínculo entre los ambientes acuáticos y los grupos sociales y poder combinar atributos de unos y otros en un territorio específico.

En la figura 1 se sintetizan las alternativas metodológicas posibles según los objetivos, la información disponible y los recursos a disposición. La lógica que subyace al esquema es que el diseño metodológico resulta de los objetivos de la investigación sumados a la disponibilidad de información y recursos.

Es importante mencionar que las opciones esquematizadas no son exhaustivas ni excluyentes. Si bien las comunidades científicas expresan ciertos acuerdos con respecto a los métodos de investigación (en los protocolos, lineamientos o manuales de metodología disponibles), estos consensos son relativos a cierto tiempo y lugar y, por lo tanto, pueden cambiar. Además, las alternativas metodológicas mostradas en el esquema no son excluyentes ya que pueden ser combinadas en un mismo estudio según los objetivos que guían la investigación.

<sup>3.</sup> El mapeo colectivo «da cuenta visualmente de cómo se vive, habita y construye un territorio, es decir, de la forma en la que una comunidad se relaciona entre sí, con sus recursos, y organiza sus modos de participación, vinculación e identidad» (Casa Gallina, 2020:5).

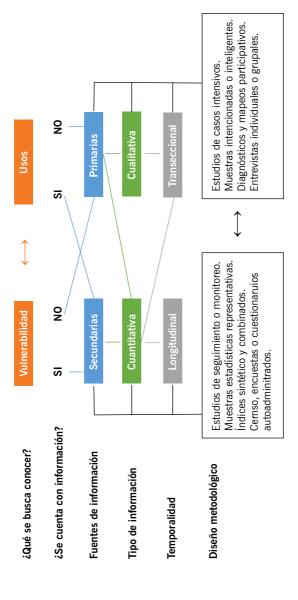


Figura 1 · Alternativas metodológicas

Fuente: elaboración propia.

# **Anexos**

## Anexos 1. Planilla de muestreo campo

#### Anexo 2. Planilla del laboratorio

Planilla para el recuento e identificación de los taxa registrados en cada comunidad o ensamble de organismos.

## Anexo 3. Cálculo de Índice de Diatomeas Pampeano (IDP)

Planilla activada de Excel para el cálculo del Índice de Diatomeas Pampeano (IDP). Se presenta el valor indicador para el IDP de las especies de diatomeas epipélicas más frecuentes en los sistemas lóticos pampeanos. Se lista el nombre del taxon, su acrónimo y, para los taxa que han cambiado su denominación, el nombre reciente y el nuevo acrónimo.

# Anexo 4. Tipo de muestreadores para macroinvertebrados acuáticos

Ventajas y desventajas de diferentes dispositivos que pueden ser utilizados para la recolección de macroinvertebrados.



# Referencias bibliográficas

#### Introducción

Biasatti, N. R.; Rozzatti, J. C. (...) Vallejos, L. (2016). Las ecoregiones, su conservación y las Áreas Naturales Protegidas de la provincia de Santa Fe. Ministerio de Medio Ambiente. Santa Fe.

Collins, S. L.; Swinton, S. M. (...) Grimm, N. B. (2007). Integrated science for society and environment: A strategic research initiative. Albuquerque, Long–Term Ecological Research Network, Publication (23). http://intranet2.lternet.edu/files/documents/ LTER\_History/Planning\_Documents/ISSE\_v6.pdf

**Challenger, A.; Bocco, G. (...) Maass, M. (2014).** La aplicación del concepto del sistema socioecológico: alcances, posibilidades y limitaciones en la gestión ambiental de México. *Investigación ambiental* 6(2).

Gallopin, G. C.; Gutman, P. y Maletta, H. (1989). Global impoverishment, sustainable development and the environment: a conceptual approach. *International Social Science Journal*, XLI (121), 375–397.

**Gallopin, G. (1994).** *Impoverishment and Sustainable Development: A systems approach.* International Institute for Sustainable Development.

**Gallopin, G. (2001).** *Science and Technology, Sustainability and Sustainable Development.* United Nations Economic Commission for Latin America and the Caribbean, Sustainable Development and Human Settlements Division.

**Giraut, M. A.; Lupano, C. F. (...) Rey, C. A. (2007).** Cartografía hídrica superficial digital de la Provincia de Santa Fe. Sistema Nacional de Información Hídrica, Subsecretaría de Recursos Hídricos. Buenos Aires.

Maass, J. M. (2004). La investigación de procesos ecológicos y el manejo integrado de cuencas hidrográficas: un análisis del problema de escala. En Cotler, H. (Comp.). El manejo integral de cuencas en México: estudios y reflexiones para orientar la política ambiental (pp. 49–62). Semarnat—INE.

Maass, J. M. (2012). El Manejo Sostenible de Socio–Ecosistemas. En Calva, J. L. (Coord.). *Agenda para el Desarrollo 2012–2018 (14): Sustentabilidad y Desarrollo Ambiental*. UNAM y Cámara de Diputados. Editorial Porrúa.

Morello, J.; Matteucci, S. y Rodríguez, A. (2012). Ecorregiones y complejos ecosistémicos argentinos. Orientación Gráfica Editora.

**Ostrom, E. (2009).** Social–Ecological Systems A General Framework for Analyzing Sustainability of Social–Ecological Systems. *Science*, 325(419).

### **Fuentes**

IPBES (2019). Global Assessment on Biodiversity and Ecosystem Services.

Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) (2010).

Avances y progresos científicos en nuestro cambiante medio ambiente. UNEP.

#### Diseño de muestreo

Anderson, J. T.; Zilli, F. L. (...) Lak Park, Y. (2013). Sampling and Processing Aquatic and Terrestrial Invertebrates in Wetlands. En Anderson, J. T. y Davis, C. A. (Eds.). *Wetland Techniques* (pp. 143–196). Springer.

#### **Fuentes**

**Department of Environment and Heritage Protection (2009).** Monitoring and Sampling Manual 2009. Version 2, State of Queensland, Australia, julio de 2013. **Department of Water (2009).** Surface water sampling methods and analysis technical appendices. Standard operating procedures for water sampling methods and analysis. Government of Western Australia.

**Department of Water (2009).** Water quality monitoring program design. A guideline to the development of surface water quality monitoring programs. Government of Western Australia.

**Environment Protection Authority (2004).** Approved Methods for the Sampling and Analysis of Water Pollutants in New South Wales. Department of Environment and Conservation, Australia.

**Environmental Protection Agency, US EPA (2014).** Water Sciencie. Science and Technology. http://www2.epa.gov/science-andtechnology/ waterscience collection. USDA Washington, USA.

**US Geological Survey (2010).** National Field Manual for the Collection of Water– Quality Data. US Department of the Interior, USA.

#### Variables ambientales

Ale, A.; Bacchetta, C. (...) Cazenave, J. (2018). Nanosilver toxicity in gills of a neotropical fish: Metal accumulation, oxidative stress, histopathology and other physiological effects. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 148, 976–984. Andrade, V. S.; Gutierrez, M. F. (...) Gagneten, A. M. (2021). Influence of rainfall and soybean phenological stages on nutrient and pesticide runoff from agricultural areas in Pampean streams, Argentina Science of the Total Environment. Volume 788, 20, 147676. https://authors.elsevier.com/sd/article/S0048-9697(21)02747-9

Aparicio, V.; De Gerónimo, E. (...) Vidal, C. (2015). Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el ambiente. INTA.

Bacchetta, C.; López, G. (...) Monserrat, J. M. (2016). Toxicological effects induced by silver nanoparticles in Zebra Fish (Danio rerio) and in the bacteria communities living at their surface. *Bulletin Environmental Contamination Toxicology*, 97, 456–462.

Beer, C.; Foldbjerg, R. (...) Autrup, H. (2012) Toxicity of silver nanoparticles – nanoparticle or silver ion? *Toxicology Letters*, 208(3), 286–292.

**Bour, A.; Mouchet, F. (...) Pinelli, E. (2015).** Environmentally relevant approaches to assess nanoparticles ecotoxicity: A review. *Journal of Hazard Materials*, 283, 764–777.

**Bringolf, R. B.; Heltsley, R. M. (...) Cope, W. G. (2010).** Environmental occurrence and reproductive effects of the pharmaceutical fluoxetine in native freshwater mussels. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29, 1311–1318.

**Bundschuh, M.; Filser, J. (...) Wagner S. (2018).** Nanoparticles in the environment: where do we come from, where do we go to? *Environmental Science European*, 30, 6. https://doi.org/10.1186/s12302-018-0132-6

Cazenave, J.; Ale, A. (...) Rossi, A. S. (2019). Nanoparticles toxicity in fish models. *Current Pharmaceutical Design*, 25, 3927–3942.

**Davico, C.; Bacchetta, C. (...) Simoniello, M. F. (2015).** Evaluación de genotoxicidad a través de la frecuencia de micronúcleos en eritrocitos de *Piaractus mesopotamicus* (pacúes) expuestos in vivo a nanopartículas de plata. *Acta Toxicológica Argentina*, 23(2), 73–78.

**De Gerónimo, E.; Aparicio, V. C. (...) Costa, J. L. (2014).** Presence of pesticides in surface water from four sub–basins in Argentina. *Chemosphere*, 107, 423–431. **Fatma, K. y Rahime, O. (2015).** *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15, 619–624.

Fernández-Barbero, A.; Suarez, I. (...) López-Cabarco, E. (2009). Gels and microgels for nanotechnological applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 147, 88–108.

Gottschalk, F.; Sun, T. y Nowack, B. (2013). Environmental concentrations of engineered nanomaterials: Review of modeling and analytical studies. *Environmental Pollution* 181, 287–300.

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT, 2015). Seguridad y salud en el trabajo con nanomateriales. Madrid. https://www.insst.es/documents/94886/96076/sst+nanomateriales/bd21b71f-d5ec-4ee8-8129-a4fa58480968

**Janecko, N.; Pokludova, L. (...) Literakyk, I. (2016).** Implications of fluoroquinolone contamination for the aquatic environment–a review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35, 2647–2656.

Kergaravat, S. V.; Romero, N. (...) Gagneten, A. M. (2021). Simultaneous electrochemical detection of ciprofloxacin and silver nanoparticle dissolution: application to ecotoxicological acute studies. *Microchemical Journal*. doi: 10.1016/j.microc.2020.105832

**Kergaravat, S. V.; Althaus, R. L. y Hernandez, S. R. (2018a).** Screening fluorescent method for the fluoroquinolone family in groundwater samples from intensive livestock production systems. *International Journal of Environmental and Analytical Chemitry*, 98, 1063–1079.

**Kergaravat, S. V.; Gagneten, A. M. y Hernandez, S. R. (2018b).** Development of an electrochemical method for the detection of quinolones: Application to cladoceran ecotoxicity studies. *Microchemical Journal*, 141, 279–286.

**Khan, H. A. y Shanker, R. (2015).** Toxicity of Nanomaterials. BioMedical Research International Article ID 521014.

**Lajmanovich, R. C.; Peltzer, P. M.** (...) **Basso, A.** (2018). Acute toxicity of colloidal silicon dioxide nanoparticles on amphibian Larvae: Emerging Environmental Concern. *International Journal of Environmental Research*, 12, 269–278.

**Lingxiangyu, Li.; Stoiber, M. (...) Schuster, M. (2016).** To what extent can full–scale wastewater treatment plant effluent influence the occurrence of silverbased nanoparticles in surface waters? Environmental Science and Technology. doi: 10.1021/acs.est.6b00694

**Llorca, M.; Farré, M. (...) Barceló, D. (2017).** Review of emerging contaminants in aquatic biota from Latin America: 2002–2016. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(7), 1716–1727.

Manca, K.; Viršek, M. (...) Kržan, A. (2016). Protocol for microplastics sampling on the sea surface and sample analysis. *Journal of Visualized Experiments*, 118, e55161. doi: 10.3791/55161

Manzi, R. y Gallardo, M. (1970). Geografía de Santa Fe. Spadoni sa.

**Marín J. M.; Sancho, J. V. (...) Hernández, F. (2006).** Quantification and confirmation of anionic, cationic and neutral pesticides and transformation products in water by on–line solid phase extraction–liquid chromatographytandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.*, 1133, 204–214.

**Moore, M. N. (2006).** Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? *Environment International*, 32, 967–976.

**Nowack, B. y Bucheli, T. D. (2007).** Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental Pollution*, 150, 5–22.

**Patel, P. D. (2002).** Biosensors for measurement of analytes implicated in food safety: a review. *Trends in Analytical Chemistry*, 21, 96–115.

Peña-Guzmán, C.; Ulloa-Sánchez, S. (...) Rodriguez-Pinzóne, M. (2019). Emerging pollutants in the urban water cycle in Latin America: A review of the current literature. *Journal of Environmental Management*, 237, 408–423.

**Qi, Ch.; Huang, J. (...) Yu, G. (2018).** Contaminants of emerging concern in landfill leachate in China: A review. *Emerging Contaminants*, 4(1), 1–10.

Reno, U.; Regaldo, L. (...) Gagneten, A. M. (2018). Antibióticos en la Reserva Urbana del Oeste y su evaluación ecotoxicológica en una especie nativa de cladócero. En VII Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental (SETAC). San Luis, Argentina.

Romero, N.; Visentini, F. (...) Gagneten A. M. (2020). Physiological and morphological responses of green microalgae *Chlorella vulgaris* to silver nanoparticles. *Environmental Research*, 189, 109857.

**Svartz, G.; Papa, M. (...) Perez Catán, S. (2017).** Monitoring the ecotoxicity of  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and Ni/ $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanomaterials by means of a battery of bioassays. *Ecotoxicology and Environmental Safety,* 144, 200–207.

**Van Opstal, N., Seehaus, M; Sasal MC (2022).** Quality of the surface water of a basin affected by the agricultural frontier over the native forest in the Argentine Espinal region. Environmental Science and Pollution Research. https://doi.org/10.1007/s11356-022-19760-4

#### **Fuentes**

American Public Health Association (1975a). Method 160.3. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (14th ed.). Method 208A (1975). American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.

American Public Health Association (1975b). Method 410.1, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 1975 (45th ed.) Amer. Public. Health Assoc., American Water Works Association, Water Polluton. Control Federation.

American Public Health Association (1975c). Method 415.1, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 1975 (14th ed.) Amer. Public. Health Assoc., American Water Works Association, Water Pollution. Control Federation.

American Public Health Association (1980). Method 405.1, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 1980 (15th Ed.). Amer. Public. Health Assoc., American Water Works Association, Water Pollution. Control Federation.

American Public Health Association (1998). Técnicas SM 4500-P-E, SM 4500-NO2-B y SM 4500-NO3-D. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 1998 (20th Ed.).

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) (2011). Protocolo de Muestreo, Transporte y Conservación de Muestras de Agua con Fines Múltiples, https://inta.gob.ar/documentos/protocolo-de-muestreo-transporte-y-conservacion-de-muestras-de-agua-con-fines-multiples

**Iturburu, F. G.; Calderon, G. (...) Menone, M. L. (2019).** Ecological risk assessment (ERA) of pesticides from freshwater ecosystems in the Pampas region of Argentina: legacy and current use chemicals contribution. *Science of the Total Environment*, 691, 476–482.

**Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters 20th Ed.** (Environmental Protection Agency, 1999) y Creed y col. Environmental Protection Agency (1994).

# **Fitoplancton**

Bazán, R.; Larrosa, N. (...) Cosavell, A. (2014). Programa de monitoreo de calidad de agua del Embalse Los Molinos, Córdoba—Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 1(2), 27–34.

Bellinger, E. G. y Sigee, D. C. (2015). Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators. John Wiley y Sons.

**Bonilla, S.** (2009). Cianobacterias Planctónicas del Uruguay: Manual para la identificación y medidas de gestión. Unesco.

Canter-Lund, H. y Lund, J. W. G. (1995). Freshwater algae: their microscopic world explored. Biopress Ltd.

Chorus, I. y Bartram, J. (Eds.) (1999). Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and managment. Chapman y Hall. Comas, A. (1996). Las Chlorococcales dulceacuícolas de Cuba (Bibliotheca Phycologica). J. Cramer.

**Crossetti, L. y Bicudo, C. (2008).** Phytoplankton as a monitoring tool in a tropical urban shallow reservoir (Garcas Pond): the assemblage index application. *Hydrobiologia*, 610, 161–173.

**Devercelli, M. y Peruchet, E. (2008).** Trends in chlorophyll—a concentration in urban water bodies within different man—used basins. In Annales de Limnologie—International *Journal of Limnology*, 75–84. EDP Sciences.

**Felföldy**, **L.** (1987). A biológiai vízminősítés (4. javított és bővített kiadás). Vízügyi Budapest. *Hidrobiológia*, 16, 1–258.

Frau, D.; Mayora, G. y Devercelli, M. (2018). Métricas de calidad del agua basadas en fitoplancton: viabilidad de su uso en un lago neotropical poco profundo. *Investigación marina y de agua dulce*, 69(11), 1746–1754.

Frau, D.; Medrano, J. (...) Giorgi, A. (2019). Water quality assessment of a neotropical pampean lowland stream using a phytoplankton functional trait approach. *Environmental monitoring and assessment*, 191(11), 681–695.

**Gianuzzi, L.** (2009). Cianobacterias y Cianotoxinas. Identificación, Toxicología, Monitoreo y Evaluación de Riesgo. Moglia srl.

**Gómez, N. y Cochero, J. (2013).** An index to assess the habitat quality in Southern Coastal Fringe of the Río de la Plata and its relations with other environmental indicators. Ecología Austral, 23(1), 18–26.

**Hillebrand, H.; Durselen, C. (...) Zohary, T. (1999).** Biovolumen calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, 35(2), 403–424.

**Huber, M. P.; Novoa, M. y de Fabricius, A. (2011).** Fitoplancton de una laguna endorreica de uso recreacional (Córdoba, Argentina). *Biológicas Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias*, 13(1), 24–33.

**Komárek, J.** (1983). Chlorophyceae (Grunalgen), Ordnung: Chlorococcales. Das Phytoplankton des Susswassers. *Systematik und Biologie*, 7.

Komárek, J. y Fott, B. (1983). Chlorophyceae, Chlorococcales. In Huber–Pestalozzi, G. (Ed.). Das Phytoplankton des Sdwasswes. *Die Binnenggewasser*, 16(5). Stuttgart: Ed. Schweizerbart'sché Verlagbuchhandlung.

Komárek, J.; Fott, B. y Huber-pestalozzi, G. (1983). Das Phytoplankton des Süßwassers. *Systematik und Biologie-Teil*, 7(1). Hälfte.

Komárek, J. y Anagnostidis, K. (1999). Cyanoprokariota. 1. Chroococcales. In *Subwasserflora von Mitteleuropa*, 19. Stutgart. Gustav Fisher.

Komárek, J. y Anagnostidis, K. (2005). Cyanoprokaryota 2. Teil/ 2nd Part: Oscillatoriales. In Büdel, B.; Krienitz, L. (...) Scnagerl, M. (Eds.). Süsswasserflora von Mitteleuropa, 19/2. Elsevier/Spektrum.

Komárek, J.; Kastovsky, J. (...) Johansen, J. (2014). Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014 using a polyphasic approach. *Preslia*, 86, 295–335.

**Kolkwitz, R. y Marsson, M. (1908).** Ecology de la saprobic animal. Intern Revue der Hydrobiolog. *Hydrograph*, 2, 126–152.

**Kruk, C. (2010).** Morphology captures function in phytoplankton: a large–scale analysis of phytoplankton communities in relation to their environment (doctoral thesis). Wagenigen University.

Kruk, C.; Huszar, V. (...) Scheffer, M. (2010). A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater Biology*, 55(3), 614–627.

Kruk, C.; Devercelli, M. (...) Segura, A. M. (2017). Classification of Reynolds phytoplankton functional groups using individual traits and machine learning techniques. *Freshwater Biology*, 62(10), 1681–1692.

Lee, R. (2008). *Phycology*. University Press.

**Licursi, M. y Gómez, N. (2003).** Aplicación de índices bióticos en la evaluación de la calidad del agua en sistemas lóticos de la Llanura Pampeana Argentina a partir del empleo de diatomeas. *Biología acuática*, 21, 31–49.

Margalef, R. (1958). Sucesión temporal y heterogeneidad espacial en el fitoplancton natural. *Perspectives in marine biology*. University California Press. Margalef, R. (1983). *Limnología*. Omega.

Meichtry Zaburlín, N.; Irmgard Martens, S. y Llano, V. (2009). Cianobacteria planctónica: su impacto en ambientes acuáticos continentales. Descripción de los géneros más frecuente. En *Cianobacterias y Cianotoxinas: identificación, toxicología, monitoreo y evaluación de riesgo*.

Menezes, M. (1994). Fitoflagelados Pigmentados de Quatro Corpos D'agua da Região Sul do Municipio do Rio de Janeiro (tesis inédita doctoral). Universidade des São Paulo.

**Nygaard, G.** (1949). Hydrobiological studies on some Danish ponds and lakes. In: The quotient hypothesis and some new or little known phytoplankton organisms. Det. Kungli. *Danske Vidensk Selsk*, 7, 1–239.

Novoa, M.; Fabricius, A. (...) Lombardo, D. (2011). Distribución temporal del fitoplancton en un lago urbano del centro de Argentina (Río Cuarto, Córdoba). *Biológicas*, 13, 1–14.

O'Farrell, I.; Motta, C. (...) Lombardo, R. (2016). Bloom forming cyanobacteria in Argentina: where do we stand? In *International Society limnology (SIL) 33 rd SIL Congress*. Torino, Italy.

Padisák, J.; Borics, G. (...) Soróczki–Pintér, E. (2006). Use of phytoplankton assemblages for monitoring ecological status of lakes within the Water Framework Directive: the assemblage index. *Hydrobiologia*, 553, 1–14.

Pantle, R. y Buck, H. (1955). Die Biologisch Überwachung der Gewässer und die Darstellung der Ergebnisse. *Gas Wasserfach*, 96, 604.

**Polla, W.** (2008). Análisis de las características fisicoquímicas y fitoplancton en el sistema cauce principal – llanura aluvial del río Salado (Santa Fe) (tesis de Maestría en Ecología Acuática Continental). Universidad Nacional del Litoral.

**Polla, W.; Bainotti, M. y Novoa, M. (2016).** Estudio ficológico y bacteriológico de una laguna urbana de uso recreativo (Santa Fe, Argentina). *Natura Neotropicalis*, 47(I), 2I–35.

**Popovsky, J. y Pfiester, L. A. (1990).** Dinophyceae (Dinoflagellida). Gustav Fischer. Jena.

**Prescott, G. (1978).** How to know the freshwater algal? The Pictured Key Nature Series. Wm. C. Brown Company Publishers Dubuque.

Reynolds, C. S.; Huszar, V. (...) Melo, S. (2002). Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of plankton research*, 24(5), 417–428.

Salusso, M. y Moraña, L. (2002). Comparación de índices bióticos utilizados en el monitoreo de dos sistemas lóticos del noroeste argentino. *Revista de Biología tropical*, 327–336.

Santana, L.; Crossetti, L. y Ferragut, C. (2017). Ecological status assessment of tropical reservoirs through the assemblage index of phytoplankton functional groups. *Brazilian Journal of Botany*, 40, 695–704.

**Shannon, C. y Weaver, W. (1949).** *The mathematical theory of communication.* University lliniois Press, Urbana.

**Sládecěk, V. (1973).** System of water quality from the biological point of view. *Arch. Hydrobiology Limnology*, 7, 1–218.

**Sun, J. y Liu, D. (2003).** Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of plankton research*, 25(II), 1331–1346.

Tell, G. y Conforti, V. (1986). Euglenophyta pigmentadas de la Argentina. Cramer J. Bibliotheca Phycologica.

**Thunmark**, **S.** (1945). Zur Soziologic des Susswasserplanktons. *Folia Lim-nology Stand*, 3.

**Utermöhl, H. (1958).** Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodik: Mit I Tabelle und 15 abbildungen im Text und auf I Tafel. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie Mitteilungen*, 9(1), 1–38.

Whitton, B. A. y Kelly, M. G. (1995). Use of algae and other plants for monitoring rivers. *Australian Journal of Ecology*, 20(1), 45–56.

## **Fuentes**

 $http://www.icaa.gov.ar/2010/gerencias/gest\_ambiental/manualcianobacterias.htm$ 

#### **Biofilms**

Barbour, M. T.; Gerritsen, J. (...) Stribling, J. B. (1999). Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish, Second Edition. EPA 84I—B—99—002. US Environmental Protection Agency; Office of Water.

Bertoldi de Pomar, H. (1983). Silicobiolitos en sedimentos del cauce del Rio Paraguay. *Natura Neotropicalis*, 1, 53 62. https://doi.org/10.14409/natura.vii14.3415

**Biggs**, B. J. (2000). Identification guide to common periphyton in New Zealand streams and rivers. En Biggs, B. J. y Kilroys, C. (Eds.). *Stream Periphyton Monitoring Manual*. Ministry for the Environment.

**Bourrelly, P.** (1966). Les Algues d'eau douce. I. *Les algues vertes*. N. Boubée y Cie. **Bourrelly, P.** (1968). Les algues d'eau douce. II. *Les algues jaunes et brunes*. N. Boubée y Cie.

Charles, D. F.; Knowles, C. y Davis, R. S. (2002). Protocols for the analysis of algal samples collected as part of the US. Geological Survey National Water—Quality Assessment program.

Cox, E. (1996). *Identification of Freshwater Diatoms from Live Material*. Springer. Gómez, N. y Licursi, M. (2001). The Pampean Diatom Index (IDP) for assessment of rivers and streams in Argentina. *Aquatic Ecology*, 35, 173–181.

**Hustedt, F. (1930).** Bacillariophyta (Diatomeae). En Pascher, A. (Ed.). *Die Süsswasserflora Mitteleuropas*, vol 10.

Komárek, J. (2013). Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bd. 19/3: Cyanoprokaryota: 3. Teil / 3rd part: Heterocytous Genera. Springer Spektrum.

Komárek, J. y Anagnostidis, K. (1999). Cyanoprokaryota, Part 1: Chroococcales. En Ettl, H.; Gerloff, J. (...) Mollenhauer, D. (Eds.). Süsswasserflora von Mitteleuropa Bd 19/1. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Komárek, J. y Anagnostidis, K. (2005). Cyanoprokaryota, Part 2: Oscillatoriales. En Büdel, B.; Gärtner, G. (...) Schagerl, M. (Eds.). Süsswasserflora von Mitteleuropa Bd 19/2. Spektrum Akademischer Verlag.

Krammer, K. y Lange–Bertalot, H. (1986). Süsswasserflora von Mitteleuropa, Bacillariophyceae 1: Naviculaceae. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Krammer, K. y Lange–Bertalot, H. (1988). Süsswasserflora von Mitteleuropa, Bacillariophyceae 2: Bacillariaceae, Epthemiaceae, Surirellaceae. Gustav Fischer. Verlag, Stuttgart.

Krammer, K. y Lange–Bertalot, H. (1991a). Süsswasserflora von Mitteleuropa, Bacillariophyceae 3: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Krammer, K. y Lange–Bertalot, H. (1991b). Süsswasserflora von Mitteleuropa, Bacillariophyceae 4: Achnanthaceae, Literaturverzeichnis. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

**Krammer, K.** (1992). Pinnularia: eine Monographie der europäischen Taxa. *Bibliotheca Diatomologica, Band 26.* Berlin. Stuttgart.

**Krammer, K.** (2000). Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats. Edited by Horst Lange–Bertalot. *Volume 1: The genus Pinnularia*. 217 plates of micrographs. Hardcover.

**Lange–Bertalot, H. (1993).** 85 Neue Taxa. Bibliotheca Diatomologica. *Band 27*. Berlin. Stuttgart.

Lange-Bertalot, H. y Moser, G. (1994). Brachysira: Monographie der Gattung. *Bibliotheca Diatomologica. Band*, 29.

**Lecointe, C.; Coste, M. y Prygiel, J. (1993).** OMNIDIA: A software for taxonomy, calculation of diatom indices and inventories management. *Hydrobiologia*, 269/270, 509–513.

**Licursi, M. (2005).** Efectos de las perturbaciones antropogénicas sobre la taxocenosis de diatomeas bentónicas en sistemas lóticos pampeanos (tesis inédita de doctorado). Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/repositorio/\_documentos/tesis/tesis\_859.pdf

Licursi, M. y Gómez, N. (2003). Aplicación de índices bióticos en la evaluación de la calidad del agua en sistemas lóticos de la llanura pampeana a partir del empleo de diatomeas. *Biología Acuática*, 21, 31–49.

Patrick, R. y Reimer, C. W. (1966). The Diatom of the United States, exclusive of Alaska y Hawaii. *Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 1(13), 668.

**Patrick, R. y Reimer, C. W. (1975).** The Diatom of the United States, exclusive of Alaska y Hawaii. *Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, II(13), 213.

**Pestalozzi, G. H. (1983).** Das Phytoplankton des Süsswassers: Systematik und Biologie. *Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung: Chlorococcales.* Stuttgart: E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhanglung (Nägele u. Obermiller).

**Prygiel, J. y Coste, M. (2000).** Guide Méthodologique pour la mise en oeuvre de L'Indice Biologique Diatomées. *Agence de l'Eau. Cemagref.* 

**Sabater, S.; Sabater, F. y Armengol, J. (1993).** Ecología de los ríos mediterráneos. *Investigación y Ciencia*, 203, 72–79.

**Stevenson, R. J. y Bahls, L. (1999).** Periphyton Protocols. En Barbour, M. T.; Gerritsen, J. (...) Stribling, J. B. (1999). *Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish.* Second Edition. EPA 84I–B–99–002. US Environmental Protection Agency; Office of Water; Washington, DC.

**Stevenson, R. J. y Pan, Y. (1999).** Assessing environmental conditions in rivers and streams with diatoms. En Stoermer, E. F. y Smol, J. P. (Ed). *The diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences*. Cambridge University Press.

**Streble, H. y Krauter, D. (1987).** *Atlas de los Microorganismos de Agua Dulce. La vida en una gota de agua* (2da. ed.). Ediciones Omega, SA.

Whitton, B. A. y Rott, E. (1996). Use of Algae for Monitoring Rivers II. *Proceedings of the 2nd European Workshop, Innsbruck*, 1995. Universität Innsbruck.

Whitton, B. A.; Rott, E. y Friedrich, G. (1991). Use of algae for monitoring rivers. *Proceedings of an International Symposium at Landesamt für Wasser und Abfall Nordrhein–Westfalen*. Düsseldorf, Germany, 26–28 May 1991.

**Zalocar De Domitrovic, Y. y Maidana, N. I. (1997).** Taxonomic and ecological studies of the Paraná River diatoms flora (Argentina). *Bibliot. Diatomol.*, 34, 2–122.

## **Fuentes**

CEMAGREF (1982). Etude des methods biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux. Rapport Q. E. Lyon, Agence de l'Eau Rhône–Méditerranée–Corse–Cemagref, Lyon.

**Confederación Hidrográfica del Ebro (2005).** Metodología para el establecimiento del Estado Ecológico según la Directiva Marco del Agua. Protocolos de muestreo y análisis para fitobentos. Ministerio de Medio Ambiente.

## Zooplancton

Almeidal, R.; Formigo, N. E.; Sousa-Pinto, I.; Antunes, S. C. (2020). Contribution of zooplankton as a biological element in the assessment of reservoir water quality. Limnetica, 39, 245–261.

**Arias, M.J.; Vaschetto, (...)Gagneten, A. M. (2022).**Benthic Macroinvertebrates and Zooplankton Communities as Ecological Indicators in Urban Wetlands of Argentina. Sustainability 2022, 14, 4045. https://doi.org/10.3390/su14074045

Barnett, A. J.; Finlay, K. y Beisner, B. E. (2007). Functional diversity of crustacean zooplankton communities: towards a trait-based classification. *Freshwater Biology*, 52(5), 796–813.

Begon, M.; Harper, J. L. y Townsend, C. R. (1988). Ecología: individuos, poblaciones y comunidades. Omega.

**De Bernardi, R. (1984).** Chapter 3: Methods for the estimation of zooplankton abundance. En Downing, J. A. y Rigle, F. H. (Eds.). *A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters* (pp. 59–86). Blackwell Scientific Publishers.

**De Lorenzo, M. E.; Scott, G. I. y Ross, P. E. (2001).** Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(1), 84–98.

Gagneten, A. M. y Paggi, J. C. (2009). Effects of heavy metal contamination (Cr, Cu, Pb, Cd) and eutrophication on zooplankton in the lower basin of the Salado River (Argentina). *Water Air Soil Pollution*, 198(1–4), 317–334.

Gagneten, A. M. y Marchese, M. R. (2021) Elaboración de un índice de sostenibilidad (indicadores ecológicos, económicos y sociales) de sistemas acuáticos de la provincia de Santa Fe. En H. A. Rodríguez; L. Rodríguez (Eds.), Desarrollo Sostenible en el centro norte de la provincia de Santa Fe. Capítulo 3. *Ambiente. Gestión del riesgo* (pp. 88–93). Ediciones unl.

**Gagneten, A. M. y Regaldo, L. (2021).** Diversidad de zooplancton y su valor como bioindicador. En H. A. Rodríguez; L. Rodríguez (Eds.), Desarrollo Sostenible en el centro norte de la provincia de Santa Fe. Capítulo 6. *Biodiversidad* (pp.238–243). Ediciones UNL.

Gallardo, B.; Gascon, S. (...) Comin, F. A. (2011). How to choose a biodiversity indicator: redundancy and complementarity of biodiversity metrics in a freshwater ecosystem. *Ecological Indicators*, 11, 1177–1184.

**Hanazato, T. (2001).** Pesticide effects on freshwater zooplankton: An ecological perspective. *Environmental Pollution*, 112(1), 1–10.

**Jeppesen, E.; Nóges, P.** (...) **Johansson, L. S.** 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.

**José de Paggi, S.** (1996). Rotifera (Monogononta) diversity in subtropical waters of Argentina. *Annales de Limnologie*, 32(4), 209–220.

Kefford, B. J.; Buchwalter, D. (...) Thompson, R. (2016). Salinized rivers: degraded systems or new habitats for salt—tolerant faunas? *Biology letters*, 12(3), 1–7. Koste, W. y Shiel, R. J. (1989). Rotifera from Australian Inland Waters. IV. Colurellidae (Rotifera: Monogononta). *Transactions of the Royal Society of South Australia*, 113(3), 119–143.

Kotov, A.; Forró, L. (...) Petrusek, A. (2013). World Checklist of Freshwater Cladocera Species. http://fada.biodiversity.be/group/show/17

Liang, D.; Wang, Q. (...) Yang, Y. (2020). Biological indicators of ecological quality in typical urban river-lake ecosystems: The planktonic rotifer community and its response to environmental factors. Ecol. Indic., 112, 106127 Marchese, M. R.; Gagneten, A. M. (...) Poi, A. S. G. (2020). Aplicación de indicadores biológicos en el nordeste argentino. En *La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de la Argentina* (pp. 82–104). EUDEBA. Obertegger, U. y Flaim, G. (2015). Community assembly of rotifers based on morphological traits. *Hydrobiologia*, 753(1), 31–45.

- Omori, M. y Ikeda, T. (1984). Methods in marine zooplankton ecology. Wiley. Paggi. J. C. (1995). Cladocera. En Lopretto, E. C. (Ed.). Ecosistemas de aguas continentales. Metodología para su estudio (953–971). Ediciones Sur.
- Paggi, J. C.; Mendoza, R. O. (...) José de Paggi, S. B. (2001). A Simple and Inexpensive Trap—Tube Sampler for Zooplankton Collection in Shallow Waters. *Hydrobiologia*, 464(I-3), 45–49.
- **Quintana, X. D.; Brucet, S. (...) Egozcue, J. J. (2008).** A Nonparametric Method for the Measurement of Size Diversity with Emphasis on Data Standardization. *Limnology and Oceanography: Methods*, 6(1), 75–86.
- Reid, J. W. (1985). Chave de identificação e lista de referências bibliográficas para as espécies continentais sulamericanas de vida livre da ordem Cyclopoida (Crustacea, Copepoda). Universidad de Sao Paulo. *Boletim Zoológico*, 9, 17–143. Resh, V. H. (2008). Which group is best? Attributes of different biological assemblages used in freshwater biomonitoring programs. *Environmental Monitoring and Assessment*, 138(1–3), 131–138.
- **Sakamoto, M.; Chang, K. H. y Hanazato, T. (2006).** Inhibition of development of anti–predator morphology in the small cladoceran *Bosmina* by an insecticide: Impact of an anthropogenic chemical on prey–predator interactions. *Freshwater Biology*, 51(10), 1974–1983.
- **Segers, H.** (2002). The Nomenclature of Rotifera: Annotated Checklist of Valid Family and Genus–Group Names. *Journal of Natural History*, 36, 631–640.
- **Segers, H.** (2007). Annotated Checklist of the Rotifers (Phylum Rotifera) with Notes on Nomenclature, Taxonomy and Distribution. *Zootaxa*, 1564, 1–104. **Sinistro, R.** (2010). Top–down and bottom–up regulation of planktonic communities in a warm temperate wetland. *Journal of Plankton Research*, 32(2), 209–220.
- Smirnov, N. N. (2017). *Physiology of the Cladocera* (2nd. ed.). Elsevier. Sommer, U. (Ed.) Plankton Ecology: Succession in Plankton Communities; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 1989.

Souza Costa, B.N.; Campelo Pinheiro, S.C. (...) de Oliveira Lima, M. Microzooplankton as a bioindicator of environmental degradation in the Amazon. Ecol. Indic. 2016, 61, 526–545.

**Trevisan, G. V. y Forsberg, B. R. (2007).** Relationships among nitrogen and total phosphorus, algal biomass and zooplankton density in the central Amazonia lakes. *Hydrobiologia*, 586(I), 357–365.

Van Dorn, W. G. (1956). Large-volume water samplers. *Eos, Transactions American Geophysical Union*, 37(6), 682–684.

Vogt, R. J.; Peres–Neto, P. R. y Beisner, B. E. (2013). Using functional traits to investigate the determinants of crustacean zooplankton community structure. *Oikos*, 122(12), 1700–1709.

## Fuente

Freshwater Animal Diversity Assessment (FADA) (2010). Crustacea—Copepoda Checklist. http://fada.biodiversity.be/

#### Macroinvetebrados acuáticos

Anderson J. T.; Zilli, F. L. (...) Lak Park, Y. (2013). Sampling and Processing Aquatic and Terrestrial Invertebrates in Wetlands. En James T. Anderson and Craig A. Davis (Eds.). *Wetland Techniques*. Vol. 2: Organisms. Springer (pp. 143–196).

Arias, M.J.; Vaschetto, P. (...) Gagneten, A. M. (2022). Benthic Macroinvertebrates and Zooplankton Communities as Ecological Indicators in Urban Wetlands of Argentina. *Sustainability*, 14, 4045. https://doi.org/10.3390/su14074045 Armitage, P. D.; Moss, D. (...) Furse, M. T. (1983). The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running—water sites. *Water Research*, 17, 333–347. Barbour, M. T.; Gerritsen, J. (...) Bastian, M. L. (1996). A framework for criteria for Florida streams Biological using benthic macroinvertebrate. *Journal of the North American Benthological Society*, 15(2), 185–211.

Brinkhurst, R. O. y Marchese, M. R. (1991). Guía para la identificación de Oligoquetos acuáticos continentales de Sud y Centroamérica. *Colección Climax*, 6, 2da. ed. Asociación de Ciencias Naturales del Litoral. Santa Fe, Argentina. Capeletti, J.; Marchese, M. R. y Zilli, F. L. (2017). Aplicación y evaluación de índices bióticos en el río Salado del Norte (Santa Fe, Argentina). *XXV Jornadas de Jóvenes Investigadores AUGM*. Tomo v, 348–356.

Capeletti, J.; Alberto, D. (...) Zilli, F. L. (2019). Métricas basadas en macroinvertebrados como monitores de ambientes con uso de suelo agrícola: estudio preliminar en una cuenca pampeana. *X Congreso de Ecología y Manejo de Ecosistemas Acuáticos Pampeanos* (259–261). Primera edición.

**Capeletti J.; Marchese, M. R. y Zilli, F. L. (2021).** Evaluating macroinvertebrate metrics for ecological assessment of large saline rivers (Argentina). *Environmental Science and Pollution Research.* https://doi.org/10.1007/s11356-021-16559-7

**Chessman, B. C. (2001).** SIGNAL 2 A scoring system for macroinverebrate (water bugs») in Australian. Canberra.

Cummins, K. W. y Klug, M. J. (1979). Feeding ecology of stream invertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 10, 147–172.

Domínguez, E. y Fernández, H. (2009). Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y Biología. Fundación Miguel Lillo.

Funk, A.; Trauner, D. (...) Hein, T. (2017). The Benthic Invertebrates Floodplain Index Extending the assessment approach. *Ecological Indicators*, 79, 303–309.

**Gheteu, D. y Costin, H. (2011).** Water quality assessment using benthic macroinvertebrates in wetlands and ponds: preliminary study case of Jijia and Miletin Ponds. *Recent Researches in Environment, Energy Planning and Pollution,* 8, 111–114.

Hayslip, G. A. (1993). EPA Region 10 in–stream biological monitoring handbook. For wadable streams in the Pacific Northwest. Environmental Services Division. Hilsenhoff, W. L. (1987). An improved Biotic Index of Organic Stream Pollution. Michigan Entomology Society, 20(11), 9–13.

**Hilsenhoff, W. L.** (1988). Rapid Field Assessment of Organic Pollution with a Family—Level Biotic Index. *Journal of the North American Benthological Society*, 7(1), 65–68.

Karr, J. R.; Fausch, K. D. (...) Schlosser, I. J. (1986). Assessing biological integrity in running waters, a method and its rational. Special publication/ Illinois Natural History Survey.

**Kerans, B. L. y Karr, J. R. (1994).** A benthic index of biotic integrity (B–IBI) for rivers of the Tennessee Valley. *Ecological Applications*, 4(4), 768–785.

Khulmann, M. L.; Johnscher-Fornasaro, G. (...) Imbimbo, H. R. V. (2012). Protocolo para obiomonitoramento com as comunidades bentônicas de rios e reservatórios do Estado de São Paulo. CETESB — Companhia Ambiental do Estado de São Paulo.

Lopretto, E. y Tell, G. (1995). Ecosistemas de aguas continentales. Ediciones Sur. Marchese, M. R. (1997). Uso del zoobentos en la evaluación de calidad de aguas de ambientes lóticos del río Paraná (tesis inédita de maestría). Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe.

Marchese, M. R. y Ezcurra de Drago, I. (1999). Use of benthic macroinvertebrates as organic pollution indicators, in lotic environments of the Parana River drainage basin. *Pollution Archives of Hydrobiology*, 46, 233–255.

Marchese M. R.; Rodríguez, A. R. (...) Carignano M. C. (2008). Benthic invertebrate structure in wetlands of a tributary of the Middle Paraná River affected by hydrologic and anthropogenic disturbances. *Journal Environment Biology*, 29(3), 343–348.

Marchese M. R.; Gagneten A. M. (...) Poi, A. S. G. (2020). Aplicación de Indicadores Biológicos en el Nordeste Argentino. En Domínguez, E.; Giorgi, A. y Gomez, N. (Eds.). La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de la Argentina: Bases para el análisis de la integridad ecológica (pp. 81–104). EUDEBA.

Marchese, M. R.; Alves, R. G. (...) Damborenea, C. (2020). Phylum Annelida. En Damborenea, C.; Roger, D. C. y Thorp, J. H. (Eds.). *Keys to Neotropical and Antarctic Fauna. Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates* (pp. 432–486). Academic Press.

Merritt R. W.; Cummins, K. W. (...) Lessard, J. L. (2002). Development and application of a macroinvertebrate functional group approach in the bioassessment of remnant river oxbows in southwest Florida. *Journal of the North American Benthological Society*, 21(2), 290–310.

Merritt, R. W.; Cummins, K. W. y Berg, M. B. (2008). Ecology and distribution of aquatic insects. En Merritt R. W.; Cummins, K. W. y Berg, M. B. (Eds.). *An Introduction to the Aquatic Insects of North America* (pp. 105–122). Kendall Hunt Publishing Company.

Merrit, R. W.; Cummins, K. y Berg, M. B. (2017). Trophic Relationships of Macroinvertebrates. En Hauer, F. R. y Lamberti, G. A. (Eds.). *Methods in Stream Ecology* (pp. 413–434). Elsevier.

Pavé, P. y Marchese, M. R. (2005). Invertebrados bentónicos como indicador de calidad de ríos urbanos (Paraná–Entre Ríos). *Ecología Austral*, 15(2), 185–197.

Ramirez, A. y Gutierrez–Fonseca, P. E. (2014). Functional feeding groups of aquatic insectfamilies in Latin America: a critical analysis and review of existing literature. *Revista de Biologia Tropical*, 62, 155–167.

Rodrigues Capítulo, A. (1999). Los macroinvertebrados como indicadores de calidad de ambientes loticos en el área pampeana. *Sociedad Entomológica Argentina*, 58, 208–217.

Rodrigues Capítulo, A.; Tangorra, M. y Ocón, C. (2001). Use of benthic macroinvertebrates to assess the biologic status of pampean streams in Argentina. *Aquatic Ecology*, 35, 109–119.

Saigo, M.; Marchese, M. R. y Wantzen, K. M. (2016). A closer look to the main actors of Neotropical floodplain food webs: functional classification and niche overlap of dominant benthic invertebrates in a floodplain lake of Parana River. Iheringia. *Serie Zoologia*, 106, e2016004.

**Saito, V. S. y Fonseca–Gessner, A. A. (2014).** Taxonomic composition and feeding habits of Chironomidae in Cerrado streams (Southeast Brazil): impacts of land use changes. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 26, 35–46.

Sanseverino, A. M. y Nessimian, J. L. (2008). The food of larval Chironomidae (Insecta, Diptera) in submerged litter in a forest stream of the Atlantic Forest (Rio de Janeiro, Brazil). *Acta Limnologica Brasiliensia*, 20, 15–20.

**Trivinho–Strixino, S. (2011).** Chironomidae (Insecta, Diptera, Nematocera) do Estado de Sao Paulo, Sudeste do Brasil. *Biota Neotropica*, 11, 1–10.

#### Macrófitas acuáticas

**Aguiar, F. C.; Segurado, P. (...) Ferreira, M. T. (2014).** Comparability of river quality assessment using macrophytes: a multi–step procedure to overcome biogeographical differences. *Sci. Total Environ*, 476–477.

Alonso, X.; Hadad, H. R. (...) Villalba, A. (2018). Macrophytes as potential biomonitors in peri–urban wetlands of the Middle Parana River (Argentina). *Environ Sci Pollut Res*, 25, 312–323.

Beck, M. W.; Hatch, L. K. (...) Valley, R. D. (2010). Development of a macrophyte–based index of biotic integrity for Minnesota lakes. *Ecol. Indic.* 10, 968–979.

**Burkart, A.** (1969). *Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina)*. Tomo VI. Parte II. Colección Científica INTA, Buenos Aires.

**Burkart, A. (1974).** *Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina).* Tomo VI. Parte VI. Colección Científica INTA, Buenos Aires.

**Burkart, A. (1979).** *Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina)*. Tomo VI. Parte V. Colección Científica INTA, Buenos Aires.

Burkart, A. (1987). Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina). Tomo v. Parte III. Colección Científica INTA, Buenos Aires.

Burkart, A. y Bacigalupo, N. M. (2005). Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina). Tomo IV. Parte IV. Colección Científica INTA, Buenos Aires.

Cabrera, A. L. (1968). Flora de la Provincia de Buenos Aires. Colección Científica INTA. Buenos Aires.

Chambers, P. A.; Lacoul, P. (...) Thomaz, S. M. (2008). Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. *Hydrobiologia*, 595, 9–26.

**DeKeyser, E. S.; Kirby, D. R. y Ell, M. J.** (2003). An index of plant community integrity: development of the methodology for assessing prairie wetland plant communities. *Ecol. Indic.*, 3, 119–133.

Hadad, H. R.; Maine, M. A. y Bonetto, C. (2006). Macrophyte growth in a pilot–scale constructed wetland for industrial wastewater treatment. *Chemosphere*, 63(10), 1744–1753.

- Haury, J.; Peltre, M. C. (...) Guerlesquin, M. (1996). Des indices macrophytiques pour estimer la qualite des cours d'eau français: premieres propositions. *Ecology*, 27, 233–244
- Haury, J.; Peltre, M. C. (...) Lambert, E. (2000). Les macrophytes aquatiques bioindicateurs des systemes lotiques—Interets et limites des indices macrophytiques. Synthese bibliographique des principales approaches europeennes puor le diagnostic biologique des cours deau. UMR INRAENSAR EQHC Rennes et Laboratoire de Phytoecologie Universit e de Metz. Agence de l'Eau Artois—Picardie, Etudes sur L'Eau en France, 87. Ministere de L'ecologie et du Developpement Durable, France.
- **Hegel, C. G. Z. y Melo, E. F. R. Q. (2016).** Macrófitas aquáticas como bioindicadoras da qualidade da água dos arroios da RPPN Maragato. *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente, Maringá* 9, 673–693.
- Holmes, N. T. H.; Newman, J. R. (...) Dawson, F. H. (1999). Mean trophic rank: A users manual. RyD Technical Report E<sub>3</sub>8. *Environment Agency. Bristol.* Maine, M. A.; Suñe, N. (...) Bonetto, C. (2006). Nutrient and metal removal in a constructed wetland for waste—water treatment from a metallurgic industry. *Ecol. Eng.*, 26, 341–347.
- Maine, M. A.; Suńé, N. L. y Lagger, S. C. (2004). Chromium bioaccumulation: comparison of the capacity of two floating aquatic macrophytes. *Water Res.*, 38, 1494–1501.
- Moreno, J. L.; Navarro, C. y De las Heras, J. (2006). Propuesta de un índice de vegetación acuática (IVAM) para la evaluación del estado trófico de los ríos de Castilla–La Mancha: Comparación con otros índices bióticos. *Limnetica*, 25(3), 821–838.
- Mufarrege, M. M.; Hadad, H. R. y Maine, M. A. (2010). Response of Pistia stratiotes to heavy metals (Cr, Ni, and Zn) and phosphorous. Arch. Environ. *Cont. Toxicol.*, 58(1), 53–61.
- Neiff, J. J.; Casco, S. L. (...) Poi, A. S. G. (2014). Do aquatic plant assemblages in the Paraná River change along the river's length? *Aquat. Bot.*, 114, 50–57.

**Pereira, S. A.; Trindade, C. R. T. (...) Palma–Silva, C. (2012).** Aquatic macrophytes as indicators of water quality in subtropical shallow lakes, Southern Brazil. *Acta Limnol. Bras.*, 24, 52–63.

Pott, V. J. y Pott, A. (2000). Plantas aquáticas do Pantanal. Embrapa. Centro de Pesquisa Agropecuárica do Pantanal. Embrapa.

**Radomski, P. y Peleberg, D. (2012).** Application of a versatile aquatic macrophyte integrity index for Minnesota lakes. *Ecol. Indic.*, 20, 252–268.

**Schneider, S. y Melzer, A. (2003).** The Trophic Index of Macrophytes (TIM) – a New Tool for Indicating the Trophic State of Running Waters. *International Review of Hydrobiology*, 88, 49–67.

Schneider, B.; Cunha, E. R. (...) Thomaz, S. M. (2015). Explanatory variables associated with diversity and composition of aquatic macrophytes in a large subtropical river floodplain. *Aquatic Botany*, 121, 67–75.

Schneider, B.; Cunha, E. R. (...) Thomaz, S. M. (2018). Associations between Macrophyte Life Forms and Environmental and Morphometric Factors in a Large Sub–tropical Floodplain. *Frontiers in Plant Science*, 9, art 195.

Thomaz, S. M. y Bini, L. M. (2003). Ecología e manejo de macrofitas aquaticas. Maringá. EDUEM.

**Thomaz, S. M. y Esteves, R. A. (2011).** Comunidade de Macrófitas Aquáticas Fundamentos de Limnologia. *Interciencia*.

Tundisi, J. G. y Tundisi, T. M. (2008). Limnologia. Oficina de Textos.

Umetsu, C. A.; Aguiar, F. C. (...) Camargo, A. F. M. (2018). Addressing bioassessment of tropical rivers using macrophytes: The case of +Itanhaém Basin, São Paulo, Brazil. *Aquatic Botany*, 150, 53–63.

#### Fuente

AFNOR (2003). Qualite de l'eau – Determination de l'indice biologique macrophytique en riviere (IBMR). AFNOR, NF T90–395.

### Ensayos ecotoxicológicos

Anderson, D. H. y Benke, A. (1994). Growth and reproduction of the cladoceran *Ceriodaphnia dubia* from a forested floodplain swamp. *Limnology and Oceanography*, 39(7), 1517–1527. doi: 10.4319/lo.1994.39.7.1517

Arias, M.; Bonetto, C. y Mugni, H. (2020). Sublethal effects on *Simocephalus vetulus* (Cladocera: Daphnidae) of pulse exposures of cypermethrin. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 196. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110546

Arias, M. J.; Vaschetto, P. (...) Gagneten, A. M. (2022). Benthic Macroinvertebrates and Zooplankton Communities as Ecological Indicators in Urban Wetlands of Argentina. *Sustainability*, 14, 4045. https://doi.org/10.3390/su14074045

Bakr Hussain, M.; Laabir, M. (...) Yahia, D. (2020). A novel index based on planktonic copepod reproductive traits as a tool for marine ecotoxicology studies. *Science of the Total Environment*, 727, 138621. doi: 10.1016/j. scitotenv.2020.138621

**Bischoff, H. W. y Bold, H. C.** (1963). Phycological Studies IV. *Some Soil Algae* from Enchanted Rock and Related Algal Species (pp. 6318–1963). University of Texas Publication.

Boschi, E. E. (1981). Decapoda Natantia. Serie Fauna de Agua Dulce de la República Argentina. Universidad Nacional de la Plata.

Casset, M. A.; Momo, F. R. y Giorgi, A. D. N. (2001). Dinámica poblacional de dos especies de anfípodos y su relación con la vegetación acuática de un microambiente de la cuenca del río Luján (Argentina). *Ecol. Austral*, 11, 79–85. Cei, J. M. (1980). Amphibians of Argentina. Monit. Zool. Ital. Monogr. 2. *Nuova Serie*, Firenze, Italia.

**Collins, P.; Williner, V. y Giri, F. (2006).** Trophic relationships in Crustacea: Decapoda of river with a floodplain. Elewa, A. (Ed.). *Predation in organisms: A distinct fenomenon.* Springer, Heidelberg, 59–86.

Collins, P.; Williner, V. y Giri, F. (2007). Littoral Communities. The Middle Paraná River. *Limnology of a subtropical Wetland* (pp. 277–301). Iriondo, M. H.; Paggi, J. C. y Parma J. (Eds.). Springer–Verlag, Heidelberg.

**Degraeve, G. M.; Cooney, J. D. (...) Reichenbach, N. G. (1992).** Variability in the performance of the 7–d Ceriodaphnia dubia survival and reproduction test: an intra and interlaboratory study. *Environ. Toxicol. Chem.*, 11, 851–858. doi: 10.1002/etc.5620110613

**Doyle, S. R. y Momo, F. R. (2009).** Effects of Body Weight and Temperature on the Metabolic Rate of *Hyalella Curvispina* Shoemaker, 1942 (Amphipoda). *Crustaceana*, 82 (11), 1423–1439. doi: 10.1163/001121609X12475745628540

Ferrando, N. S. (2015). Zooplancton de ambientes acuáticos de la cuenca del río Salado (Buenos Aires): estudio de las relaciones interespecíficas y principales factores de control mediante experiencias de laboratorio y microcosmos (tesis inédita de doctorado). Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo.

Ferrari, L. (2017). Manual de procedimiento básico para la cría de Cnesterodon decemmaculatus en laboratorio. EdUnLu.

Fossi, M. C.; Casini, S. (...) Depledge, M. H. (2000). Biomarker responses at different levels of biological organisation in crabs (*Carcinus aestuarii*) experimentally exposed to benzo (A) pyrene. *Chemosphere*, 40, 861–874. doi: 10.1016/S0045-6535(99)00300-8

Gagneten, A. M. y Regaldo, L. (2021) Capítulo II. Ecotoxicología del plancton: Efectos sobre las comunidades biológicas. En: Principios de Ecotoxicología. Ed: Carriquiriborde, P. (Comp.). Ediciones Universidad Nacional de La Plata. http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/II8183

Gagneten, A. M.; Imhof, A. y Gervasio, S. (2008). Accumulation and elimination of Cr in gills and eggs by the freshwater crab *Zilchiopsis collastinensis* after experimental exposure. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17(2), 182–187. Gagneten, A. M. e Imhof, A. (2009). Cr accumulation in the freshwater crab *Zilchiopsis collastinensis* in mesocosms experiments. *Journal of Environmental Biology*, 30(3), 345–348.

Gagneten, A. M.; Tumini, G. (...) Gervasio, S. (2012). Comparative Study of Lead Accumulation in different organs of the freshwater crab *Zilchiopsis oronensis*. Water, Air and Soil Pollution, 223: 617–624. doi: 10.1007/s11270-011-0887-5 García, M. E.; Capítulo, A. R. y Ferrari, L. (2010). Age—related differential sensitivity to cadmium in *Hyalella curvispina* (Amphipoda) and implications in ecotoxicity studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(5), 771–778. doi: 10.1016/j.ecoenv.2009.12.022

Gerhardt, A.; Janssens de Bisthoven, L. (...) Wang, Z. (2002). Shortterm responses of *Oryzias latipes* (Pisces: Adrianichthyidae) and *Macrobrachium nipponense* (Crustacea: Palaemonidae) to municipal and pharmaceutical waste water in Beijing, China: survival, behaviour, biochemical biomarkers. *Chemosphere*, 47, 35–47. doi: 10.1016/S0045-6535(01)00223-5

**Giorgi, A. D. N. y Tiraboschi, B. (1999).** Evaluación experimental del efecto de dos grupos de macroin vertebrados (anfípodos y gasterópodos) sobre algas epifitas. *Ecol. Austral*, 9, 35–44.

**Gosner, K. L.** (1960). A simplified table for staging Anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 183–190.

**Greenberg, B. M.; Huang, X.–D. y Dixon, D. G.** (1992). Applications of the aquatic higher plant *Lemna gibba* for ecotoxicological risk assessment. *J. Aquatic Ecosyst. Health*, 1, 147–155.

**Gutierrez, M. F. (2010).** Interacciones Biológicas: El Rol de la Comunicación Química entre Peces y Microcrustáceos. *Foro de Divulgación*, 12, 93–96. Museo Prov. Cs. Nat. Florentino Ameghino. Santa Fe. Argentina.

Gutierrez, M. F.; Gagneten, A. M. y Paggi, J. C. (2010). Copper and Chromium Alter Life Cycle Variables and the Equiproportional Development of the Freshwater Copepod *Notodiaptomus conifer* (SARS). *Water Air Soil Pollut*, 213, 275–286. doi: 0.1007/S11270-010-0383-3

Gutierrez, M. F.; Battauz, Y. y Caisso B. (2017). Disruption of the hatching dynamics of zooplankton egg banks due to glyphosate application. *Chemosphere*, 171, 644–653. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.12.110

- **Iannucci, A.; Cannicci, S. (...) Fratini, S. (2020).** Cytogenetic of Brachyura (Decapoda): testing techni–cal aspects for obtaining metaphase chromosomes in six mangrove crab species. *Caryologia*, 73(2), 39–49. doi: 10.13128/caryologia-791
- Kergaravat, S. V.; Gagneten, A. M. y Hernandez, S. R. (2018). Development of an electrochemical method for the detection of quinolones: Application to cladoceran ecotoxicity studies. *Microchemical Journal*, 141, 279–286. doi: 10.1016/j.microc.2018.05.039
- Lajmanovich, R. C.; Peltzer, P. (...) Martinuzzi, C. (2018). Blood biomarkers of common toad *Rhinella arenarum* following chlorpyrifos dermal exposure Interdiscip. *Toxicology*, 148–154. doi: 10.2478/intox-2018-0011
- Lemon, G. D.; Posluszny, U. y Husband, B. C. (2001). Potential and realized rates of vege— tative reproduction in *Spirodela polyrhiza, Lemna minor*, and *Wolffia borealis*. Aquat. Bot., 70, 79–87. doi: 10.1016/S0304-3770(00)00131-5 Lopretto, E. C. y Tell, G. (1995). *Ecosistemas de aguas continentales. Métodos para su estudio*. Tomos I, II y III. Ediciones Sur.
- **Luna, L. M. (2007).** Microalgas: aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista Cubana de Química*, 19(2), 3–20.
- Macagno, S. M. (2018). *Cnesterodon decemmaculatus* como especie bioindicadora de la calidad del agua en la cuenca del Río Suquía (tesis inédita de grado). Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba. Argentina.
- Marchese, M. R. y Brinkhurst R. O. (1996). A comparison of two tubificid oligochaete species as candidates for sublethal bioassay tests relevant to subtropcal and tropical regions. *Hydrobiologia*, 3344, 163–168. doi: 10.1007/BF00017366
- **Morrone, J. J. y Lopretto C. E. (1995).** Parsimony analysis of endemicity of freshwater Decapoda (Crustacea: Malacostraca) from southern South America. *Neotropica*, 41, 3–8.
- Mugni, H.; Paracampo, A. (...) Bonetto, C. (2013). Acute toxicity of cypermethrin to the non target organism *Hyalella curvispina*. *Environmental toxy-cology and pharmacology*, 35, 88–92. doi: 10.1016/j.etap.2012.11.008

Musin, G. (2018). Rol trófico de los crustáceos decápodos dulciacuícolas: buscando respuestas desde una perspectiva fisiológica (tesis inédita de doctorado). Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Argentina.

**Negro C. L. (2013).** Efectos de biocidas en el cangrejo dulciacuícola cavador *Zilchiopsis collastinensis* (Decapoda, Trichodactylidae) (tesis inédita de doctorado). Ciencias Biológicas. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.

**Negro, C. L. y Collins, P. (2017).** Histopathological effects of chlorpyrifos on the gills, hepatopancreas and gonads of the freshwater crab *Zilchiopsis collastinensis*. Persistent effects after exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 140, 116–122. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.02.030

Paggi, J. C. y Jose de Paggi, S. (1990). Zooplankton of the lotic and lentic environments of the middle Paraná River. *Acta Limnol. Brasil.* 3, 685–719.

Paggi, J. C. (1994). Biodiversidad del zooplancton en los ecosistemas acuáticos continentales de la región Neotropical: Revisión de las especies del género *Notodiaptomus* Kiefer (Copepoda, Calanoida) (tesis inédita de maestría). Ecología Acuática Continental. Universidad Nacional del Litoral, Argentina Paggi, J. C.; Cladocera Lopretto, E. y Tell, G. (Eds.) (1995). Ecosistemas de aguas continentales. *Metodologías para su estudio* (pp. 909–951). Tomo III. Ediciones Sur.

**Paradina, L.; Brasca, R. (...) Culzoni, M. J. (2020).** Bioaccumulation and glutathione S—transferase activity on *Rhinella arenarum* tadpoles after short–term exposure to antiretrovirals. *Chemosphere*, 246, 125830. doi: 10.1016/j. chemosphere.2020.125830

Pavé, P. (2012). Efectos de metales pesados sobre invertebrados bentónicos (tesis inédita de doctorado). Ciencias Biológicas. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Argentina. Poi de Neiff, A. y Neiff, J. J. (2006). Riqueza de especies y similaridad de los invertebrados que viven en plantas flotantes de la planicie de inundación del río Paraná (Argentina). *Interciencia*, 31(3), 220–225.

Reno, U.; Gutierrez, M. F. (...) Gagneten, A. M. (2014). The Impact of Eskoba, a Glyphosate Formulation, on the Freshwater Plankton Community. *Water Environ. Res.*, 86, 2294–2300. doi: 10.2175/106143014X13896437493580 Reno, U.; Gutierrez, M. F. (...) Gagneten, A. M. (2015). Microcrustaceans: biological models to evaluate a remediation process of glyphosate—based formulations. Water Air Soil Pollut, 226:349. doi: 0.1007/s11270-015-2616-y Reno, U.; Regaldo, L. (...) Gagneten, A. M. (2016). Water polluted with glyphosate formulations: effectiveness of a decontamination process using *Chlorella vulgaris* growing as bioindicator. J. Appl. Phycol. 28, 2279–2286. doi: 10.1007/s10811-015-0755-6

Reno, U. (2017). Contaminación acuática por glifosato: efecto sobre especies nativas y eficiencia de procesos de remediación (tesis inédita de doctorado). Universidad Nacional del Litoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Santa Fe. Argentina.

Reno, U.; Doyle, S. (...) Gagneten, A. M. (2018). Effects of glyphosate formulations on population dynamics of freshwater microcrustaceans. *Ecotoxicology Spec. Issue Pestic.*, 784–793. doi. 10.1007/s10646-017-1891-3

**Reynoldson, T. B.** (1987). The role of environmental factors in the ecology of tubificid oligochaetes. An experimental study. *Holarctic Ecology*, 10, 241–248. doi: 10.1111/j.1600-0587.1987.tb00765.x

**Richmond**, **A.** (Ed.) (2003). Biological principles of mass cultivation. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Blackwell Publishing Ltd.

Romero, N.; Visentini, F. F. (...) Gagneten, A. M. (2020). Physiological and morphological responses of green microalgae *Chlorella vulgaris* to silver nanoparticles. *Environmental Research*, 189, 109857. doi: doi.org/10.1016/j. envres.2020.109857

Romero N., Castro G. R. y Gagneten A. M. (2021). Chapter 28. Ecotoxicological effects of AgNPs on freshwater non–target species. In: *New Trends in Removal of Heavy Metals from Industrial Waste Water*". (pp. 705–734). Maulin P Shah (India), Dr. Susana Rodrigues Couto y Dr. Vineet Kumar Rudra Eds. Elsevier. Amsterdam, Netherlands".

Romero, N.; García, T. (...) Gagneten, A. M. (2022). Fitotoxicidad de nanopartículas de plata sobre la planta acuática Lemna gibba. VIII Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental. 7–II/03/2022. Mar del Plata, Argentina.

Ruiz de Arcaute, C.; Soloneski, S. y Larramendy, M. L. (2016). Toxic and genotoxic effects of the 2, 4–dichlorophenoxyacetic acid (2, 4–D)–based herbicide on the Neotropical fish *Cnesterodon decemmaculatus*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 128, 222–229. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.02.027

**Ruíz, R. y Bahamonde, N. (1989).** Cladóceros y copépodos límnicos en Chile y su distribución geográfica. Lista sistemática. Publicación Nº 45. Museo Nacional de Historia Natural. Santiago, Chile.

Sabater, S.; Guasch, H. (...) Schmitt–Janse, M. (2007). Monitoring the effect of chemicals on biological communities. The biofilmas an interface. *Analytical y Bioanalytical Chemistry*, 387, 1425–1434. doi: 10.1007/s00216-006-1051-8

Saigo, M.; Marchese, M. y Montalto L. (2009). Hábitos alimentarios de *Hyalella curvispina* Shoemaker, 1942 (Amphipoda: Gammaridea) en ambientes leníticos de la llanura aluvial del río Paraná Medio. *Natura Neotropicalis*, 40, 43–59.

Schroer, A. F. W.; Belgers, J. D. M. (...) Van den Brink, P. J. (2004). Comparison of laboratory single species and field population—level effects of the pyrethroid insecticide  $\lambda$ —cyhalothrin on freshwater invertebrates. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 46, 324–335.

Schwarzenbach, R.; Escher, B. I. (...) Wehrli, B. (2006). The Challenge of Micropollutants in Aquatic Systems. *Science*, 313 (5790), 1072–1077. doi: 10.1126/science.1128845

Solís, M.; Scalise, M. S. (...) Bonetto, C. (2016). Efectos De Agroquímicos en Arroyos de Cuencas Agrícolas y Hortícolas. Contribución N° 15. *Lab. de Ciclos Biogeoquímicos*. ILPLA—CONICET.

**Svartz, G. V. (2014).** Evaluación de la toxicidad del endosulfán, la cipermetrina y un fungicida de uso comercial, solos y en mezclas sobre el desarrollo temprano de *Rhinella arenarum* (Amphibia: Anura: Bufonidae). Universidad Nacional de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Buenos Aires. Argentina.

**Tobke, J. S. (2013).** Concentración de metales pesados Cr, Cu y Pb en tejidos de *Zilchiopsis* sp. (Crustacea: Decapoda). Hepatopáncreas, músculo y branquias de los ríos Salado del Norte y Paraná Medio cercanos a la ciudad de Santa Fe (tesis inédita de grado). Licenciatura en Biodiversidad. Facultad de Humanidades y Ciencias. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina.

Wu, Y.; Lin, C. y Yuan, L. (2007). Characteristics of six cladocerans in relation to ecotoxicity testing. *Ecological Indicators*, 7, 768–775. doi: 10.1016/j. ecolind.2006.09.001

#### **Fuentes**

American Public Health Association (APHA) (1998). American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.* Join.

ASTM International (1999). Standard Guide for Conducting Static Toxicity Tests with *Lemna gibba* G<sub>3</sub> (pp. 1415–91). *American Society for Testing and Materials*, West Conshohocken, PA.

**Environment Canada (2007a).** Biological test method: test for measuring the inhibition of growth using the freshwater macrophyte *Lemna minor* (Method development and application section, Ottawa, ON: Environmental Technology Centre, Environment Canada, Report EPS). https://www.canada.ca/content/dam/eccc/migration/main/faunescience-wildlifescience/1ad45620-6a99-47oc-8fdc-d57351d47ec8/rm37-202nded-lemnaenglish-20-20u.pdf

Environment Canada (2007b). Biological test method: test of reproduction and survival using the cladoceran *Ceriodaphnia dubia*. Method Development and Applications Section, Environment Canada, Ottawa, ON: Environmental Technology Centre, Environment Canada, Report EPS). https://www.canada.ca/content/dam/eccc/migration/main/faunescience-wildlifescience/b2d95b23-54eI-4I06-b642-8354fbdbeIb8/rm2I-202nded-cerioenglish.pdf

Instituto Argentino de Normalización y Certificación (IRAM) (2008). Calidad ambiental—Calidad del agua. Determinación de la toxicidad letal aguda de sustancias en peces de agua dulce. Método semiestático. Norma N° 29II2/2008. http://aargentinapciencias.org/wpcontent/uploads/20I8/0I/RevistasCeI/tomo65-2/3-Ferrari-cei65-2-3.pdf

International Organization for Standardization (ISO) (2012). Water Quality—Determination of the Inhibition of the Mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) – Acute Toxicity Test. Geneva (4ta. ed.). *ISO*, 6341, 2012. https://www.iso.org/standard/54614.html

**Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) (2000).** Guideline for Testing of Chemicals–*Daphnia magna* Immobilisation Test. Experimental Guideline, Organization for Economic Co-operation and Development, Paris.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) (2002). Guidelines for the testing of chemicals: revised proposal for a new guideline 221: *Lemna* spp. Growth Inhibition Test. Organization of Economic Cooperation and Development (OECD). Paris, France. http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/1948054.pdf

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) (2004). Guidelines for the testing of Chemicals. 218: sediment—water chironomids toxicity test using spiked sediment. France. https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264070264

Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) (2008). 315: Guidelines for the Testing of Chemicals: Bioaccumulation in Sediment–dwelling Benthic Oligochaetes. France. https://www.oecd.org/env/test-no-315-bioaccumulation-in-sediment-dwelling-benthic-oligochaetes-9789264067516-en.htm

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) (2011). Guidelines for the Testing of Chemicals. Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test. Paris. Francia. Recuperado de https://search.oecd.org/env/test-no-201-alga-growth-inhibition-test-9789264069923-en.htm

**United States Environmental Protection Agency** (US EPA) (1993). Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. Fourth Edition. EPA/600/4-90/027F

United States Environmental Protection Agency (US EPA) (1996a). Ecological effects test guidelines: OPPTS 850.4400 Aquatic plant toxicity test using *Lemna* spp., Tiers 1 and 11. Washington D.C. USEPA (United States Environmental Protection Agency, Prevention, Pesticides and Toxic Substances (7101) EPA712–C–96–156). https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/P100IR97. PDF?Dockey=P100IR97.PDF

United States Environmental Protection Agency (US EPA) (1996b). Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.5400 Algal Toxicity, Tiers 1 and 11. Prevention, Pesticides and Toxic Substances, Washington, DC EPA 12–C–96–164. https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/P1005IZ9.PDF?Dockey=P1005IZ9.PDF

United States Environmental Protection Agency (US EPA) (2000). EPA/600/R-99/064: Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment associated contaminant with freshwater invertebrates. 2da. ed., Washington DC. https://archive.epa.gov/water/archive/polwaste/web/pdf/freshmanual.pdf

**United States Environmental Protection Agency** (US EPA) (2002). Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms, 4th ed. EPA-82I-R-02-013. Washington, DC. https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-08/documents/short-term-chronic-freshwater-wet-manual\_2002.pdf

**United States Environmental Protection Agency** (US EPA) (2016). Ecological Effects Test Guidelines. OCSPP 850.1010: Aquatic Invertebrate Acute Toxicity Test, Freshwater Daphnids. Office of Chemical Safety and Pollution Prevention, Washington, DC EPA 712–C–16–013. https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/P100SH9K.PDF?Dockey=P100SH9K.PDF

#### Indicadores socioeconómicos

Aguilar Galindo, J. E.; Monroy Hernández, J. (...) Mora Calderón, J. (Eds.) (2017). Taller Internacional de Creación Cartográfica para la participación, autogestión y empoderamiento de los territorios locales. *Memorias y guía metodológica*. Universidad Nacional de Colombia. Grupo de Investigación Espacio, Tecnología y Participación, ESTEPA.

Arrillaga, H.; Grand, M. y Busso, G. (2009). Vulnerabilidad, riesgo y desastres. Sus relaciones de causalidad con la exclusión social en el territorio urbano santafesino. En Herzer, H. y Arrillaga, H. (2009). *La construcción social del riesgo y el desastre en el aglomerado Santa Fe.* Ediciones UNL.

Billing, P.; Bendahmane, D. y Swindale, A. (1999). Water and sanitation indicators measurement (USAID). shorturl.at/mADZo

Bortoluzzi, A.; Trevignani, V. (...) Meriggiola, P. (2013). Representación espacial combinada de la vulnerabilidad social y del estado del bosque nativo en el centro norte de la provincia de Santa Fe, Argentina. *Geografía y Sistemas de Información Geográfica (GEOSIG)* (5), 96–108.

Cardona, O. D. (2001). *Indicadores para la gestión del riesgo. Fundamentos metodológicos.* Centro de Estudios sobre Desastres y Riesgos. Universidad de los Andes Bogotá Colombia.

Cardoso, M. (2017). Estudio de la vulnerabilidad socio-ambiental a través de un índice sintético. Caso de distritos bajo riesgo de inundación: Santa Fe, Recreo y Monte Vera, Provincia de Santa Fe. *Caderno de Geografia*, 27(48), 156–183.

**Cristeche, E. y Penna, J. (2008).** Métodos de valoración económica de los servicios ambientales. Estudios socioeconómicos de la sustentabilidad de los sistemas de producción y recursos naturales N° 3. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA.

**De Groot, R. S.; Wilson, M. A. y Boumans, R. M. J.** (2002). A typology for the classification, description and valuation of ecosystem functions, goods and services. *Ecological Economics*, 41, 393–408.

**De Groot, R. S. (2006).** Function–analysis and valuation as a tool to assess land uses conflicts in planning for sustainable, multi–functional landscapes. En *Landscape and Urban Planning*, 75(3–4), 175–186.

Farber, S. C.; Costanza, R. y Wilson, M. A. (2002). Economic and ecological concepts for valuing ecosystem services. *Ecological Economics* 4I(3), 375–392. Franco, P.; González, V. (...) Terán, E. (2019). Manual para taller de mapeo colectivo del agua. Observatorio de Ecología Política de Venezuela.

**Galafassi, G. (1998).** Aproximación a la problemática ambiental desde las ciencias sociales. Un análisis desde la relación naturaleza—cultura y el proceso de trabajo. *Theorethikos*, año 1(6).

Juwana, I.; Muttil, N. y Perera, B. J. C. (2012). Indicator—based water sustainability assessment. A review. *Science of the Total Environment*, 438, 357–371. King, G.; Keohane, R. y Verba, S. (2000). *El diseño de la investigación social. La inferencia científica en los estudios cualitativos*. Alianza Universidad.

Mateucci, S. y Buzai, G. (Comp.) (1998). Sistemas ambientales complejos: Herramientas de análisis espacial. EUDEBA.

**Merlinsky, G.** (2006). Vulnerabilidad social y riesgo ambiental: ¿Un plano invisible para las políticas públicas? *Revista Mundo Urbano* (28), Universidad Nacional de Quilmes.

Natenzon, C. y Castro Díaz, R. (2019). Transformaciones territoriales y sus implicancias actuales en la prestación de servicios ambientales hídricos de la cuenca de la Laguna Fúquene (Colombia). *Revista de Geografía de la UBA, Punto Sur* (2). Universidad de Buenos Aires.

Ostrom, E. (2000). El gobierno de los bienes comunes. La evolución de las instituciones de acción colectiva. UNAM, CRIM, FCE.

Risler, J. y Ares, P. (2013). Manual de mapeo colectivo: recursos cartográficos críticos para procesos territoriales de creación colaborativa. Buenos Aires.

Sánchez, R. y Pérez, A. (2014). Mapeo 2.0. Ampliando los límites de la cartografía crítica. *Ecología Política*, 48, 24–27.

**Tiburcio, A. (2011).** Indicadores Ambientales para la Gestión Integrada del Agua. 3er Encuentro Universitario del Agua, México.

Wilchez-Chauz, G. (1993). La vulnerabilidad global. En Maskrey, A. (Comp.). Los Desastres no son Naturales. Red de Estudios Sociales en Prevención de Desastres en América Latina.

#### **Fuentes**

Casa Gallina (Ed.) (2020). Constelaciones. Manual de herramientas para mapeos colectivos. Caro Cocotle, B. Fundación Jumex Arte Contemporáneo.

MEA (2005). Ecosystem and Human Well-being. Biodiversity Synthesis. Millenium Ecosystem Assesment (World Resources Institute).

UNESCO-IHP (2008). Aquatic Habitats in Sustainable Urban Water Management: Science Policy and Practice. Taylor y Francis.

## Glosario

**Abiótico:** sin vida, el componente abótico del ambiente incluye el suelo, agua, aire, luz, nutrientes y similares.

Abundancia: el número de individuos en un área determinada.

Agua potable segura: servicio de agua para consumo humano disponible cuando sea necesario y libre de contaminación.

Amenaza: peligro latente, relacionado con cualquier proceso, fenómeno o actividad de origen natural o antrópico que pueda ocasionar efectos perjudiciales a la sociedad o al ambiente. En su análisis es importante contemplar tanto la dimensión espacial como la temporal, y pueden ser clasificadas según su tipología (natural, antrópica, múltiple) o según su origen (hidrometeorológicas, tecnológicas, etcétera).

**Aspirador:** en este protocolo se utiliza en relación con el muestreador utilizado para extraer una muestra de epipelon y consiste en una pipeta de 10 ml acoplada a una propipeta en el extremo superior. En este muestreador la succión de 4 ml corresponde a 1 cm² de superficie del sedimento.

**Autótrofo:** organismo capaz de sintetizar todas las sustancias esenciales para su metabolismo a partir de sustancias inorgánicas.

Bentos: organismos que viven dentro o sobre el sedimento de fondo de un ambiente acuático.

Bienes y servicios ambientales: bienes no comerciales (sin mercado) que incluyen aire limpio, agua limpia, paisaje, etc. Los bienes ambientales son una subcategoría de bienes públicos en el análisis económico convencional. Biodiversidad: la variedad de seres vivos que viven en un espacio dado en un momento particular.

**Bioacumulación:** acumulación de un elemento químico en el organismo desde el ambiente y el alimento.

**Bioconcentración:** acumulación de un elemento químico en el organismo solo desde el ambiente.

**Biomagnificación:** acumulación de un elemento químico en los organismos solo desde el alimento. Tendencia de un elemento químico a concentrarse a través de niveles tróficos sucesivos.

**Bioindicador:** es un organismo, o una asociación de especies que tienen requerimientos ecológicos particulares con respecto a determinadas variables físicas o químicas y cuyo cambio en número, estructura o función indica cambios en la integridad o calidad del ambiente.

**Biomarcador:** un tipo de bioindicador que considera una parte de un organismo o un proceso fisiológico, bioquímico o aún ecológico realizado por ese organismo que produce una respuesta ante un factor de estrés determinado y como tal permite identificar la variable, o sinergia entre variables que se encuentra afectando al ecosistema considerado.

Biomasa: peso de materia viva, generalmente expresado como peso seco o unidad de superficie.

**Biomonitores:** aquellos bioindicadores que por sus características puedan ser utilizados para realizar no solo una evaluación del ecosistema sino un seguimiento temporal de la evolución de este y son aprovechables para obtener información del ambiente que pueda ser utilizada en la gestión del mismo.

**Biorremediación:** restablecimiento de los hábitats naturales o las condiciones ecológicas mediante el uso de agentes biológicos (ejemplo: degradación bacteriana de derrames de petróleo u otros cotaminantes).

Calidad del agua: el término calidad del agua se utiliza para describir las propiedades físicas, químicas, biológicas, hidromorfológicas y estéticas del agua que determinan su aptitud para una variedad de usos y para la protección de la salud e integridad de los ecosistemas acuáticos.

Ciclo de nutrientes: trayectoria que sigue un elemento o un nutriente a través del ecosistema, desde su asimilación por los organismos hasta su liberación en la descomposición.

**Comunidad:** grupo de organismos de distintas especies que interactúan entre sí y que habitan en una misma área.

**Condición:** atributo físico o químico del ambiente que si bien no es consumido, influye en los procesos biológicos y en el crecimiento poblacional (ejemplo: temperatura, salinidad, acidez, etcétera).

Condición de referencia: constituye el estado más natural posible, es decir el caracterizado por la menor o nula desviación, daño o detrimento debido a las presiones generadas por las actividades humanas (agricultura, ganadería, poblamiento y expansión urbana, canalizaciones, entubamientos, contaminación, eutroficación, extracción de agua, industrias, efluentes de variados tipos, entre otras). Se trata de un estado del presente o del pasado en el que no hay cambios respecto de los valores de los parámetros hidromorfológicos, físico—químicos y biológicos que serían encontrados en ausencia de perturbaciones antropogénicas.

**Core:** cilindro utilizado para el muestreo de sedimentos, existen de diferentes superficies muestrales.

**Corriente:** movimientos del agua que dan por resultado el transporte horizontal de masas de agua.

Criterios biológicos o biocriterios: expresiones o valores numéricos de las características biológicas de las comunidades acuáticas basadas en condiciones de referencia adecuadas; como tal, los criterios biológicos sirven como índice de salud de la comunidad acuática.

Cuenca hidrográfica: término de planificación que se refiere al área desde la cual el agua superficial desemboca en un sistema de lago o río común o directamente en el océano; también conocida como cuenca de drenaje o cuenca de captación.

Demanda bioquímica de oxígeno (DBO): la cantidad de oxígeno disuelto (mg/L) que consumirían los organismos para descomponer la materia orgánica en agua. Demanda química de oxígeno (DQO): la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar toda la materia orgánica que es susceptible de oxidación por un oxidante químico fuerte.

**Densidad:** número o peso de individuos por unidad de superficie o de volumen en un área determinada.

**Descomposición:** desintegración de las sustancias orgánicas complejas en otras más simples y hasta compuestos inorgánicos.

**Desastre:** concreción de la amenaza sobre sociedades y ambientes vulnerables, que ocasiona impactos negativos no siempre reversibles.

**Detritos:** materia orgánica muerta o parcialmente descompuesta resultante de la descomposición de una planta o animal en partículas más pequeñas.

**Disposición a pagar:** es el precio máximo hasta el cual un consumidor compraría definitivamente una unidad de un producto o servicio.

**Disruptores endócrinos:** sustancias químicas que interfieren con el sistema endocrino (u hormonal) en animales y humanos. Estas alteraciones pueden causar tumores cancerosos, defectos de nacimiento, y otros trastornos del desarrollo. Cualquier sistema del cuerpo controlado por hormonas puede ser alterado por disruptores hormonales.

**Diversidad de especies:** un concepto ecológico que incorpora tanto el número de especies en un área de muestreo determinada como la equitatividad (uniformidad) con la que la abundancia de los individuos se distribuyen entre las diversas especies.

**Dominancia** (especies): superioridad numérica de una especie sobre otras dentro de una comunidad, asociación o ensamble.

Ecorregiones: son áreas donde los ecosistemas (y el tipo, la cantidad y la calidad de los recursos ambientales) son generalmente similares. Variables tales como topografía, clima, drenaje, geología, geomorfología, suelos y vegetación natural son utilizadas para definir ecorregiones acuáticas continentales que son esenciales en un ecosistema en una cuenca de drenaje.

**Ecosistema:** un complejo dinámico de comunidades de plantas, animales y microorganismos y su entorno ambiental que interactúan como una unidad funcional.

ENSO: El Niño-Oscilación del Sur, desplazamiento ocasional en los vientos y las corrientes oceánicas, centrado en la región del Pacífico Sur, que tiene consecuencias mundiales sobre el clima y los sistemas biológicos.

**Epiliton:** comunidad biológica que vive sobre un sustrato pétreo (piedras, rocas, etcétera).

**Epipelon:** comunidad biológica que vive sobre sedimentos finos (limosarcillas).

**Episammon:** comunidad biológica que vive sobre sedimentos de mayor tamaño (arena).

Epixilon: comunidad biológica que vive sobre madera sumergida.

**Equitatividad:** medida del grado de igualdad en la distribucón de la abundancia de las especies; la equitatividad máxima se da cuando todas las especies de la comunidad presentan el mismo número de individuos.

**Especie:** grupo de individuos similares capaces de intercambiar genes o entrecruzarse.

Especies endémicas: especies nativas o limitadas a una determinada región geográfica.

Especies invasoras (introducidas): especies no autóctonas introducidas en un área de forma intencionada o accidental por los seres humanos y que desarrollan impactos negativos sobre especies nativas.

**Especies oportunistas:** organismos capaces de explotar hábitat o condiciones fluctuantes.

**Estándar:** un conjunto de indicadores e índices establecidos y aplicados oficialmente junto con sus respectivos valores umbral que se utilizan para clasificar los ecosistemas acuáticos.

Estadio: forma de insecto u otro artrópodo entre mudas sucesivas.

Estresores: cambios físicos o químicos o hídricos que derivan de alguna acción externa (natural o antropogénica) causando cambios significativos en los componentes biológicos. Son manifestaciones concretas y negativas de presiones o combinaciones de las mismas sobre aguas continentales como la construcción de infraestructura hídrica, modificación de hábitats acuáticos, contaminación biológica, como la aparición de especies invasoras, sobreexplotación de recursos acuáticos, contaminación química y térmica, y alteración de caudal. En casos extremos, incluso el cambio climático puede convertirse en un factor estresante directo.

**Eutrofización:** aumento de nutrientes en el agua, especialmente de los compuestos de nitrógeno y o fósforo, que provocan un crecimiento acelerado de algas, y especies vegetales superiores, con el resultado de trastornos no deseados en el equilibrio entre organismos presentes en el agua y en la calidad del agua a la que afecta.

**Facultativo:** capaz de realizar un ajuste óptimo frente a diferentes condiciones ambientales.

**Fitobentos:** organismos fototróficos que viven asociados a cualquier sustrato del fondo de los ecosistemas acuáticos. Incluye cianobacterias, algas microscópicas (microalgas), macroalgas y macrófitos.

**Floraciones:** crecimiento masivo de las poblaciones de algas y cianobacterias que aumentan considerablemente la turbidez del agua y confieren a esta coloraciones muy llamativas (verde, verde–azulada, rojiza, dorada, marrón). **Frústulo:** cubierta celular silícea de las diatomeas, formada por dos valvas unidas por dos o más bandas pleurales.

Fuentes contaminantes difusas (no puntuales): descargas difusas de contaminantes provenientes de escorrentías superficiales, infiltraciones o fuentes atmosféricas.

Fuentes puntuales de contaminantes: descargas de contaminantes de fuentes discretas conocidas, por ejemplo: una descarga de efluente de una industria. Normalmente se puede medir el volumen y la calidad de la descarga.

Geoinformación: conjunto de datos referenciados espacialmente, susceptibles de ser representados y procesables cartográficamente, así como reproducidos de modo automático por softwares creados a tal efecto.

**Gradiente de estrés:** un gradiente que describe los diferentes niveles de impacto causado por una presión (estresor).

**Hábitat:** el hábitat es el lugar donde vive y crece una especie en particular. Es el entorno esencial, al menos el entorno físico, que es utilizado por una población. **Heterogeneidad:** variedad de cualidades hallada en un ambiente (manchones o parches) o en una población (variación genotípica).

**Heterótrofo:** organismo incapaz de elaborar su propia materia orgánica a partir de sustancias inorgánicas por lo que se nutre de sustancias elaboradas por otros seres vivos.

**Huella hídrica:** indicador biofísico que muestra el grado de uso del agua en relación con el consumo de las personas. Puede aplicarse a un individuo, ciudad, empresa, producto y se define como el volumen total de agua dulce utilizada para producir los bienes y servicios consumidos. Se considera tanto el volumen de agua consumida (evaporada) como el de agua contaminada por unidad de tiempo.

Impacto: el efecto de un factor de estrés sobre el ambiente (por ejemplo, muerte de peces, floración de algas, extinción, modificación del ecosistema). Indicador: un indicador ecológico se define aquí como una medida directa o inferida o un modelo que caracteriza un ecosistema o uno de sus componentes críticos. Un indicador puede reflejar atributos biológicos, químicos o físicos e hidromorfológicos de la condición ecológica. También se define como un parámetro o valor derivado de los parámetros de una condición o proceso.

Índice: un conjunto de indicadores. Un índice puede estar compuesto por indicadores que tienen diferentes dimensiones, por eso son frecuentemente adimensionales. Los índices pueden ser medidas semicuantitativas o cualitativas. Los índices se utilizan a menudo para asignar cuerpos de agua o ecosistemas específicos a una determinada categoría de calidad o para un uso potencial.

**Índice biótico:** expresión matemática que traduce la información contenida en una lista faunística o vegetal en valores de una escala establecida. Permite realizar estudios comparativos y comprobar cambios en la estructura de las comunidades biológicas.

**Índice de diversidad:** expresión matemática que relaciona el número de taxones y su abundancia.

**Integridad biótica:** se define como la capacidad de soportar y mantener una comunidad de organismos equilibrada, integrada y adaptativa, con una composición específica, diversidad y organización funcional comparable a la del hábitat natural de la región.

Integridad ecológica: la capacidad de un sistema ecológico para mantener una comunidad de organismos que tiene una composición de especies, diversidad y organización funcional comparable a la que se encuentra en hábitats naturales dentro de una región. Incluye la suma de la integridad física, química y biológica.

Lenítico: ambientes con poca circulación de agua, tal como lagunas, lagos, pantanos, etcétera.

Lótico: ambientes con flujo direccional del agua, tal como ríos y arroyos.

Mapeo colectivo: proceso de elaboración de cartografías llevado a cabo por la comunidad que habita un territorio (con participación o no de otros agentes), cuyo fin es la construcción de un conocimiento colectivo integrado del espacio vivido por dicha comunidad, susceptible de ser utilizado en los procesos de planificación colectiva. Se trata de un ejercicio democrático y horizontal, donde la percepción y la vivencia tienen igual o mayor peso que la localización espacial propiamente dicha.

**Medida de restauración:** actividad para mejorar el estado de los ambientes degradados ya sea mediante el tratamiento de aguas residuales o mediante medidas de mejoras estructurales.

**Metales pesados:** el término refiere a un grupo de metales que pueden causar contaminación acuática y efectos biológicos adversos. Por ejemplo, cadmio, cromo, cobre, plomo.

Métrica: una medida numérica que responde al grado de impacto antropogénico. Con respecto a la evaluación ecológica, una métrica es un atributo de las comunidades que es adecuado para medir la degradación (por ejemplo, número de taxa, densidad, proporción de especies, ciertas especies sensibles, un índice sapróbico, etcétera).

Microscopio de contraste de fases: es un microscopio óptico modificado con un condensador y objetivo especial que controlan la iluminación de forma que se ven contrastadas las sustancias de diferente grosor o densidad.

**Monitoreo:** es una serie temporal de mediciones de variables físicas, químicas, biológicas e hidromorfológicas, diseñada para responder preguntas sobre el cambio ambiental.

**Nicho:** papel funcional de una especie en la comunidad, incluyendo actividades y relaciones. Incluye todas las condiciones físicas, químicas y biológicas que necesita una especie para vivir y reporducirse en un ecosistema.

**Nomarski:** objetivo de contraste interferencial que permite la observación de los objetos de la preparación microscópica con un cierto relieve.

**Nutriente:** cualquier sustancia requerida por los organismos para su crecimiento y mantenimiento normales.

Ocular micrométrico: ocular del microscopio dotado de una escala métrica, que permite obtener medidas absolutas de los objetos de la preparación. La relación entre cada división del micrométrico y el tamaño real del objeto dependerá del aumento del microscopio, por lo que es necesario calcular previamente a su uso, el coeficiente micrométrico del conjunto microscopio—ocular micrométrico para cada combinación de aumento.

**Oligotrófico:** relativo a un hábitat acuático con baja productividad por baja concentración de nutrientes.

Parámetro: atributos químicos, físicos, biológicos o de otro tipo seleccionados que se utilizan para caracterizar el estado de los ecosistemas acuáticos. También se define como un factor numérico u otro factor medible que forma un conjunto que define un sistema o establece las condiciones para su funcionamiento.

**Perifiton:** comunidad microbiótica que vive sobre sustratos sumergidos de diferente naturaleza (sustratos duros, vegetación viva o muerta, etcétera).

Perenne: un arroyo o un río perenne son aquellos que tienen un flujo continuo en partes de su lecho durante todo el año. Los arroyos «perennes» se contrastan con los «intermitentes» que normalmente dejan de fluir durante semanas o meses cada año y con cauces «efímeros» que fluyen solo durante horas o días después de las lluvias. Durante años inusualmente secos, un arroyo normalmente perenne puede dejar de fluir y volverse intermitente durante días, semanas o meses, dependiendo de la severidad de la sequía.

**Perturbación:** un evento discreto que altera el ecosistema, comunidad o población, cambiando los sustratos y la disponibilidad de recursos.

**Población:** grupo de organismos de una especie que habitan en un área determinada.

Radio censal: unidad geoestadística espacial mínima en la que aparece desagregada la información del Censo Nacional de Población, Hogares y Vivienda. Dicha unidad está definida por un número de viviendas variable dependiendo del tipo de ámbito en el que nos encontremos (urbano—de borde—rural), y sus límites pueden variar a lo largo del tiempo por la propia dinámica demográfica y constructiva.

Referencia (condición): estado natural o casi natural, caracterizado por el menor deterioro debido a actividades humanas, como agricultura, asentamientos, contaminación orgánica, eutrofización, extracción de agua, etc. Para cualquier tipo de cuerpo de agua, condiciones de referencia o «alto estado ecológico» es un estado en el presente o en el pasado en el que no hay cambios,

o solo muy pequeños, en los valores de los elementos de calidad hidromorfológicos, físico—químicos y biológicos que se encontrarían en ausencia de perturbaciones antropogénicas.

**Región:** área geográfica sin barreras internas importantes para la dispersión, pero generalmente mucho mayor que la distancia de dispersión de un individuo.

Resiliencia: la capacidad de un ecosistema para recuperar y retener su estructura y función luego de un deterioro transitorio y exógeno. Si un factor estresante o una perturbación alteran el ecosistema, entonces debería poder recuperarse rápidamente para reanudar su capacidad anterior de brindar un servicio.

**Resistencia:** capacidad de una población o comunidad para resistir al estrés provocado por una perturbación.

**Riesgo:** probabilidad de que algo indeseado ocurra por exposición deliberada o accidental a un posible daño.

Riesgo de desastres: probabilidad para la ocurrencia de modificaciones perjudiciales al funcionamiento normal de un ambiente o comunidad derivada de la existencia de una o varias amenazas, que se ve matizada por los diferentes grados presentes de situaciones de vulnerabilidad.

Riqueza de especies (taxa): el número de especies (taxa) presente en una determinada área o unidad de muestreo.

Salud del ecosistema (concepto): medida de la estabilidad y sostenibilidad del funcionamiento del ecosistema o de los servicios del ecosistema que dependen de que un ecosistema esté activo y mantenga su organización, autonomía y resiliencia a lo largo del tiempo.

Saneamiento mejorado: mide la proporción de la población que usa instalaciones de saneamiento administradas de manera segura y al menos instalaciones básicas para lavarse las manos. Una instalación de saneamiento mejorado es aquella en la que las excretas se eliminan de manera segura *in situ* o se tratan fuera del sitio. Una instalación básica de lavado de manos se define por un dispositivo que contiene, transporta o regula el flujo de agua para facilitar el lavado de manos con agua y jabón en el hogar.

Sensoramiento remoto (teledetección): captación de fenómenos físicos planetarios a través de instrumentos, activos o pasivos, que no poseen contacto directo con el objeto (montados en plataformas, aerotransportadas o satelitales); estos fenómenos son construidos como información, normalmente georeferenciada.

Servicios de los ecosistemas: los beneficios que las personas obtienen de los ecosistemas. Estos incluyen servicios de aprovisionamiento como alimentos y agua; servicios de regulación como el control de inundaciones y enfermedades; servicios culturales como beneficios espirituales, recreativos y culturales; y servicios de apoyo como el ciclo de nutrientes que mantienen las condiciones para la vida.

Sitio de referencia: son aquellos representativos de ambientes prístinos. En la práctica, es posible que haya pocos ambientes verdadera o completamente prístinos en la actualidad. De tal modo, los sitios disponibles y mínimamente perturbados pueden ser considerados como aproximaciones a la condición prístina.

Sustancia tóxica o tóxico: sustancia química natural o sintética que puede causar efectos adversos en los organismos vivos, incluso cuando está presente en bajas concentraciones.

Sustrato artificial: sustrato introducido en el río por un operador especialmente para la colonización de las diatomeas y de invertebrados bentónicos. Taxa (singular: Taxon): es un grupo de organismos emparentados, que en una clasificación dada han sido agrupados, asignándole al grupo un nombre en larín.

**Tolerancia:** capacidad máxima que tiene un organismo de soportar una variación del hábitat sin que ello perjudique a su ciclo vital.

**Umbral y valor umbral:** cierta concentración que delimita diferentes categorías de calidad del agua/salud del ecosistema.

Unidad de conteo natural: formas de vida de las algas tal como se presentan en el ambiente (es decir, cada filamento individual, colonia o célula aislada).

Uso de la tierra: la utilización humana de una parcela de tierra para un propósito determinado (como agricultura, industria o recreación).

**Vadeable:** pasar un río por el vado o por cualquier otro sitio donde se pueda hacer pie.

Valva: componente estructural del frústulo de las diatomeas.

**Vulnerabilidad:** situación de grupos humanos y ambientes expuestos a una amenaza. El grado de esta dependerá de múltiples factores que determinarán la predisposición de los mismos a sufrir un daño, así como a las dificultades de recuperarse.

# Sobre las autoras y los autores

Victoria Soledad Andrade. Licenciada en Biodiversidad (FHUC, UNL) y doctora en Ciencias Biológicas (FBCB, UNL), habiendo desarrollando sus estudios en el Laboratorio de Ecotoxicología (FHUC, UNL). Actualmente es becaria posdoctoral en el Laboratorio de Plancton del INALI (UNL, CONICET).

María Julieta Arias. Licenciada en Biodiversidad (FHUC, UNL). Las becas de investigación otorgadas durante su carrera de grado fueron orientadas a la ecología de invertebrados bentónicos y zooplanctónicos como potenciales bioindicadores y hacia la sustentabilidad.

Julieta Capeletti. Licenciada en Saneamiento Ambiental (fBCB, UNL). Becaria de Conicet en el Inali (unl, conicet). Doctoranda en Ciencias Biológicas (fBCB, UNL). Docente en fBCB, UNL. Su investigación es sobre indicadores ecológicos en grandes ríos: invertebrados en ambientes leníticos y lóticos del sistema del río Paraná.

Manuel Del Rey. Licenciado (Universidad Autónoma de Madrid) y magíster en Geografía (UNED, España). Docente contratado en materias vinculadas a la Geografía Física tanto en la Universidad Nacional del Litoral como en la Universidad Autónoma de Entre Ríos.

Melina Devercelli. Licenciada en Biodiversidad, profesora en Biología (fhuc, unl) y doctora en Ciencias Biológicas (uba). Investigadora del conicet (inali, conicet, unl) y del Instituto Universitario de Seguridad Marítima (iusm, Prefectura Naval Argentina). Subgerenta del Centro Regional Litoral del Instituto Nacional del Agua (scrl, ina).

Florencia Facelli. Licenciada en Biodiversidad (FHUC, UNL). Becaria de CONICET en el INALI (UNL, CONICET). Doctoranda en Ciencias Veterinarias (FCV, UNL). Su investigación es sobre Ecoepidemiologia de *Dioctophyma renale* (Goeze, 1782) en ambientes del litoral fluvial argentino.

Ana María Gagneten. Magíster en Ecología (Universidad de Chile), doctora en Ciencias Biológicas (fBCB, UNL). Docente investigadora categoría I. Profesora en Diversidad Animal I y Ecofisiología Animal. Integra Consejo Directivo de SETAC ARG desde 2018 y dirige el Laboratorio de Ecotoxicología de FHUC (UNL). Áreas de interés: ecotoxicología acuática continental, bioindicadores, biorremediación de efluentes urbanos y lixiviados de residuos sólidos urbanos, metales pesados, agroquímicos, contaminantes emergentes. Nanoecotoxicología.

Magdalena Licursi. Licenciada en Biología (Orientación Ecología) y doctora en Ciencias Naturales (UNLP). Su línea de investigación se relaciona con el estudio de las diatomeas que conforman biofilms en ambientes acuáticos de la llanura pampeana, abordando la diversidad, aspectos ecológicos y su relación con la calidad del agua. Es investigadora adjunta del CONCET (INALI, CONICET, UNL).

Mercedes R. Marchese. Doctora en Ciencias Biológicas (UNC), magíster en Ecología Acuática Continental (UNL). Investigadora independiente del CONICET (INALI, CONICET, UNL). Docente investigadora categoría I. Profesora en Ecología (FHUC, UNL), 2000–2018. Directora Instituto Nacional de Limnología (INALI, CONICET, UNL), 2006–2011. Especialista en ecología de macroinvertebrados bentónicos del río Paraná. Taxonomía y ecología de oligoquetos.

Claudio Passalía. Ingeniero Ambiental y doctor en Tecnología Química (UNL); investigador adjunto del CONICET; profesor en la Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas (UNL); coeditor regional de la Revista Iberoamericana de Economía Ecológica (REVIBEC); experto en formación por competencias en carreras de ingeniería (FIO, UNAM); miembro del Comité Académico de Medio Ambiente de la Asociación de Universidades Grupo Montevideo (AUGM).

Wanda Polla. Profesora de Biología y magíster en Ecología Acuática Continental (fhuc, unl) y doctora en Ciencias Biológicas (unsa). Profesora en Diversidad de Organismos Basales y Biología de Plantas. Representante del Comité Académico Especialización en Gestión y Vinculación Tecnológica (fbcb, unl). Participante en proyectos y comités académicos sobre Educación y Formación Docente. Integrante del Laboratorio de Ecotoxicología (fhuc, unl). Su especialidad es la diversidad de microorganismos acuáticos, particularmente microalgas.

Luciana Regaldo. Licenciada en Biodiversidad, profesora de Biología (FHUC, UNL) y doctora en Ciencias Biológicas (FBCB, UNL). Profesora en Ecotoxicología y Gestión Ambiental (FHUC, UNL). Docente de la Maestría en Gestión Ambiental de la UNL. Investigadora adjunta del CONICET en el Laboratorio de Ecotoxicología (FHUC, UNL). Autora de trabajos científicos en las áreas de ecotoxicología acuática, la biorremediación de efluentes urbanos e industriales y la gestión ambiental.

Ulises Reno. Licenciado en Biodiversidad (FHUC, UNL) y doctor en Ciencias Biológicas (FBCB, UNL). Especialista en ecotoxicología acuática y biorremediación con microalgas. Es investigador de CONICET en el Laboratorio de Ecotoxicología (FHUC, UNL). Áreas de interés: ecotoxicología de sistemas acuáticos y gestión Ambiental. Docente de Gestión Ambiental y Educación Ambiental (FHUC, UNL) y en la Maestría y Especialización en Gestión Ambiental (FICH, UNL).

Natalí Romero. Licenciada en Biodiversidad (FHUC, UNL). Estudiante del Doctorado en Ciencias Biológicas (FBCB, UNL). Becaria CONICET en el Laboratorio de Ecotoxicología (FHUC, UNL). Jefe de Trabajos Prácticos en la cátedra Ecología Aplicada: Ecotoxicología (FHUC, UNL). La producción académica es sobre Ecotoxicología Acuática, Nanoecotoxicología y Bioindicadores acuáticos de contaminación ambiental.

**Miguel Saigo.** Doctor en Ciencias Biológicas (FBCB, UNL) y docente de la Facultad de Humanidades y Ciencias (UNL). Ha publicado estudios referidos a las tramas tróficas y metacomunidades en sistemas de aguas continentales.

Virginia Trevignani. Socióloga (UBA) y magíster en Ciencias Sociales (FLACSO, México). Profesora e investigadora categorizada de la Facultad de Humanidad y Ciencias (UNL). Directora de CAI+D «Trayectorias universitarias: un estudio longitudinal de los puntos de inflexión en los primeros tres años de cursado de la cohorte de ingreso 2020 a UNL».

**Pablo Vaschetto.** Licenciado en Biodiversidad (FHUC, UNL) y becario doctoral del CONICET donde realiza el Doctorado en Ciencias Biológicas (FCNYE, UNC).

Florencia Lucila Zilli. Licenciada en Biodiversidad (FHUC, UNL), Doctora en Ciencias Naturales (FCNYM, UNLP), e investigadora adjunta de CONICET (INALI, CONICET, UNL). Investiga la ecología de macroinvertebrados de agua dulce y su rol como bioindicadores ambientales.

El principal objetivo en la elaboración de estos protocolos es contar con herramientas de medición y evaluación que permitan detectar alteraciones en la calidad de los sistemas socioecológicos. Se describen metodologías para el análisis de variables ambientales y comunidades biológicas en campo y laboratorio que definen la calidad ambiental. Se incluyen las especies más representativas del sistema del río Paraná para su uso en ensayos ecotoxicológicos. La incorporación y descripción de indicadores socioeconómicos se abarca porque es importante evaluar a los sistemas acuáticos con una visión socioecológica.

El monitoreo de sistemas acuáticos proporciona información útil para los organismos de gestión encargados de formular políticas públicas adecuadas que propicien la prevención, el control y/o remediación de los recursos hídricos. Estos protocolos son de fácil interpretación para no especialistas, y constituyen una herramienta útil para los responsables de la gestión ambiental de los recursos hídricos. Se pretende además, que sea un instrumento educativo a ser aplicado por la población para valorizar la importancia de conservar la integridad ecológica de los ecosistemas acuáticos.