



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL**  
**FACULTAD DE BIOQUÍMICA Y CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**TESIS DE DOCTORADO**

**TITULO:**

**Respuestas del zooplancton a la contaminación por cromo en la  
cuenca del río Salado inferior (Santa Fe, Argentina)**

**Prof. M. Sc. Ana María Gagneten**

**DIRECTOR DE TESIS: Prof. M. Sc. Juan César Paggi**

**LUGARES DE TRABAJO:**

- **Departamento de Ciencias Naturales. Facultad de Humanidades y Ciencias (Universidad Nacional del Litoral). Ciudad Universitaria. Santa Fe.**
- **Instituto Nacional de Limnología (CONICET- UNL). Santa Fe.**

**2008**

**Páginas preliminares**

### Miembros del jurado de Tesis

**Titulares:**

Dr. Jorge Eduardo Marcovecchio (IADO- CONICET)

Dra Alicia Haydee Escalante (UNMdP - CONICET)

Dra Ma. Alejandra Maine (UNL- CONICET)

**Suplente:**

Dr. Rafael Lajmanovich (UNL-CONICET)

## Agradecimientos

Agradezco muy especialmente a la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (UNL), sede del Doctorado en Ciencias Biológicas, el apoyo brindado para la realización de esta Tesis.

El presente estudio fue desarrollado como parte de los siguientes Proyectos:

- **CAI+D 2002 N° 14/99.** "Efectos de la contaminación por metales pesados (Cr, Cu, Cd y Pb) sobre el zooplancton en la sub-cuenca del Arroyo Cululú (río Salado del Norte, Provincia de Santa Fe). Universidad Nacional del Litoral.  
Período de desarrollo: 2002-2005.  
Dirección: A.M. Gagneten.
- **CAI+D 2006 N° 21/122.** "Evaluación de la acumulación de metales pesados en crustáceos mediante biomarcadores y microscopía electrónica de barrido". Universidad Nacional del Litoral.  
Período de desarrollo: 2006-2009.  
Dirección: A.M. Gagneten.
- **PICTO 2003 ANPCyT – UNL. N° 112/02.** "Análisis de Perturbaciones Antropogénicas e Hidrológicas sobre la Biodiversidad del río Salado del Norte (Santa Fe).  
Período: 2003-2007.  
Dirección: M. Marchese. Integrante del grupo responsable: A.M. Gagneten.

Los análisis químicos de agua, análisis cuali-cuantitativo de zooplancton y bioensayos se realizaron en:

- Laboratorio de Bioensayos de la Facultad de Humanidades y Ciencias (UNL). Santa Fe.
- Laboratorio de Zooplancton del Instituto Nacional de Limnología (CONICET-UNL). Santo Tomé.
- Los análisis de Cr, Cr(VI) Pb, Cu y Cd en agua y en sedimento se realizaron en los Laboratorios del Servicio Centralizado de grandes instrumentos del CERIDE (CONICET-UNL). Santa Fe.
- Los análisis de Cr por Activación Neutrónica Instrumental de cladóceros se realizaron el Centro Atómico Bariloche (Provincia de Neuquén) y de copépodos en el Centro Atómico Ezeiza (Provincia de Buenos Aires).
- Los valores de referencia de metales pesados en sedimentos de la cuenca del río Paraná fueron proporcionados gentilmente por el INALI.

Durante estos años han sido muchas las personas que de una u otra forma me han acompañado a lo largo de este proceso. Es difícil, por tanto, sintetizar en unas líneas mi gratitud a todas ellas.

En primer lugar un profundo agradecimiento para mi Director, Juan César Paggi, a quien sin lugar a dudas puedo llamar mi maestro. El me guió en los aspectos conceptuales, taxonómicos, teóricos y prácticos vinculados con esta tesis, de una manera peculiar, propia de su gran calidad personal. Gracias por su confianza, estímulo permanente y toda la labor de supervisión realizada.

También quiero agradecer a Susana José de Paggi, por la valiosa guía en el reconocimiento de los rotíferos registrados. A Susana Gervasio por las determinaciones de metales pesados en agua y sedimento y por las enriquecedoras discusiones vinculadas a los aspectos químicos, también a Horacio Troiani, María Arribere y Rita Plá por las determinaciones por Activación Neutrónica Instrumental. A Luciana Regaldo por el trabajo conjunto sobre bioacumulación de cromo en cladóceros.

Agradezco muy especialmente a la Universidad Nacional del Litoral cuya subvención ha hecho posible la realización de este trabajo.

Deseo manifestar mi agradecimiento a las autoridades de la Facultad de Humanidades y Ciencias (UNL), del Instituto Nacional de Limnología (UNL-CONICET) y del Centro Atómico Bariloche (CNEA) por permitir utilizar sus instalaciones para realizar el trabajo experimental.

Y por supuesto a todos los tesisistas y becarios que compartieron mi interés por la ecotoxicología de zooplancton de agua dulce, que con su inagotable entusiasmo, sus comentarios y sugerencias han contribuido a incrementar mi motivación en seguir adelante para hacerlo cada día un poco mejor.

En el plano personal, un reconocimiento especial para mi familia: Gracias por su permanente entusiasmo, confianza, comprensión, cariño y apoyo incondicional.

“Ya no se habla de *someter* a la naturaleza: ahora hasta sus verdugos dicen que hay que *protegerla*. Pero en uno u otro caso, naturaleza sometida o naturaleza protegida, ella está *fuera* de nosotros. La civilización que confunde a los relojes con el tiempo, al crecimiento con el desarrollo y a lo grandote con la grandeza, también confunde a la naturaleza con el paisaje, mientras el mundo, laberinto sin centro, se dedica a romper su propio cielo”.

*Eduardo Galeano: “Úselo y tírelo, p. 21”.*

	Página
<b>Agradecimientos</b>	<b>3</b>
<b>Publicaciones y comunicaciones</b>	<b>9</b>
<b>Índice de Tablas</b>	<b>13</b>
<b>Índice de Figuras</b>	<b>14</b>
<b>1.- RESUMEN</b>	<b>16</b>
<b>2.- SUMMARY</b>	<b>21</b>
<b>3.- INTRODUCCIÓN</b>	<b>25</b>
- Objetivos	38
- Hipótesis	39
<b>4.- MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>40</b>
<b>4.1. Contexto ambiental</b>	<b>40</b>
4.1.1. Área de estudio	40
4.1.2. Sitios de muestreo	42
4.1.3. Determinación de parámetros ambientales	44
4.1.3.1. Toma y procesamiento de las muestras	44
4.1.3.2. Análisis químicos y fisicoquímicos en agua y sedimentos	45
4.1.3.3. Instrumental y determinaciones	47
4.1.3.4. Análisis numérico y estadístico de datos químicos y fisicoquímicos en agua y sedimentos	48
4.1.3.5. Determinación del Índice de Geoacumulación ( <i>Igeo</i> )	48

<b>4.2. Toma y procesamiento de las muestras de zooplancton</b>	<b>50</b>
4.2.1. Puesta a punto de la metodología de muestreo	50
4.2.2. Muestreo de zooplancton y análisis taxonómico	50
4.2.3. Análisis cuantitativo y estadístico de los atributos de la comunidad	53
<b>4.3. Bioensayos de acumulación de Cr en <i>Daphnia magna</i> y <i>Argyrodiaptomus falcifer</i> por Análisis por Activación Neutrónica Instrumental (AANI)</b>	<b>56</b>
4.3.1. Bioensayos de acumulación de Cr en <i>Daphnia magna</i>	58
4.3.2. Bioensayos de acumulación de Cr en <i>Argyrodiaptomus falcifer</i>	59
<b>5.- RESULTADOS</b>	<b>61</b>
5.1. Contexto ambiental	61
5.1.1.1. Parámetros físicos y químicos del agua	61
5.1.1.2. Metales pesados en agua	64
5.1.2. Características de los Sedimentos	68
5.1.2.1. Parámetros físicos y químicos de los sedimentos	68
5.1.2.2. Metales pesados en sedimentos	69
5.2. Estructura del zooplancton	76
5.2.1. Densidad	76
5.2.2. Biomasa	82
5.2.3. Riqueza y diversidad de especies	84



<b>Bioensayos de acumulación de Cr en <i>Daphnia magna</i> y <i>Argyrodiaptomus falcifer</i></b>	<b>88</b>
<b>5.3.1. Bioensayos de acumulación de Cr en <i>D. magna</i></b>	<b>88</b>
<b>5.3.2. Bioensayos de acumulación de Cr en <i>Argyrodiaptomus falcifer</i> y F.B.C.</b>	<b>89</b>
<b>6.- DISCUSIÓN</b>	<b>91</b>
<b>6.1. Contexto ambiental</b>	<b>91</b>
<b>6.2. Estructura del zooplancton: Densidad, biomasa, riqueza y diversidad de especies</b>	<b>100</b>
<b>6.2.1. Densidad</b>	<b>100</b>
<b>6.2.2. Biomasa</b>	<b>109</b>
<b>6.2.3. Riqueza de especies</b>	<b>111</b>
<b>6.2.4. Diversidad de especies</b>	<b>113</b>
<b>6.3. Bioacumulación de Cr en <i>Daphnia magna</i> y <i>Argyrodiaptomus falcifer</i></b>	<b>116</b>
<b>7.- CONCLUSIONES</b>	<b>119</b>
<b>8.- BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>124</b>

Esta Tesis ha dado lugar a las siguientes publicaciones y presentaciones en reuniones científicas:

#### 1.1. Publicaciones cuya información está en esta Tesis

- **Gagneten, A.M.**, Gervasio, S. and Paggi, J.C. (2007). Heavy Metal Pollution and Eutrophication in the Lower Salado River Basin (Argentina). *Water, Air and Soil Pollution*. 178: 335-349. **(F.I. = 1,26)**. ISSN: 0049-6979.
- **Gagneten, A. M.**, and Paggi, J. C. (2008). Effects of heavy metal contamination (Cr, Cu, Pb, Cd) and eutrophication on zooplankton in the lower basin of the Salado River (Argentina). *Water, Air and Soil Pollution*. **(F.I. = 1,26)**. ISSN: 0049-6979. En prensa.  
DOI: 10.1007/s11270-008-9848-z
- Regaldo L ; **Gagneten, A.M.** and Troiani, H. (2009). Accumulation of Chromium and interaction with other elements in *Chlorella vulgaris* (Cloroficeae) and *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera). *Journal of Environmental Biology* Vol. 30. **(F.I. = 0,34)**. ISSN: 0254-8704. En prensa.
- **Gagneten, A.M.**, Plá R.R, Regaldo, L. and Paggi J.C. "Assesment of Bioconcentration Factor of Chromium by Instrumental Neutron Activation Analysis in *Argyrodaptomus falcifer* Daday, a subtropical freshwater copepod". *Water, Air and Soil Pollution*. **(F.I. = 1,26)**. ISSN: 0049-6979. En revisión.

#### Capítulo de libro:

- **Gagneten, A. M.** (2006). Efectos de la toxicidad crónica del Cromo y del Cobre en *Daphnia magna* Straus (Crustacea, Cladocera). En: Salud Ambiental y Humana. Una Visión Holística. Editor: Jorge Herkovits. Sociedad de Toxicología y Química Ambiental (SETAC). ISBN: 10:987-05-1959-8.

#### 1.2. Publicaciones relacionadas con el trabajo de Tesis:

##### Capítulo de libro:

- **Gagneten, A. M.**; Regaldo, L. y Troiani, H. (2008). Uso del SEM para determinar efectos tóxicos del cromo en la estructura morfológica de *Chlorella sp.* y *Daphnia magna*. En: Química y Toxicología Ambiental en América Latina. Editor: Jorge Herkovits. Sociedad de Toxicología y Química Ambiental (SETAC). En prensa.

##### Publicaciones periódicas:

- Ceresoli, N. y **Gagneten, A. M.** (2003). Efectos del efluente de curtiembre sobre *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) en condiciones experimentales. *Interciencia* 28 (8): 469-475. **(F.I. = 0,53)**. ISSN: 0378-1844.

- **Gagneten, A. M.** y Ceresoli, N. (2004). Efectos del efluente de curtiembre sobre la abundancia y riqueza de especies del zooplancton en el Arroyo Las Prusianas (Santa Fe, Argentina). *Interciencia* 29 (12): 702-708. **(F.I. = 0,53)**. ISSN: 0378-1844.
- Zilli, F. L. y **Gagneten, A. M.** (2005). Efectos de la contaminación por metales pesados sobre la comunidad bentónica de la cuenca del Arroyo Cululú (río Salado del Norte, Argentina). *Interciencia* 30 (3): 159-165. **(F.I. = 0,53)**. ISSN: 0378-1844.
- Andreotti, C; **Gagneten, A. M.** (2006). Efectos ecotoxicológicos del sedimento del río Salado inferior (Argentina) en la sobrevivencia y reproducción de *Moina micrura* (Crustacea, Cladocera). *Rev. Toxicol.* 23: 146-150. ISSN: 0212-7113.
- Marchese, M. **Gagneten, A. M.**, Parma, M. J and Pavé, P. (2008). Accumulation and elimination of chromium by freshwater species exposed to spiked sediments. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 55: 603–609. **(F.I. = 1,419)**. ISSN: 0090-4341.
- **Gagneten, A. M.**, Imhof A. y Gervasio S. (2008). Accumulation and elimination of Cr in gills and eggs of *Zilchiopsis collastinensis* (Crustacea, Decapoda) after experimental exposure. *Fresenius Environmental Bulletin* 17 (2): 182-187. **(F.I. = 0,45)**. ISSN: 1018-4619.
- Gutiérrez, M. F., **Gagneten A. M.** y Parma, M. J. (2008). Bioconcentration and trophic transfer of chromium in the *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera) -*Cnesterodon decemmaculatus* (Pisces, Poeciliidae) system. *Fresenius Environmental Bulletin* 17(6): 647-651. **(F.I. = 0,45)**. ISSN: 1018-4619
- **Gagneten, A. M.** e Imhof, A. (2009). Cr accumulation in the freshwater crab *Zilchiopsis collastinensis* in mesocosms experiments. *Journal of Environmental Biology*. Vol. 30 (2/3). ISSN: 0254-8704. En prensa.

## 2.1. Presentaciones en reuniones científicas cuya información está en esta Tesis

- **Gagneten, A. M.** "Estudio de calidad química del agua y sedimentos de la cuenca del río Salado (Santa Fe, Argentina)". VI Reunión Sociedad de Toxicología y Química Ambiental (SETAC LA). Buenos Aires, 21-23/10/03.
- **Gagneten, A. M.** "Dinámica estacional de metales pesados en un ambiente acuático contaminado". VI Reunión Sociedad de Toxicología y Química Ambiental (SETAC LA). Buenos Aires, 21-23/10/03.
- **Gagneten, A. M.**; Gervasio, S. y Paggi, J. C. "Respuestas del zooplancton a la contaminación por metales pesados en la cuenca del río Salado Inferior (Santa Fe, Argentina). Contexto ambiental". III Encuentro Bioquímico del Litoral y VI Jornadas Técnico - Científicas de la Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas. UNL. 16-18/05/05.

- **Gagneten, A. M.**; Regaldo, L. y Troiani, H. "Bioacumulación de Cr VI por *Chlorella* sp. y *Daphnia magna* en microcosmos". VI Congreso SETAC LA. Santiago (Chile). 17-20/10/05:
- Regaldo, L., **Gagneten, A. M.**, Troiani, H. y Arribere, M. "Aplicación de análisis por activación neutrónica instrumental en ecotoxicología de organismos planctónicos". IX Jornadas de Ciencias Naturales del Litoral. Paraná, 22-24/11/06.
- Molina, X. y **Gagneten, A. M.** Presentación del Simposio: "Sistemas Límnicos y Perturbaciones Antrópicas". III Reunión Binacional de Ecología. Ecología: la teoría y sus aplicaciones". La Serena (Chile). 30/09-4/10/07.
- **Gagneten, A. M.** "Efectos de los metales pesados sobre la biodiversidad en la cuenca inferior del río Salado del Norte, Santa Fe, Argentina". III Reunión Binacional de Ecología. Ecología: la teoría y sus aplicaciones". La Serena (Chile). 30/09-4/10/07.
- **Gagneten, A. M.** Marchese, M. y Parma, M.J. "Efectos de los metales pesados y biocidas sobre la biodiversidad en la cuenca del río Salado del Norte, Santa Fe, Argentina". IV Congreso Nacional sobre Problemáticas Sociales Contemporáneas. Santa Fe, 22-24/10/08.
- **Gagneten AM.**, Plá R.R., Regaldo L. y Paggi J.C. Determinación del Factor de Bioconcentración de Cromo por Análisis por Activación Neutrónica Instrumental en *Argyrodiaptomus falcifer* Daday, un copépodo dulceacuícola subtropical. II Congreso Argentino SETAC. Mar del Plata, 26-28/11/08.

## 2.2. Presentaciones en reuniones científicas relacionadas con el trabajo de Tesis

- Andreotti, C. y **Gagneten, A. M.** "Acción tóxica del sedimento del río Salado inferior en la sobrevivencia y reproducción de *Moina micrura* (Crustacea, Cladocera)". 69º Reunión de Comunicaciones Científicas. Asociación de Ciencias Naturales del Litoral. 16/05/04. Santa Fe.
- Abdelahad V. y **Gagneten A. M.** "Acción tóxica de sedimentos de la cuenca del río Salado Inferior: su evaluación a través de atributos de historia de vida de *Echinisca elegans*". 70º Jornadas de Ciencias Naturales del Litoral. 29/09/04.
- Zilli, F. y **Gagneten, A. M.** Efectos de la contaminación por metales pesados sobre la comunidad macrozoobentónica de la cuenca del Arroyo Cululú (río Salado del Norte, Santa Fe, Argentina). II Reunión Binacional de Ecología. Mendoza, 31/10 -5/11/04.
- **Gagneten, A. M.**; Regaldo, L; Troiani, H. Uso del SEM para determinar efectos tóxicos del cromo en la estructura de *Chlorella sp* y *Daphnia magna*. VI Congreso SETAC LA. Santiago (Chile) del 17-20/10/05:

- Grasso, B. y **Gagneten, A. M.** Variación de microcrustáceos planctónicos en una sección transversal del río Salado del Norte (Santa Fe). III Congreso Argentino de Limnología. Chascomús. 31/10-2/11/05.
- **Gagneten, A. M.** e Imhof, A. Acumulación de Cr en *Zilchiopsis collastinensis* (Crustacea, Decapoda) en mesocosmos. XXII Reunión Argentina de Ecología. Córdoba, 22 -25/08/06.
- Gutiérrez, F., **Gagneten, A. M.** y Parma, J. Alteraciones en la sobrevivencia de *C. decemmaculatus* (Pisces, Poecillidae) alimentado con *D. magna* (Crustacea, Cladocera) contaminada con Cr(VI). XXII Reunión Argentina de Ecología 22-25/08/06. Córdoba.
- **Gagneten, A. M.**, Imhof, A. y Gervasio, S. Acumulación diferencial de Cr en órganos de *Zilchiopsis collastinensis* (Crustacea, Decapoda) en condiciones experimentales. IX Jornadas de Ciencias Naturales del Litoral. Paraná, 22-24/11/06.
- **Gagneten, A. M.**, Marchese, M. Estudio de la contaminación acuática sobre el zooplancton y el zoobentos en estudios de laboratorio y de campo: la experiencia de una década. 1º Simposio SETAC, Ecotoxicología y Contaminación. SETAC Argentina. 30/11-1/12/06. Los Cocos. Córdoba.
- Marchese M., **Gagneten, A. M.**, Parma, M.J. y Pavé, P. Acumulación y eliminación de cromo por organismos acuáticos a nivel de mesocosmos. 1º Simposio SETAC, Ecotoxicología y Contaminación. SETAC Argentina. 30/11-1/12/06. Los Cocos. Córdoba.
- Gutierrez, M.F.; **Gagneten, A. M.** y Paggi, J.C. Ensayo comparativo de la Toxicidad Aguda de tres metales pesados en una especie endémica de la región Neotropical: *Notodiaptomus conifer* (Sars). XV Congreso Argentino de Toxicología (ATA). 26-28/09/07. Neuquén.
- Gutiérrez, M.F, **Gagneten, A. M.** y Paggi, J.C. "Análisis de algunos aspectos del ciclo de vida de *Notodiaptomus conifer* Sars, 1901 (Copepoda, Calanoida) bajo condiciones experimentales". 73º Reunión de Comunicaciones Científicas. INALI-UNL. Santa Fe, 20/05/08.
- Regaldo, L., **Gagneten, A.M.**, Troiani, HE y Cotaro C. "Una aproximación a la microestructura *Daphnia magna* Straus". 74ª Reunión de Comunicaciones Científicas. INALI-UNL. Santa Fe, 16/11/08
- Gutiérrez, M.F, **Gagneten, A.M.** y Paggi, J.C. "Evaluación de la Toxicidad crónica del cobre sobre *Notodiaptomus conifer* (Sars, 1901). 74ª Reunión de Comunicaciones Científicas. INALI-UNL. Santa Fe, 16/11/08.
- Gutiérrez F., **Gagneten A.M.** y Paggi J.C. Toxicidad aguda del Cromo, Cobre y Plomo sobre *Notodiaptomus incompositus* Brian (Crustacea, Copepoda). II Congreso Argentino SETAC. Mar del Plata, 26-28/11/08.

## Índice de Tablas

Tabla N°	Página
Tabla 1: Valores promedio y rango de concentración de metales pesados (Cr, Cr (VI), Cu, Pb, Cd) en agua ( $\mu\text{g/l}$ ) en cada sitio de muestreo.	64
Tabla 2: Contenido de materia orgánica (% MO) y carbono orgánico (% CO) en sedimentos en cada sitio de muestreo.	67
Tabla 3: Valores promedio y rango de concentración de metales pesados en sedimentos cada sitio de muestreo.	69
Tabla 4: Resultados de ANOVA de una vía entre la concentración de los metales pesados en sedimentos y en agua en los sitios contaminados en relación con el sitio control.	72
Tabla 5: Matriz de correlación para contenido de metales pesados, materia orgánica, carbono orgánico y composición granulométrica en sedimentos de superficie en todos los sitios de muestreo.	73
Tabla 6: Especies de cladóceros, copépodos y rotíferos registradas. Se consigna la abundancia promedio de cada especie en cada sitio de muestreo.	75
Tabla 7: Riqueza de especies (S), Diversidad de especies (H) y Equitatividad (E) totales y por grupo taxonómico (Copepoda, Cladocera y Rotifera) en cada sitio de muestreo.	83
Tabla 8: Niveles guía canadiense y argentino para sedimentos y agua en cada uno de los sitios de muestreo.	91

## Índice de Figuras

Figura N°	Página
Figura 1: Mapa de la cuenca del río Salado mostrando la localización de los sitios de muestreo.	42
Figura 2: Parámetros físicos y químicos registrados en los sitios de muestreo.	58
Figura 3: Parámetros químicos registrados en los sitios de muestreo.	60
Figura 4: Contenido de Cr, Cr VI, Pb, Cu y Cd en agua en cada sitio de muestreo.	62
Figura 5: Composición granulométrica (% de arcilla, limo y arena) en cada sitio de muestreo.	66
Figura 6: Contenido de Cr, Cr VI, Pb, Cu y Cd en sedimentos en cada sitio de muestreo.	68
Figura 7: Incremento de metales pesados a lo largo del gradiente hidrológico de los sitios de muestreo, desde los canales Norte y Sur hasta el río Salado en Manucho, en relación al sitio control en San Justo.	71
Figura 8: Densidad por grupo taxonómico (ind./l) (Copepoda, Cladocera y Rotifera) registrada en cada sitio de muestreo.	75
Figura 9: Densidad (ind./l) de Ciclopoida, Calanoida y Harpacticoida registrada en cada sitio de muestreo.	76
Figura 10: Densidad (ind./l) de microzooplancton (Rotifera+larvas nauplio) y mesozooplancton (Copepoda+Cladocera) en cada sitio de muestreo.	77
Figura 11: Biomasa (µg/l) de Ciclopoida, Calanoida, Harpacticoida, Cladocera y Rotifera en cada sitio de muestreo.	79
Figura 12: Riqueza de especies (S) y Diversidad de especies (H) registradas en cada sitio de muestreo.	81

Figura 13: Mapa de la cuenca del río Salado mostrando la riqueza relativa de Rotífera, Copepoda y Cladocera registrada en cada sitio de muestreo.	82
Figura 14: Concentraciones de Cr registradas en <i>Argyrodiaptomus falcifer</i> y <i>Daphnia magna</i> . Mediciones efectuadas con Análisis por Activación Neutrónica Instrumental (AANI).	85
Figura 15: Factor de Bioconcentración de Cr ( $\mu\text{g/g}$ ) para <i>A. falcifer</i> y <i>D. magna</i> .	86
Figura 16: Valores del Índice de Geoacumulación ( <i>Igeo</i> ) para Cr, Pb, Cu y Cd de los sitios de muestreo.	92
Figura 17: Análisis jerárquico de cluster (Distancia Euclideana, método UPGMA) basado en la concentración de metales pesados en sedimento y en agua en los sitios de muestreo.	94
Figura 18: Cladograma (método UPGMA) de parámetros biológicos y metales pesados en agua y sedimentos.	104



## 1.- Resumen

En este trabajo se midieron los niveles de metales pesados (cromo, cobre, plomo y cadmio) en agua y sedimentos de fondo de la cuenca del río Salado inferior mediante espectrofotometría de absorción atómica y se compararon con los estándares argentino y canadiense. Se aplicó análisis de la varianza (ANOVA), análisis de agrupamiento y correlaciones para analizar los resultados obtenidos. Se calculó el Índice de Geoacumulación como medida de la contaminación de los sedimentos, encontrando diferencias significativas entre el contenido de metales pesados en sedimentos así como en agua en los sitios receptores de efluentes industriales, en relación con el sitio tomado como referencia.

Por otra parte, se analizó la posible vinculación de la contaminación por metales pesados registrada en agua y sedimento con cambios estructurales y funcionales de la comunidad zooplanctónica. Para ello se estudió cuali y cuantitativamente la comunidad zooplanctónica en cinco sitios posiblemente contaminados por ser receptores de efluentes industriales, y en un sitio de referencia. Se cuantificó la densidad total y por grupo (Copepoda, Cladocera y Rotifera), densidad de micro y mesozooplankton, biomasa, riqueza de especies (S), y diversidad de especies (H). Los resultados mostraron que la densidad total del zooplankton fue significativamente mayor en el río que en los canales y arroyos, con dominancia de rotíferos pero mayor biomasa de copépodos. Calanoida dominó sobre Cyclopoida y Harpacticoida. La riqueza total de especies fue 74, mostrando los valores más altos (59 y 56) en los sitios correspondientes al río, en las localidades de Manucho y San Justo y los menores en los canales Norte y Sur, con 16 y 17 especies respectivamente, y en los dos sitios del Arroyo Las Prusianas, con 13 y 38 especies. La diversidad de especies mostró valores bajos (1,8–2,3) en canales y arroyos, con valores más altos (3,0–3,16) en el río Salado, en Manucho y San Justo. La biomasa absoluta varió en el orden San Justo>Manucho>Las Prusianas 1>Canal Norte>Canal Sur>Las Prusianas 2, de

modo similar a la densidad absoluta, que varió en el orden San Justo>Manucho>Las Prusianas 1>Canal Norte>Canal Sur>Las Prusianas 2.

La comparación del contenido de metales pesados en agua entre el sitio considerado de referencia (San Justo) y los sitios más contaminados mostraron diferencias significativas con el Canal Norte y en el arroyo Las Prusianas y no significativas, aunque cercanas al nivel de significancia, en el Canal Sur y Manucho. Se encontraron las siguientes correlaciones positivas: turbiedad con densidad total y con S ( $p=0,006$  y  $p=0,0003$ ); profundidad con densidad del mesozooplancton, con H y S ( $p<0,001$ ); temperatura con densidad del microzooplancton, con H y S ( $p<0,004$ ), oxígeno disuelto con densidad de mesozooplancton, H y S ( $p<0,01$ ) pero no con microzooplancton, lo que indica mayor tolerancia de esta fracción. Se encontró correlación negativa entre biomasa de copépodos y concentración de Pb y Cu en sedimentos ( $p<0,05$  y  $p=0,01$  respectivamente) y densidad de rotíferos y Cr en sedimentos ( $p<0,024$ ). En general, se encontraron correlaciones bajas entre concentración de metales pesados en agua y parámetros biológicos del zooplancton, que pueden explicarse por la adaptación evolutiva que las poblaciones han alcanzado para lograr sobrevivir en ambientes altamente contaminados. El volcado de metales pesados al sistema se produce desde hace décadas (al menos desde el año 1887), tiempo suficiente para el desarrollo de miles de generaciones de organismos planctónicos con un tiempo generacional muy breve.

Las principales conclusiones que pueden derivarse del presente estudio indican que las concentraciones de todos los metales pesados en sedimentos y en algunas oportunidades en agua, fueron mayores a las concentraciones máximas permitidas y que el Índice de Geoacumulación fue mejor indicador del estado de contaminación que los valores estándares generalmente empleados.

La contaminación del río Salado inferior mostró una estrecha relación entre el impacto de los metales pesados y del proceso de eutrofización. El gradiente de polución fue: Las Prusianas > Manucho > Canal Sur > Canal Norte > San Justo.

En relación con la estructura de la comunidad zooplanctónica, los metales pesados pudieron actuar facilitando la proliferación de *r* estrategias (rotíferos) de pequeño tamaño, corto tiempo generacional y alta tasa reproductiva, disminuyendo la biomasa y la riqueza y diversidad de especies al favorecer la ocurrencia de pocas especies tolerantes y disminución de las más sensibles. Los rotíferos fueron los más tolerantes, seguidos por copépodos y cladóceros. Este último grupo contribuyó significativamente a la comunidad sólo en San Justo, donde se registró mayor equitabilidad. En estudios de campo, los cladóceros mostraron no ser tolerantes a los metales pesados.

Los resultados obtenidos estarían vinculados fundamentalmente a la acción del Cr y del Cu, y al alto grado de eutrofia del sistema. En comparación con sistemas menos contaminados de la región –Río Paraná Medio–, la densidad fue similar, pero la biomasa mucho menor por la proliferación de especies de pequeño tamaño. La biomasa disminuyó con el aumento de la concentración de metales pesados, indicando que este parámetro también fue un buen indicador de la contaminación del sistema.

Por otra parte, fue posible identificar diferentes áreas en función del grado de contaminación a partir de los valores de diversidad (H). La riqueza de especies (S) permitió la separación de los ambientes estudiados en dos grupos: los tributarios, con baja riqueza, y el río, con mayor riqueza de especies por lo que H y S también mostraron ser buenos indicadores de estrés ecosistémico.

El agrupamiento de las variables biológicas y la concentración de metales pesados en agua y sedimento mostró tres grupos de ambientes: el eje principal del río, con menor contaminación por metales pesados y mayor densidad, biomasa, H y S que se separó claramente de los tributarios, con un grupo formado por los canales y el otro grupo por los arroyos. En los tributarios, además de especies *r* estrategias proliferaron pocas especies tolerantes, tales como *E. neumani*. Esta especie, debido a su alta tolerancia, podría ser considerada como especie indicadora de contaminación por metales pesados en la región.

El río ofreció mejores condiciones para el desarrollo de la comunidad (por ejemplo mayor caudal y tenor de oxígeno disuelto) que los tributarios, permitiendo el establecimiento de poblaciones importantes en Manucho, uno de los sitios contaminados, y en San Justo, el sitio de referencia.

En los organismos es frecuente encontrar niveles de metales pesados superiores a los registrados en el ambiente, fenómeno conocido como bioconcentración. Los organismos planctónicos pueden secuestrar los metales pesados biodisponibles en la columna de agua. Sin embargo es muy escasa la información referida a la concentración de Cr en organismos planctónicos, en especial de agua dulce. Por ello, en este trabajo se determinó la capacidad para acumular Cr a partir del agua, del copépodo calanoideo dulceacuícola *Argyrodiaptomus falcifer* (Daday, 1905) y del cladóceros dulceacuícola *Daphnia magna* Straus, para luego determinar por Análisis por Activación Neutrónica Instrumental (AANI) la cantidad de Cr acumulado. Se calcularon los respectivos Factores de Bioconcentración (F.B.C) para evaluar su potencial como biomonitores.

*A. falcifer* acumuló significativamente más Cr en las tres concentraciones evaluadas en relación al control, pero no entre los tratamientos. Por otro lado, *D. magna* acumuló mayor cantidad de Cr que *A. falcifer*, pero estas diferencias no fueron significativas ( $p < 0,05$ ). La información sobre la toxicidad de metales pesados para copépodos de agua dulce es muy escasa, por lo que estos resultados son de gran importancia para detectar los mejores biomonitores de ambientes de agua dulce contaminados con Cr.

Los resultados del presente estudio demuestran que los organismos zooplanctónicos son muy sensibles a la acción tóxica de metales pesados y que responden como buenos monitores de calidad ambiental. Las especies difieren en el grado de sensibilidad, generando cambios estructurales y funcionales en la comunidad, con posibles consecuencias en niveles superiores de organización biológica.

En virtud de lo expuesto, podemos afirmar que es necesario reunir suficientes líneas de evidencia (por ejemplo monitoreo químico y biológico a

diferentes niveles de organización) para determinar el grado de contaminación de un sistema. El monitoreo de metales pesados, de parámetros físicos y químicos y su relación con los parámetros biológicos registrados en la comunidad zooplanctónica en campo y con especies representativas a escala de laboratorio, muestra la urgencia de profundizar los estudios biológicos iniciados y de emprender acciones de remediación en la cuenca inferior del río Salado.

## 2.- SUMMARY

The levels of heavy metals (Cr, Cu, Pb and Cd) in water and core sediments of the lower Salado River basin were measured by atomic absorption spectrophotometric analysis and the values obtained were compared with the Argentine and Canadian standards. Analysis of variance (ANOVA) and correlation analysis were applied. Geoaccumulation Index was calculated to measure the contamination of the sediments. Significant differences between heavy metals in sediments and in water of contaminated sites in relation to the reference site were found.

On the other hand, the possible linkage between heavy metals in water and zooplankton structural and functional changes was assessed through total and by group (Copepoda, Cladocera and Rotifera) density, micro and mesozooplankton density, richness (S), and species diversity (H). The results evidenced that zooplankton total density was significantly higher at the river than at the channels and streams, with rotifers' dominance, but bigger biomass of copepods. Calanoida overruled Cyclopoida and Harpacticoida. The total species richness was 74, showing the higher valuables (59 and 56) at the river, at the localities of Manucho and San Justo and the minors at the North and South Channels, with 16 and 17 species respectively, and at the Las Prusianas stream, with 13 and 38 species. The species diversity showed low values (1.8 – 2.3) at channels and streams, with higher values (3.0) at the river in Manucho and San Justo. The absolute biomass varied in the order San Justo>Manucho>Las Prusianas 1> North Channel>South Channel>Las Prusianas 2. In a similar way of the absolute density, which varied in the order: San Justo>Manucho>Las Prusianas 1>North Channel>South Channel >Las Prusianas 2.

The comparison of the heavy metals concentration in water among the reference site (San Justo) and the considered contaminated sites showed not significant differences with the North Channel and Las Prusianas stream, and no significant, although close to the significant level, in South Channel and Manucho. The following positive correlations were found: Turbidity with total density and with S ( $p=0.006$  and  $p=0.0003$ ); depth with mesozooplankton density, with H and S ( $p=0.001$ ); temperature with microzooplankton density, with H and S ( $p=0.004$ ),

dissolved oxygen with mesozooplankton density, H and S ( $p=0.01$ ) but not with microzooplankton, suggesting a higher tolerance of this fraction.

Negative correlation were found between biomass of copepods and Pb and Cu concentration in sediments ( $p<0.05$  and  $p<0.01$  respectively) and biomass of rotifers and Cr in sediments ( $p<0.024$ ).

The weak correlation among metals in water and biological parameters of zooplankton could be explained by the acclimatation that populations have reached to be able to survive in highly contaminated environments. The disposal of heavy metals to the system is produced since decades ago (at least since 1887), enough time for the development of thousands of generations of planktonic organisms with a very short generation time.

The principal findings derived from the present study suggest than the concentrations of all the heavy metals in sediments and in some opportunities in water, were higher than the reference values and that Geoacumuluation Index was more indicative of the status of contamination than the standards values usually used.

The inferior Salado River basin showed a close relation among the impact of heavy metals and the eutrophication process. The contamination gradient was: Las Prusianas > Manucho > South Channel > North Channel > San Justo.

In relation with the structure of the community, the heavy metals could have a negative effect on the zooplanktonic community, favouring the proliferation of *r* strategists (rotifers), decreasing the biomass and decreasing the species richness and diversity, to favor a few tolerant species and the decrease of the most sensitive ones.

The results obtained would be linked fundamentally to the action of Cr and Cu, together with the eutrophication of the system. If compared with less contaminated environments of the region –like the Middle Paraná River-, density was similar, but the biomass was very scarce, with the proliferation of smaller species. Biomass diminished with the increment of heavy metals, showing that this parameter is also a good indicative of contamination.

Moreover, different areas could be identified in relation with diversity values (H). From species richness (S) data, two groups of environments could be

determined: the tributaries, with low richness, and the river, with higher richness; so H and S also were good indicatives of ecosystem stress.

The grouping of the biological variables and the concentration of heavy metals in water and sediment showed three groups of environments: The main course of the river, with minor contamination of heavy metals and higher density, biomass, H and S separated clearly from the tributaries, with two groups, one group formed by the channels and the other one by the streams. In the tributaries proliferated *r* strategists and few tolerant species, such as *Eucyclops neumani*. This species, due to its high tolerance, could be considered as an indicator of contamination of heavy metals at the region.

The river offered better conditions for the community (e.g. higher water levels and dissolved oxygen) than the tributaries, allowing the establishment of populations in Manucho, one of the contaminated sites, and in San Justo, the reference site.

In the biota It is frequent to find higher levels of heavy metals than in the environment, process known as bioconcentration. Between the heavy metals, information referred to Cr in planktonic organisms is very scarce. So, and attending to the importance of the zooplankton in the trophic webs of continental aquatic systems, we also determined the capacity of copepods and cladocerans to accumulate Cr from water. We choose the freshwater calanoid *Argyrodiaptomus falcifer* (Daday, 1905) and the cladoceran *Daphnia magna* Straus to latter determine by Instrumental Neutral Activation Analysis (INAA) the amount of Cr accumulated. The Bioconcentration Factor (F.B.C) for both species were calculated to evaluate their potential as biomonitors.

Cr accumulated in *Argyrodiaptomus falcifer* significantly in the three concentrations tested in relation to the control but no significative differences were found between treatments ( $p < 0.05$ ). In addition, *D. magna* accumulated more Cr than *A. falcifer*, but these differences were no significant ( $p > 0.05$ ). The information on the toxicity of heavy metals for freshwater copepods is very scarce, so these results are of great importance to detect the best biomonitors of freshwater



environments contaminated with Cr. In addition, due to the relevance of zooplankton in freshwater systems, Cr may accumulate progressively through the trophic web having negative consequences in superior trophic levels.

The results of this survey show that zooplanktonic organisms are very sensitive to the toxic action of heavy metals and are good monitors of environmental quality. Species differ in their sensitivity, which in turn can produce structural and functional changes in the community, with possible consequences at higher levels of biological organization.

It is necessary to gather different lines of evidence (e.g. chemical and biological studies at different organizational levels) to determine the degree of contamination of a system. Moreover, bioaccumulation of Cr in selected species of copepods and cladocerans was assessed, indicating a possible negative effect in the trophic webs where they take part.

The monitoring of heavy metals and physicochemical parameters together with the biological features registered in zooplankton, show the urgency of deepening the biological studies and to undertake remediation actions at the lower Salado River basin.

## **INTRODUCCIÓN**

**Objetivos – Hipótesis**

# **Respuestas del zooplancton a la contaminación por cromo en la cuenca del río Salado inferior (Santa Fe, Argentina)**

## **1. INTRODUCCION**

La contaminación de los cuerpos de agua dulce superficial es un problema que se ha agudizado en los últimos años. En este sentido, el informe presentado en el año 2000 por el World Resources Institute (WRI) ha catalogado bajo la categoría de "mala" la condición de la biodiversidad de los ecosistemas dulceacuícolas al compararlas con el estado que presentaban en los últimos 20 ó 30 años.

El WRI establece el rango de categorías "creciente, variable, decreciente o desconocido" para caracterizar los cuerpos de agua continental en función de la capacidad para que continúen proveyendo los servicios ecosistémicos que le son propios. En tal sentido, les asignó la condición de "decrecientes", por el elevado índice de contaminación que presentan.

Un aspecto de esta problemática que no siempre se destaca convenientemente es que la contaminación es esencialmente un fenómeno biológico, porque sus efectos primarios se ejercen sobre la biota, incluido el ser humano. En este sentido, Hynes ya en el año 1978 sostenía que es común estudiar la contaminación en términos puramente químicos, a través de la medición de la demanda biológica de oxígeno, sólidos suspendidos, amonio, etc., sin considerar sus complejos efectos biológicos. En las últimas décadas sin embargo, esta perspectiva ha cambiado considerablemente: se incrementó el conocimiento sobre los niveles de metales pesados en ecosistemas acuáticos, en forma simultánea con el desarrollo de actividades industriales y el desarrollo urbano. También se desarrollaron métodos analíticos capaces de detectar niveles muy bajos de metales pesados en aguas naturales que aunque bajos, pueden ser

muy negativos tanto para la biota acuática como para la salud humana (Marcovecchio y col., 2007). Actualmente son numerosos los estudios ecotoxicológicos que abordan esta problemática en diversos taxones y a diferentes escalas. Este enfoque generó un avance significativo en el conocimiento de los contaminantes y de sus efectos sobre los seres vivos, incluyendo al hombre.

En los países industrializados el control de la contaminación está basado en monitoreos rigurosos para determinar si se alcanzan los estándares prescriptos. En los países subdesarrollados, en cambio, se han realizado escasos esfuerzos en la elaboración de estándares apropiados, entre otras causas por la imposibilidad de trasladar los mismos criterios que allí se aplican y que implican el empleo de tecnología altamente específica (ENSIC, 1993). Otro problema reside en que los estándares mundiales están basados en especies pertenecientes al hemisferio norte, no siendo correcta su aplicación a especies nativas. En este sentido, las especies del hemisferio norte frecuentemente son endémicas, habiendo desarrollado su etapa evolutiva más reciente en ambientes con muchos años de alteración antrópica.

Entre los contaminantes, los metales pesados se destacan por su reconocida toxicidad. Se denominan "metales pesados" aquellos que tienen una densidad mayor de  $5 \text{ g/cm}^3$  (Kennish, 1992). El término *metal pesado* incluye metales traza tanto esenciales como no esenciales, que pueden ser tóxicos para los organismos dependiendo de sus propiedades, biodisponibilidad (especiación química) y concentración. Los metales pesados (Ag, As, Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb y Zn) pueden estar presentes en sistemas acuáticos en forma disuelta (pudiendo causar efectos tóxicos a una gran variedad de organismos, incluyendo vertebrados) o en forma particulada (incluyendo adsorción en sedimentos, materia orgánica suspendida o coloides, formando complejos e hidróxidos de Fe y Mn, ligado a materia orgánica y carbonatos, etc.). La dinámica que regula la transferencia de metales pesados entre las fases disuelta y particulada depende del pH y del potencial de óxido reducción del sistema. Estos parámetros también

regulan la especiación química de los metales pesados en el ambiente (Marcovecchio y col., 2007).

Ya que los metales pesados son contaminantes estables y persistentes, no pueden ser destruidos. Por lo tanto, tienden a acumularse en los suelos y sedimentos (Salomons y Förstner, 1984; Everaarts y col., 1993; Rosenberg y Resh, 1993; Amini Ranjbar, 1998). A bajas concentraciones actúan como micronutrientes pero son tóxicos a concentraciones mayores (Bryan, 1976; Lee y Luoma, 1998; Jeejeebhoy, 1999; Huang y col., 1999; Nelson y col., 2000; Roditi y col., 2000; Wong y col., 2000). Los iones de metales pesados generalmente entran a las células a través de los mismos canales de transporte que los cationes fisiológicamente importantes, tales como el Ca, Mg, Cu y Zn (Luoma y Rainbow, 2005).

Entre los metales pesados, el Cr está ampliamente distribuido en la corteza terrestre. Respecto al agua potable, se considera tóxica cuando posee niveles de Cr superiores a 0,05 mg/l (Vishwanatham, 1977 en Prakasham y col., 1999).

Posee distintos estados de oxidación, desde (II) a (VI). Los estados de oxidación más frecuentes son el trivalente (III) y el hexavalente (VI) siendo muy inestables los otros estados de oxidación. El Cr(III) es tóxico por su alta capacidad para formar complejos con proteínas y compuestos orgánicos (Su y col., 2005). Los compuestos de Cr hexavalente son agentes fuertemente oxidantes que se presentan como dicromatos y cromatos de sodio y potasio altamente solubles en agua. Estos compuestos se reducen fácilmente al estado trivalente, que es la forma más frecuente de Cr. En su estado natural se encuentra formando compuestos minerales (cromita) en concentraciones de 250 µg/kg de suelo y sales de muy baja solubilidad, siendo en este estado, esencial en el metabolismo de los glúcidos (Jeejeebhoy, 1999).

Contrariamente, el Cr hexavalente no forma complejos y produce oxianiones acuosos Cr(VI) que pueden desplazarse con facilidad en el sistema acuático (Loyaux-Lawniczak y col., 2000).

A nivel de organismo, se ha demostrado que el Cr(VI) posee efectos crónicos adversos de tipo respiratorio, dermatológico y carcinogénico (Viessman y Hammer, 1985 y Beszedots 1983 en Prakasham y col., 1999; Kimbrough y col., (1999); Jeejeebhoy (1999); Puls y col., 1994 y Nriagu y Nieboer, 1988 en Loyaux-Lawniczak y col., 2000).

La alta toxicidad del Cr(VI) para los tejidos radica en sus propiedades oxidantes, que se evidencian a nivel celular: Al ser altamente soluble en agua y un agente fuertemente oxidante, causa daños severos a las membranas celulares (Mei y col., 2002). El mecanismo de toxicidad radica en su alta velocidad de penetración a la célula, dentro de la que es reducido a cromo trivalente, pero durante el proceso de reducción, se forman intermediarios oxidables que reaccionan con el ADN. Huang y col. (1999) y Jeejeebhoy (1999) mostraron que el Cr (VI) induce la peroxidación de los lípidos y que al penetrar a las mitocondrias, deprime el consumo de oxígeno inhibiendo la enzima que suministra los complejos respiratorios con la nicotinamida dinucleótido reducida (NADH).

La totalidad del Cr(VI) es generado por actividades antrópicas de tipo industrial. El Cr es utilizado en el curtido de cueros y en la producción de aceros inoxidables, fabricación de vidrio, pigmentos, fungicidas, baterías y cemento (Rinderhagen y col., 2000; Su y col., 2005).

La cuenca del río Salado inferior es una de las más contaminadas de Argentina; recibe cantidades importantes de metales pesados principalmente de Cr proveniente de curtiembres e industrias metalúrgicas, que representa un importante segmento de la economía regional. La población actual de Argentina es de 36.223.947 habitantes, con una densidad poblacional media de 13,3 individuos por km<sup>2</sup>, de las cuales aproximadamente la mitad viven en la provincia de Buenos Aires. En orden decreciente, siguen las provincias de Santa Fe y Córdoba con 3 millones de habitantes cada una. Aproximadamente el 62% de la población del país ocupa el 22% de su superficie. El 19 % de la población de la provincial de Santa Fe reside en ciudades y áreas rurales localizadas en la cuenca del río Salado.

Por otro lado, la mayor parte de la producción industrial de la región está compuesta de industrias lácteas (38%) y curtiembres junto con industrias manufactureras de cuero (21%) que emplean  $\text{CrSO}_4$  como agente curtiente.

La producción de cuero comenzó en Argentina alrededor de 200 años atrás. En la actualidad, el país se encuentra entre los mayores productores del mundo de cuero y sus derivados, junto con Estados Unidos, Brasil y Rusia, exportando por valor de 1.000 millones de dólares. En Argentina ocurre una importante concentración de producción del cuero en unas pocas fábricas con muy alta producción, del orden de los 5.000-6.000 cueros por día, lo que lo convierte en uno de los principales productores de cuero del mundo. En términos comparativos, en Italia la producción media es de aproximadamente 200-300 cueros por día.

Algunas de las curtiembres más importantes de Argentina, que operan desde 1887, se localizan en la cuenca del río Salado (la curtiembre más importante de la región tiene 1.527 empleados) y representan el 34,63 % del empleo total de la ciudad de Esperanza (Provincia de Santa Fe). Estos datos indican la importancia de las curtiembres en la economía local.

Lejos de valorar a los ecosistemas acuáticos como fuente y mantenimiento de servicios ecosistémicos, en los países subdesarrollados históricamente se los ha considerado como sumideros de todo tipo de sustancias contaminantes, sobrevaluando con frecuencia su capacidad “depuradora” y confiando, eventualmente, en que al llegar al mar los efectos nocivos quedarían neutralizados o al menos atenuados. Sin embargo, este tipo de evaluación puede no ser correcta, tal como advirtieron Moyano y col., en el año 1993. Estos autores estimaron que las curtiembres de Montevideo descargaban unas 660 tn de Cr por año a la cuenca del río Pantanoso. Además indicaron que, siendo el estuario del Río de la Plata poco profundo (aproximadamente igual a 6 m), esta condición favorece el intercambio entre sedimento y agua, siendo frecuentes los procesos de adsorción y desorción. En este caso también los contaminantes tienen un alto tiempo de residencia favorecido por las barreras físicas que retardan el transporte de sedimentos al océano.

Algunos estudios mostraron serios problemas de contaminación por metales pesados en la cuenca del río Salado inferior. A pesar de ser parciales, indicaron claramente la necesidad de extenderlos, profundizarlos y analizar el efecto sobre la biota, originando el estudio que se propone en la presente Tesis.

Tal como se observa en la tabla que se presenta a continuación, la Subsecretaría de Medio Ambiente y Ecología de la provincia de Santa Fe (1998) ha monitoreado metales pesados en la mencionada cuenca encontrando aportes significativos de Cr que superan el valor guía de 20 µg/l para protección de peces y de 2 µg/l para protección de fito y zooplancton (Según nivel guía de calidad de agua para protección de vida acuática, agua dulce superficial, Canadian Environmental Quality Guidelines, 2002).

Fecha	Sitio de muestreo	Cromo (µg/l) (*)
9/6/98	Canal Sur de Rafaela	240
9/6/98	Canal Sur de Rafaela	54,300
9/6/98	Canal Sur de Rafaela	6,200
25/6/98	Arroyo Las Prusianas	26
16/7/98	Canal Norte de Rafaela	150
16/7/98	Canal Sur de Rafaela	110
29/7/98	Canal 1º de Mayo - Esperanza	2,200
29/7/98	Río Salado aguas abajo canal 1º de Mayo	652

(\*) Determinación de Cr en agua, por Espectrometría de Absorción Atómica.

Por otro lado, Ceresoli y Gagneten en el año 2003 efectuaron los siguientes registros:

Sitio de muestreo	Cromo (µg/l) (*)
Arroyo Las Prusianas	29
Canal Sur de Rafaela	89
Canal Sur de Rafaela	215
Canal Sur de Rafaela	25

(\*) Determinación de Cr en agua, por Espectrometría de Absorción Atómica.



Cabe aclarar que dada la importancia que tienen las actividades agrícolas en la región, es posible que la biota acuática también esté afectada por el efecto de pesticidas. Sin embargo, sin desconocer este hecho, y por la relevancia de diversas industrias que utilizan metales pesados en sus procesos productivos, este estudio se focalizó en el análisis de los efectos de los metales pesados (en especial el Cr) sobre el zooplancton de la cuenca del río Salado inferior.

A diferencia de los contaminantes orgánicos, los metales pesados no se degradan ni biológicamente ni químicamente en la naturaleza, a lo sumo pueden reaccionar con otras sustancias presentes en el medio, en algunos casos formando compuestos más tóxicos que los originales. Esta persistencia en el ambiente, y en especial en los cuerpos de agua superficiales, da origen a uno de sus efectos más graves: la *bioacumulación*. Los términos bioconcentración, bioacumulación y biomagnificación se usan indistintamente en la literatura, pero tienen diferentes significados (EPA, 2000):

- Bioconcentración se define como el proceso por el cual se da una acumulación neta de una sustancia directamente desde el agua hacia los organismos acuáticos, resultante de los procesos de incorporación (e.g., a través de las branquias o epitelio intestinal) y de la eliminación.

- Bioacumulación se define como la acumulación de una sustancia en los tejidos de los organismos a través de cualquier vía, incluyendo la respiración, ingestión, o contacto directo con el agua, sedimento, o agua intersticial contaminados.

- Biomagnificación es el resultado de los procesos de bioconcentración y bioacumulación por el cual la concentración del contaminante acumulado en los tejidos, se incrementa a medida que la sustancia pasa a través de dos o más niveles tróficos. El término implica la transferencia efectiva de la sustancia del alimento al consumidor, por lo que la concentración se incrementa de un nivel trófico al siguiente.

Otro concepto importante es el de transferencia trófica. Implica simplemente el movimiento de contaminantes de un nivel trófico (e.g. la presa), al

siguiente (el depredador). La transferencia trófica puede resultar tanto en bioacumulación como en biomagnificación. La capacidad de una sustancia de pasar por la vía trófica puede ser medida en términos del coeficiente de transferencia trófica (TTC), que se determina dividiendo la concentración de un tóxico en los tejidos del depredador por la concentración en el de la presa. Cuando  $TTC > 1$ , ocurre biomagnificación. Si  $TTC < 1$ , indica posible bioacumulación, pero no biomagnificación (EPA, 2000).

A través de este proceso de acumulación progresiva, los organismos ubicados en los niveles tróficos superiores, y frecuentemente el hombre, pueden alcanzar concentraciones de metales en sus tejidos y órganos, muchas veces superiores a los que se encuentran en el agua. Algunos organismos resultan ser muy tolerantes a altas concentraciones de metal, lo que en principio podría resultar beneficioso. Sin embargo, muchos de esos organismos contienen una concentración de metal dos o tres órdenes de magnitud mayor que la normal, que puede transmitirse a organismos no adaptados, incluido el hombre (Bryan, 1976). Carvalho y col., (1999) y Wang y Guo, (2000) demostraron que el Cr se encuentra biodisponible aún estando ligado a coloides acuosos.

En este contexto, es importante señalar que el zooplancton ocupa un papel clave en los ecosistemas acuáticos por alimentarse de microalgas y materia orgánica particulada y por ser, a la vez, el principal alimento de larvas y juveniles de peces (Escalante, 1982, 1983; Rossi, 1989, 1992, 2001). Cabe destacar que para el 90 % de las especies de peces de los ambientes acuáticos continentales de nuestra región, el zooplancton es el alimento único o principal en algún momento de su ontogenia (Oliveros, 1980). Una proporción muy alta del Cr que es liberado al medio acuático se adsorbe a la materia orgánica particulada y a las microalgas, por lo que, al ser consumidas por el zooplancton, esta fracción no se deposita en los sedimentos sino que se incorpora a las tramas tróficas, acelerando de este modo el pasaje a organismos de niveles tróficos superiores. En tales condiciones, los peces y las aves que se alimentan de peces zooplanctófagos, si son ingeridos como alimento, potencialmente pueden ser peligrosos para la salud humana. Tal como afirma Ravera (2001), la cuantificación de elementos tóxicos es muy importante para conocer la incorporación y

transferencia en las redes tróficas y para monitorear los niveles de contaminación de los ambientes acuáticos

La capacidad de bioacumulación de elementos tales como Cd, Pb, Zn, Mn, Fe, Ag, Co, Se y V por moluscos, poliquetos, cirripedios, isópodos, crustáceos decápodos, copépodos y peces ha sido analizada por diversos autores (Winner, 1986; Phillips y Rainbow, 1989 en Phillips, 1994; Wong y col. 2000; Lores y Pennock, 1999; Wang y Fisher, 1999; Connel y Sanders, 1999; Fisher y col., 2000, entre otros). La bioacumulación de Cr ha recibido menos atención, habiendo sido demostrada fundamentalmente en algunas especies marinas como la estrella de mar (Sadiq y col., 1996), en cirripedios (Wang y col., 1999), en camarones (Song y Breslin, 1999) y en bivalvos dulceacuícolas y marinos (Avery y col., 1996; Lee y Luoma, 1998; Giusti y col., 1999; Roditi y Fisher, 1999; Wang y Guo, 2000). A nivel de comunidades acuáticas se ha estudiado el efecto del Cd, Cu y Hg sobre el fito y zooplancton (Kerrison y col., 1988), del Cr en la comunidad bentónica (Leslie y col., 1999), y del Al, Ar, Hg, Ag y Se en ensamblajes de invertebrados (Nelson y col., 2000). La bioacumulación de Cr es analizada con menos frecuencia que la de otros metales. Específicamente, se han comunicado valores de  $2,07 \pm 0,86$  mg/kg en moluscos de costas francesas (Chiffolleau y Bonneau, 1994 en Giusti, 1999; de 7,2 mg/kg (Bryan 1985, en Giusti, 1999) en costas inglesas, y hasta de 317 mg/kg en Irlanda (Gault y col., 1983 en Giusti, 1999).

Gran parte del conocimiento de la bioacumulación por moluscos puede ser útil a la hora de entender este proceso en el zooplancton, habida cuenta de que la mayoría de sus componentes poseen un mecanismo de alimentación similar al de moluscos, e. g., son filtradores de materia orgánica. El zooplancton juega un rol clave en el proceso de transferencia de metales pesados desde los productores primarios hacia niveles tróficos superiores, pudiendo participar en el proceso de biomagnificación (Loyaux-Lawniczak y col., 2000; Beek y col., 2007). Sin embargo es muy escasa la información sobre la acumulación y transferencia de Cr en especies de agua dulce (Días Correa y col., 2005; Ip y col., 2005).

La capacidad de bioacumulación del zooplancton ha sido analizada por Paterson y col., (1998) respecto al mercurio y metilmercurio. Tanto el fito como el zooplancton asimilan rápidamente los metales disponibles debido a su alta relación superficie/volumen, por lo que cabría esperar que su tasa de bioacumulación sea alta y que el fenómeno sea frecuente en ambas comunidades. El mayor inconveniente para realizar estudios de acumulación en organismos planctónicos reside en su pequeño tamaño, por la elevada biomasa que requieren los métodos tradicionalmente aplicados, tales como la determinación por espectrofotometría de absorción atómica.

Esta dificultad puede ser superada por el empleo del Análisis por Activación Neutrónica Instrumental (AANI), que en organismos planctónicos fue utilizado por Campanella y col., (1999) quienes analizaron elementos traza en fitoplancton y por Mosulishvili y col., (2004) quienes utilizaron Análisis por Activación Neutrónica Epitermal para investigar la acumulación de mercurio por *Spirulina platensis*. Los autores mostraron que esta especie tiene potencial para ser utilizada en remediación de aguas contaminadas a concentraciones de Hg ~100 µg/l. En nuestro país, el AANI se ha empleado entre otros, para determinar contaminación atmosférica en la provincia de Córdoba y Buenos Aires (Jasan y col., 2004 y 2007; Pignata y col., 2007; Wannaz y col., 2008).

Sin embargo, esta técnica aún no ha sido utilizada para investigar la acumulación de Cr en microcrustáceos.

A nivel regional se han realizado estudios de contaminación con Cr comparando su efecto sobre el zooplancton y el zoobentos en mesocosmos (Gagneten, 2002). Por otra parte, Ceresoli y Gagneten, (2003) y Gagneten y Ceresoli, (2004) analizaron el efecto del efluente de la industria de curtiembre sobre poblaciones experimentales de *Ceriodaphnia dubia* en microcosmos y en la densidad zooplanctónica en estudios a campo en el arroyo Las Prusianas, estudio posterior al efectuado por la Subsecretaría de Medio Ambiente antes mencionado. También se analizaron los efectos letales y subletales del Cr en oligoquetos y anfípodos en condiciones de laboratorio, encontrando valores de CE50 de 2,96 mg/l (72 h), de 1,52 mg/l (96 h) para *Limnodrilus udekemianus* y de 0,15 mg/l (72

h) y 0,12 mg/l (96 h) para *Hyaella curvispina* (Ulloa Campos y Marchese, inédito). En un estudio más reciente (Marchese y col., 2008) se analizó simultáneamente la acumulación de Cr en organismos de distinto nivel trófico, encontrando que el orden decreciente de acumulación fue macrófitas > oligoquetos > crustáceos decápodos > peces.

La capacidad de acumulación de metales pesados por diferentes especies de macrófitas de importancia regional en estudios de fitoremediación, fue analizada por Maine y col. (2004, 2005, 2006 y 2007), Suñe y col., (2007) y por Hadad y col. (2007). Estos autores utilizaron humedales artificiales con el propósito de depurar efluentes industriales ricos en Cr, Zn y Ni. Encontraron que la desaparición de macrófitas estuvo relacionada con la toxicidad de los metales pesados además de otros factores que actuaron negativamente, tales como la presencia de sulfuro y el elevado pH y conductividad. Además, se registró que el Cr fue removido más rápidamente que el Zn y el Ni. Mientras que estos dos últimos metales fueron principalmente absorbidos por la biomasa vegetal, el Cr también se retuvo en la fracción de detritos. Experiencias exitosas de biocumulación de Cr(VI) también se realizaron con microalgas (Baran y col., 2005, entre otros).

Otro aspecto de relevancia a considerar en estudios de contaminación de ecosistemas acuáticos es el efecto que tiene en atributos de las comunidades bióticas tales como la riqueza específica, la diversidad y la equitatividad. En este sentido, los cambios en la composición de especies de organismos pequeños, de reproducción rápida y gran capacidad de dispersión, tales como los organismos planctónicos, han sido considerados entre los de respuesta más rápidas a la perturbación antropogénica (Schindler, 1987) debido a que son muy sensibles a los cambios en las condiciones ambientales. Sin embargo, los estudios que vinculan diversas causas de contaminación por metales pesados con cambios en atributos de la comunidad de organismos planctónicos fueron desarrollados en su mayoría en países del hemisferio norte, siendo escasos los conocimientos que se poseen acerca de esta problemática a nivel nacional, regional y local.

A nivel de individuo, ha sido demostrado que el Cr produce anomalías físicas en *Hydropsyche pellucidula* (Leslie y col., 1999). Este tipo de trastornos han sido observados por Gagneten y Marchese (2003) al analizar la influencia del herbicida Paraquat en el zooplancton, particularmente en cladóceros y por Dias (1999) en copépodos. Si se dispusiera de mayor grado de conocimiento del efecto de los metales pesados sobre organismos zooplanctónicos, algunas especies podrían ser utilizadas como indicadoras de contaminación.

A pesar de que la cuenca del río Salado inferior es un área densamente poblada, hasta el presente no se ha realizado un estudio integrado de la contaminación del agua, sedimentos y zooplancton.

Por lo expuesto, se consideró de fundamental importancia analizar en primer lugar, si el zooplancton de los cursos de agua superficial cercanos a las ciudades de Esperanza y Rafaela muestra atributos diferentes al zooplancton de sitios de referencia no enriquecidos con metales pesados. En segundo lugar, se plantea la necesidad de conocer si este importante eslabón de las tramas tróficas acuáticas bioacumulan metales pesados en sus tejidos, y en caso de hacerlo, qué grupo entre los microcrustáceos que componen esta comunidad, lo hace en mayor medida.

La concentración de contaminantes en los organismos es considerada un buen indicador de la biodisponibilidad de esos elementos en el ambiente. En tal sentido, para entender la bioacumulación de metales pesados y su toxicidad, resulta relevante cuantificar su incorporación en invertebrados dulceacuícolas, a fin de establecer apropiadas acciones de manejo. Los organismos zooplanctónicos han mostrado ser muy apropiados para los estudios que se discuten, porque poseen ciclos de vida cortos y por su gran capacidad para acumular distintos contaminantes. Entre ellos, la mayor parte de la investigación se ha realizado con cladóceros, aunque la acumulación de metales pesados en muestras multiespecíficas de copépodos ha sido investigada por algunos autores (Zauke y col., 1996; Wang y Fisher, 1998 y 1999; Bielmyer y col., 2006). Se realizaron trabajos de laboratorio o de campo con Cu, Zn, Cd, Co, Ni y Pb

(Verriopoulos y Moraitou-Apostolopoulou, 1982; Sunda y col., 1990; Kahle y Zauke 2002 a,b, 2003; Das y Das, 2005; Fernández Severini y col., 2006). Pocos estudios analizan el efecto del Cr(VI) en copépodos (Hutchinson y col., 1994; Miliou y col., 2000), pero la acumulación de Cr en copépodos de agua dulce no se ha investigado, a pesar de que este metal es una parte importante del efluente de varios procesos industriales.

Además, se han realizado algunos bioensayos de toxicidad con copépodos para evaluar los efectos de sedimentos contaminados (Kovatch y col., 1999; Turesson y col., 2007; Eka y col., 2007), pero no se consideró la importancia de la fase disuelta. Sin embargo este aspecto sería de gran importancia al considerar la toxicidad para organismos planctónicos, como los copépodos calanoideos, tal como fue demostrado por Wang y Fisher (1999) que investigaron el destino de varios metales (Ag, Cd, Co, Se, Zn) en invertebrados marinos. Los autores mencionados concluyeron que en los organismos que se alimentan de partículas en suspensión como los copépodos, la acumulación por la vía de la fase disuelta es tan importante como la vía trófica.

En este trabajo se estudió la capacidad de concentración de Cr desde el agua por el copépodo calanoideo dulceacuícola *Argyrodiaptomus falcifer* (Daday, 1905), un componente típico del zooplancton regional. Se determinó el F.B.C para evaluar su potencial como biomonitor y se lo comparó con los datos obtenidos para *Daphnia magna* Straus bajo idénticas condiciones.

**Nota:** En el plan de Tesis y en relación con los muestreos de campo, inicialmente se planteó sólo la determinación del Cr en agua y sedimentos de fondo. Sin embargo, se analizó también la concentración de Cu, Pb y Cd a los fines de tener una caracterización más completa del grado de contaminación por metales pesados de la cuenca del río Salado inferior.

**OBJETIVOS**

(a) Determinar el grado de contaminación por metales pesados (Cr, Cu, Pb y Cd) en agua y sedimentos superficiales de la cuenca del río Salado inferior y compararlo con los registrados en un sitio no contaminado de referencia perteneciente al mismo río y con estándares nacionales e internacionales.

(b) Obtener valores de referencia que permitan evaluar futuros cambios producidos en el nivel de contaminación.

(c) Estudiar los principales atributos del zooplancton de cursos de agua pertenecientes a la cuenca del río Salado inferior y relacionarlos con las concentraciones de metales pesados en agua y sedimentos de fondo previamente registradas, en base al análisis de la biomasa, densidad total, densidad por grupo taxonómico (Copepoda, Cladocera y Rotifera), densidad de micro y mesozooplancton, riqueza de especies (S), equitatividad (E) y diversidad de especies (H).

(d) Evaluar comparativamente la capacidad de acumulación de Cr en especies seleccionadas de cladóceros y copépodos de agua dulce.



## HIPOTESIS

Las hipótesis que se plantearon pueden expresarse formalmente como sigue:

**Hipótesis 1:** En los sitios con mayor impacto antrópico (Arroyo Las Prusianas, río Salado en Manucho, y Canales Norte y Sur de la ciudad de Rafaela) los niveles de metales pesados son mayores a los del sitio de referencia (río Salado en San Justo).

**Hipótesis 2:** La biomasa, densidad total, densidad por grupo taxonómico (Copepoda, Cladocera y Rotifera), densidad de micro y mesozooplancton, riqueza de especies (S), equitatividad (E) y diversidad de especies (H) del zooplancton en las áreas contaminadas con metales son menores que la del sitio tomado como referencia.

**Hipótesis 3:** Algunas especies de microcrustáceos del zooplancton actúan concentrando Cr en sus tejidos con respecto a los valores de Cr en el agua, por lo que podrían ser consideradas activas acumuladoras del metal.

**Hipótesis 4:** De los dos grupos de microcrustáceos que integran la comunidad zooplanctónica, los copépodos son más activos bioacumuladores de Cr que los cladóceros.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

**Contexto ambiental –**

**Muestreo de zooplancton y análisis taxonómico –**

**Bioensayos de acumulación de Cr –**

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Contexto ambiental

#### 4.1.1. Área de estudio

El río Salado, con 2.010 km, se origina en la provincia de Salta, y atraviesa la provincia de Santiago del Estero hacia la provincia de Santa Fe, donde desemboca en el río Paraná. La cuenca del río Salado cubre 247.000 km<sup>2</sup> y junto con el río Paraguay constituye la principal subcuenca del río Paraná (Manzi y Gallardo, 1970).

A su vez, la cuenca inferior del río Salado recibe los aportes de la subcuenca del río Calchaquí por su margen izquierda, mientras que en su margen derecha recibe los aportes del Canal Principal N° 4, de los arroyos Las Conchas y San Antonio y especialmente de la subcuenca del arroyo Cululú, siendo este último, a diferencia de los anteriormente citados, un afluente que recibe gran cantidad y variedad de contaminantes que sus distintos tributarios le aportarían.

En la subcuenca del arroyo Cululú (Figura 1) se encuentran importantes asentamientos urbanos (Rafaela y Esperanza, entre otras). En el área mencionada (y en gran parte debido a la creciente demanda mundial de alimentos) ha aumentado la superficie destinada a cultivos y a ganadería. Por otro lado, allí se concentra la casi totalidad de las industrias lácteas instaladas en la provincia y gran parte de las industrias derivadas de la actividad agrícola-ganadera (frigoríficas, alimenticias, curtiembres, etc.), cuyos efluentes líquidos son vertidos en canales, cañadas y arroyos de la zona siendo su destino final el arroyo Cululú y consecuentemente el río Salado.

El arroyo Las Prusianas es el principal afluente del arroyo Cululú y el que más contaminantes aportaría ya que acarrea efluentes cloacales e industriales que llegan a su cauce a través de los canales Norte y Sur de la ciudad de Rafaela. El canal norte se continúa en la Cañada de Felicia y transporta efluentes

de industrias frigoríficas, lácteas y metalúrgicas, mientras que el canal Sur desemboca en el arroyo las Prusianas y transporta efluentes cloacales y de industrias lácteas, metalúrgicas y de curtiembres al tanino y al cromo. El caudal promedio anual en Las Prusianas oscila entre 2.103 – 4.188 m<sup>3</sup>/h; en el canal Sur de 88 m<sup>3</sup>/h a 1.230 m<sup>3</sup>/h; en canal Norte el caudal fue estimado en 100 m<sup>3</sup>/h y en el río Salado en Manucho fue de 600-1800 m<sup>3</sup>/h (Subsecretaría de Medio Ambiente y Ecología, 1998), aunque en ocasiones puede alcanzar 60.000-72.000 m<sup>3</sup>/h (Maglianesi y Depetris, 1970).

Además de la carga contaminante que ingresa al río Salado en su tramo inferior a través del arroyo Cululú, se produce un aporte importante de contaminantes provenientes de la ciudad de Esperanza a través del canal 1° de Mayo, el cual transporta la mayor parte de los efluentes industriales de Esperanza y las descargas de camiones atmosféricos (Informe Subsecretaría de Medio Ambiente y Ecología, 1998). Es importante destacar que en el año 2003, cuando ocurrió una creciente extraordinaria, el caudal máximo del río Salado fue de entre 3.600 - 4000 m<sup>3</sup>/seg con un crecimiento de 900 m<sup>3</sup>/seg por día en promedio en tres días consecutivos, según informes técnicos de la Facultad de Ciencias Hídricas, Universidad Nacional del Litoral (Ferreira, 2003; Giampieri y col., 2003).

Es así que la utilización de los cursos de agua superficiales como medio de transporte para evacuar líquidos residuales urbanos e industriales es, lamentablemente, la aplicación más difundida y generalizada para todos los cursos de aguas superficiales de la cuenca del río Salado inferior y en especial para los que integran la subcuenca del arroyo Cululú.

Sin embargo, en los últimos años se ha impuesto el concepto de "uso múltiple del agua", según el cual la utilización de una masa de agua para un propósito dado no debe perjudicar los otros usos posibles, entre los que figuran la preservación de la vida acuática y las actividades recreativas (Branco, 1984; Newbold y Colmes, 1986; Fontaine y Lesht, 1987, en Tortorelli y Hernández, 1995).

Los niveles de Cr total en el agua natural suelen ser de 10 µg/l o menos, rara vez exceden los 25 µg/l, excepto en situaciones en que la contaminación es alta. En el presente estudio se han adoptado, como criterio base para evaluar la calidad de las aguas de la cuenca, los límites establecidos para preservar la vida acuática (CEPA, 2003) y los establecidos por la Subsecretaría Recursos Hídricos de la Nación (<http://www.hidricosargentina.gov.ar>).

Respecto a las características edafológicas de la cuenca, el tipo de suelo que predomina es el limo-arcilloso de pradera, que se enriquecen en superficie con materia orgánica (30- 40 cm de capa superficial). También es común en la región una capa inferior, compuesta por arenas de cuarzo de origen fluvial. Por debajo de la capa descrita, existe un paquete sedimentario de limos marrones con concreciones calcáreas (I.N.C.Y.T.H., 1986).

#### **4.1.2 Sitios de muestreo**

Se determinaron un total de 6 sitio de muestreo: 5 sitios considerados inicialmente en riesgo de contaminación, y un sitio de referencia (Fig. 1): río Salado en Manucho, aguas debajo de la ciudad de Esperanza (MSR, 31° 22' S; 60° 53' O), dos en el arroyo Las Prusianas (LP1 y LP2 31° 15' S; 61° 29' O y 31° 22' S; 61° 08' O), y en dos canales: Canal Norte (NCH, 31° 12' S; 61° 27' O) y Canal Sur (SCH, 31° 20' S; 61° 24' O). El sitio de referencia fue el río Salado a la altura de la localidad de San Justo (SJSR, 31° 15' S; 60° 53' O) y se encuentra localizado 153 km al norte de la desembocadura del arroyo Las Prusianas, siguiendo el curso del río.

Contexto ambiental

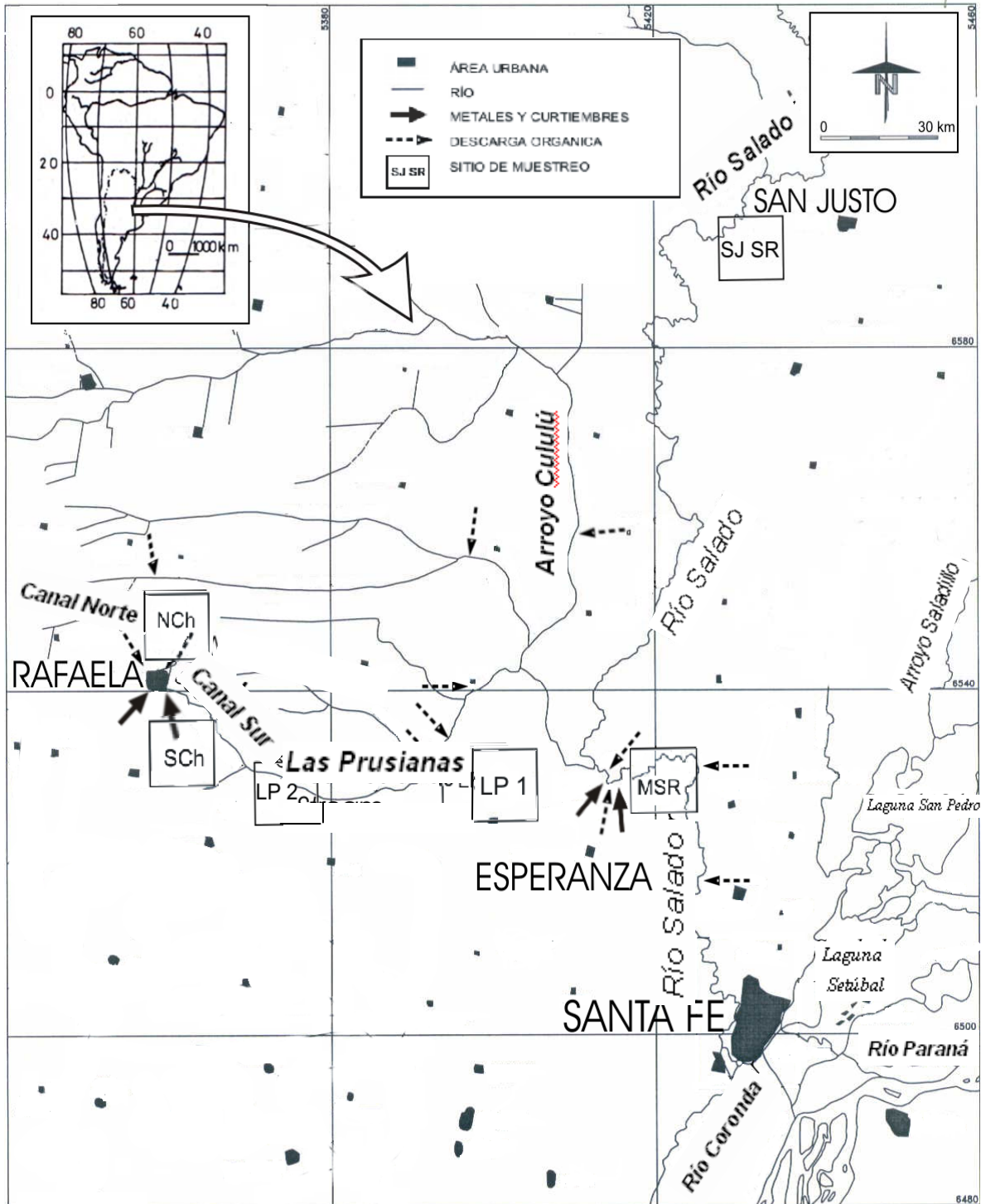


Figura 1: Mapa de la cuenca del Río Salado mostrando la localización de los sitios de muestreo.

### 4.1.3. Determinación de parámetros ambientales

Tanto el registro de parámetros ambientales como la extracción de muestras de zooplancton fueron realizados con una periodicidad estacional durante el año 2002: en los meses de Mayo, Julio, Noviembre 2002 y Marzo-Abril 2003, correspondientes a otoño, invierno, primavera y verano respectivamente. En verano, la creciente extraordinaria antes mencionada impidió la toma de muestras en el río Salado a la altura de la localidad de San Justo.

Los parámetros ambientales medidos en agua fueron: Temperatura (°C); profundidad (m); turbidez (NTU); sólidos totales (mg/l); pH; salinidad (%); transparencia (disco de Secchi, cm); conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ); dureza total (mg/l  $\text{CaCO}_3$ ); oxígeno disuelto (mg/l  $\text{O}_2$ ); demanda química de oxígeno (mg/l  $\text{O}_2$ ); nitratos, (mg/l  $\text{NO}_3^-$ ); nitritos (mg/l  $\text{NO}_2^-$ ) y fosfatos (mg/l  $\text{PO}_4^{3-}$ ). La elección de los parámetros físicos y químicos analizados se basó en que las especies químicas de los metales pesados varían en proporción a la cantidad de materia orgánica, al pH y a la dureza del agua (Sylva, 1975; Bryan, 1976; Havas y Hutchinson, 1982; Moriarty, 1985; Fleming y Trevors, 1989; Xue y Sigg, 1993; Sigg y Xue, 1994; Xue y col., 1995 a y b; Zou y Bu, 1994; Filella y col., 1995; Luoma, 1996; Balasubramanian y col., 1999).

#### 4.1.3.1. Toma y procesamiento de las muestras

##### ***Muestras de agua***

Para la determinación de los metales pesados (Cr, Cr(VI), Cu, Pb y Cd) se tomaron 23 muestras de agua, aproximadamente 10 cm debajo de la superficie, utilizando botellas plásticas previamente lavadas con  $\text{HNO}_3$  (10% v/v) y luego enjuagadas con agua deionizada. Las botellas fueron enjuagadas dos veces con agua de río antes de ser llenadas.

Las muestras de agua para determinar dureza, carbono orgánico disuelto (DOC),  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{P}_3\text{O}_4$ , y sólidos totales fueron colectadas en botellas de vidrio, lavadas mediante agua deionizada y enjuagadas dos veces con agua de río

previo a su llenado. Las muestras se guardaron refrigeradas 24 h a 4°C hasta su análisis.

Las mediciones de campo, incluyendo temperatura del agua, pH, conductividad, oxígeno disuelto y turbiedad se realizaron utilizando un equipo portátil multiparámetro Horiba U.10.

### ***Muestras de sedimentos***

Se tomó un total de 23 muestras de sedimentos de superficie mediante una draga manual tipo "mud-snupper" con una superficie efectiva de extracción de 100 cm<sup>2</sup> y se colocaron en recipientes plásticos. Las muestras fueron secadas en estufa a 105°C durante 48 h, y enfriadas a temperatura ambiente (25°C), mezcladas en mortero y almacenadas en un ambiente libre de humedad.

#### **4.1.3.2. Análisis químicos y fisicoquímicos en agua y sedimentos**

##### ***Determinación de la concentración de metales en agua***

La concentración de metales en el agua de río se determinó de acuerdo a Martin et. al., en EPA, (1994).

Se tomó una muestra replicada de agua en cada sitio, que fue acidificada con ácido nítrico (pH < 2). Para la determinación de metales totales recuperables una alícuota de 100 ml fue transferida de cada muestra homogeneizada y preservada en medio ácido en un erlenmeyer de 250 ml. Se agregaron 2 ml de ácido nítrico y 1 ml de ácido clorhídrico. Los erlenmeyers se colocaron sobre plancha calefactora a 85°C para evaporación. El volumen de las muestras se redujo aproximadamente a 20 ml. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente; las soluciones fueron transferidas cuantitativamente a recipientes de 50 ml para completar el volumen de agua de análisis y se mezcló cuidadosamente.

##### ***Determinación de dureza del agua, demanda química de oxígeno (DQO), carbono orgánico disuelto (COD), NO<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, y sólidos totales (ST)***

Estos parámetros fueron medidos en el agua de los sitios de muestreo según Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters 20<sup>th</sup> Ed.



(Environmental Protection Agency, 1999) y Creed y col., en Environmental Protection Agency (1994).

**Dureza:** Los iones de Ca y Mg de las muestras fueron titulados luego del agregado de sodio etilendiamina tetraacetato (Na EDTA). El punto final de reacción se detecta mediante el indicador Eriochrome Black T, que da un color rojo en presencia de calcio y magnesio y azul cuando se secuestran los cationes.

**COD:** Las muestras, los blancos y los estándares fueron colocados en tubos en presencia de dicromato y calentados en estufa a 150°C. Luego de dos horas los tubos se enfriaron y se midió el COD por espectrofotometría a 600 nm.

**Nitritos:** En el método empleado, los compuestos de diazonio formados por diasociación de sulfanilamida y por nitrito en agua bajo condiciones ácidas, fueron acoplados con N-(1-naphthyl) etilendiamina dihidroclorhídrico para producir un color púrpura rojizo, cuya absorbancia fue medida en un espectrofotómetro a 540 nm.

**Nitratos:** El método empleado para esta determinación se basa en la reacción del ión nitrito con sulfato de brucina en una solución de  $\text{NH}_2\text{SO}_4$  a una temperatura de 100°C. El color de los complejos resultantes fue medido a 410 nm.

**Fosfatos:** La muestra se agitó en presencia de ácido sulfúrico,  $\text{K}_2\text{SO}_4$  y  $\text{HgSO}_4$  durante dos horas y media. El residuo fue enfriado, diluido a 25 ml y llevado a un Autoanalizador para el posterior análisis colorimétrico (fotométricamente a 880 nm).

**ST:** Las muestras fueron mezcladas y secadas hasta peso constante a 103-105°C y pesados en una balanza.

### ***Determinación de la concentración de metales en sedimentos***

Para la determinación de analitos recuperables en sedimentos, la muestra fue mezclada completamente y se transfirió una pequeña porción (>20 g) a un disco tarado, se pesó la muestra y se registró el peso húmedo. Las muestras fueron secadas hasta peso constante a 60°C y se registró el peso seco para calcular el porcentaje de sólidos. Para lograr homogeneidad, las muestras secas fueron tamizadas usando un filtro de polietileno y molidas en un mortero.

A partir del material seco se pesaron alícuotas representativas de  $1,0 \pm 0,01$  g de cada muestra y se transfirieron a vasos de precipitado de 250 ml para la extracción ácida; se agregaron 4 ml de  $\text{HNO}_3$  y 10 ml de HCl. Los vasos de precipitado se cubrieron con vidrios de reloj. Fueron colocados en plancha calefactora para la extracción de los analitos. Las muestras se calentaron y agitaron suavemente durante 30 minutos. Luego se dejaron enfriar y se transfirió el extracto a un frasco de 100 ml. Se diluyó el volumen con agua de calidad analítica y se mezcló.

#### 4.1.3.3. Instrumental y determinaciones

La concentración de los metales se midieron de acuerdo a Creed y col., en Environmental Protection Agency, (1994) con un espectrofotómetro de absorción atómica marca Perkin Elmer (modelo PE 5000) equipado con horno de grafito, usando técnicas estandarizadas para la calibración. Los límites de detección para metales pesados en agua fueron  $>1$ ;  $>4$ ;  $>3$  y  $>0,5$   $\mu\text{g/l}$  para Cr, Pb, Cu y Cd respectivamente.

La totalidad del material utilizado fue lavado con ácido para el análisis de metales. Se emplearon reactivos de calidad analítica certificados. Se realizaron blancos para todos los análisis. La calibración de los blancos fue controlada al comienzo y final de los análisis para cada grupo de muestras de cada metal para comprobar el posible nivel de variación en la calibración del instrumental.

Se realizaron determinaciones colorimétricas con un espectrofotómetro UV-visible marca Perkin Elmer (modelo Lambda 40) para Cr (VI) en agua y sedimentos. La determinación de las muestras de sedimentos se realizaron según EPA "Method 3060" "Alkaline Digestión for Hexavalent Chromium" y en las muestras de agua según "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 20th Edition. Se utilizó un espectrofotómetro de Ultravioleta Visible marca Perkin Elmer, modelo lambda 40. La precisión operacional de los métodos analíticos fue  $1 \mu\text{g/l}$ .

#### 4.1.3.3.1. Composición y granulometría del sedimento

La materia orgánica fue determinada por ignición. La composición granulométrica, el contenido de materia orgánica y de carbono orgánico se analizaron siguiendo la metodología descrita por Bertoldi de Pomar, (1976). Las fracciones granulométricas se determinaron según la escala de Wentworth (Wentworth 1933, 1935). Los sedimentos fueron tratados con peróxido de hidrógeno y pesados usando una electrobalanza marca Mettler. Los resultados se presentan como % del peso total de arena, arcilla y limo.

#### 4.1.3.4. Análisis numérico y estadístico de datos químicos y fisicoquímicos en agua y sedimentos

Se aplicó Análisis de la Varianza (ANOVA) de una vía para determinar posibles diferencias significativas entre la concentración de metales pesados de los sitios perturbados y el de referencia. Para el análisis se agruparon los valores estacionales. El mismo tipo de análisis se utilizó para determinar posibles diferencias significativas en la concentración de metal en agua y sedimentos entre estaciones. En este caso, se agruparon los valores de los sitios de muestreo.

Para determinar las semejanzas y diferencias entre las áreas en estudio, se realizó un análisis jerárquico (distancia euclidiana, método UPGMA siguiendo a Sokal y Sneath, 1963) para estudiar los sitios según la concentración de metales en sedimentos y agua.

#### 4.1.3.5. Determinación del Índice de Geoacumulación (*Igeo*)

El Índice de Geoacumulación (*Igeo*) fue introducido por Müller, (1981) y aplicado por otros autores a diferentes casos, como medida de la contaminación por metales en sedimentos (Salomons y Förstner, 1984; Jordão y col., 2002; Muniz y col., 2004). Müller determinó el grado de polución ambiental estableciendo niveles, basados en los valores numéricos del Índice de Geoacumulación (*Igeo*).  $Igeo = \log_2 CN/1,5 BN$ , donde CN es la concentración medida del elemento en el sedimento o fracción de tamaño, y BN es el contenido

del elemento en el sedimento promedio, ya sea medido directamente en fracciones de sedimento no contaminado de tamaño y textura equivalentes, o tomado de la literatura. El factor 1,5 fue introducido para incluir posibles diferencias en los valores históricos debidos a variaciones del suelo (Muniz y col., 2004). Es decir, se trata de una medida de la concentración de un metal en el sedimento en la cual descarta la posible influencia del "background", por lo tanto se constituye en una evaluación del grado de contaminación debida al mencionado metal.

El Índice de Geoacumulación establece niveles que incluyen desde ambientes "no contaminados" a "muy seriamente contaminados": Los valores del índice  $<0$ , 1-2, 3-4 y  $>5$  se interpretan como "No contaminado", "Moderadamente contaminado", "Altamente contaminado" y "Muy seriamente contaminado", respectivamente (Muniz y col., 2004).

En este trabajo, los valores de referencia para Cr, Pb, Cu y Cd en sedimentos se establecieron en base a datos del Laboratorio de Química Geológica y Edafológica (LAQUIGE, Buenos Aires) e Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP, Mar del Plata) sobre 24 muestras de sedimentos tomadas de cursos de agua pertenecientes a la cuenca del río

Paraná, que incluye al río Salado. Estas muestras fueron tomadas en el canal principal y canales secundarios del río Paraná durante 1994 y 1996, entre 0,5 - 5 km aguas arriba de la desembocadura del río Salado. Con este grupo de datos para los valores de referencia, y los datos de concentración de metales pesados registrados en esta tesis, se calculó el *Igeo* para todos los sitios de estudio.

## 4.2. Toma y procesamiento de las muestras de zooplancton

### 4.2.1. Puesta a punto de la metodología de muestreo

Dada la complejidad y especificidad del trabajo con zooplancton, con anterioridad al desarrollo de los muestreos sistemáticos, se contempló el desarrollo de una etapa previa en la que se verificó la existencia y buen estado de los materiales necesarios. También se construyeron los muestreadores a emplear y se puso a prueba su eficiencia en campo. Se realizó una prueba de los análisis químicos arriba mencionados, para poner a punto la metodología de laboratorio, con excepción de los correspondientes a espectrometría de absorción atómica.

Dada la talla extremadamente reducida de los organismos del zooplancton (entre 30 y 1500  $\mu\text{m}$ ), frecuentemente surgen dificultades metodológicas vinculadas fundamentalmente a la determinación taxonómica de rotíferos, cladóceros y copépodos. En este sentido, dentro de la etapa de puesta a punto de la metodología, se realizó un análisis cuali-cuantitativo de reconocimiento de las especies zooplanctónicas presentes en el sistema, para lo cual se contó con el asesoramiento de especialistas en cada grupo.

### 4.2.1. Muestreo de zooplancton y análisis taxonómico

Los muestreos de zooplancton, así como los de agua y sedimentos, se realizaron en forma simultánea.

En cada sitio se tomaron cinco muestras (réplicas) de zooplancton con una trampa de Schindler-Patalas de 20 l provista de malla de 45  $\mu\text{m}$ , que fueron fijadas con formol y coloreadas con eritrosina en campo.

Los recuentos de la fracción animal de la comunidad planctónica se llevaron a cabo en base a alícuotas extraídas de la muestra previamente homogeneizada por agitación y burbujeo -modificación del método propuesto por McCallum (1976)-. Las alícuotas fueron extraídas con una pipeta de no menos de

**Muestreo de zooplancton y análisis taxonómico**

4 mm de abertura para no dañar los ejemplares (Edmondson y Winberg, 1971). El número de alícuotas a analizar dependió del que fuera necesario para alcanzar un nivel de abundancia de no menos de 100 individuos de la especie dominante (Prepas 1984), aunque siempre se contó un mínimo de 5 alícuotas. Cuando fue necesario por la escasez de ejemplares, las muestras fueron contadas en su totalidad.

El análisis cuali-cuantitativo de las muestras se realizó mediante el conteo de los organismos con microscopio binocular, en cámara de Bogorov de 5 cm<sup>3</sup> para "mesozooplancton" (copépodos adultos y cladóceros) con lupa estereoscópica y de Segdwick-Rafter de 1 cm<sup>3</sup> para "microzooplancton" (rotíferos y larvas nauplio de copépodos). En cada réplica se analizaron 5 alícuotas de 5 ml para "mesozooplancton" y 5 alícuotas de 1 ml para "microzooplancton".

En base a un número de cinco alícuotas por muestra, el conteo de las 120 muestras que fueron analizadas arroja un número de 600 recuentos para "mesozooplancton" y de 600 recuentos para "microzooplancton", es decir, implicó el análisis de 1.200 recuentos totales.

Para la identificación de rotíferos lorigados se realizó la observación de los ejemplares bajo microscopio óptico. En los casos en que las determinaciones taxonómicas así lo requirieron, se observó con grandes aumentos el trophi, estructura quitinosa interna que se obtiene luego de aplicar hipoclorito de sodio al ejemplar, para destruir el material blando (Pennak, 1989; José de Paggi, 1995).

Para la determinación taxonómica de Copépodos los organismos se colocaron en una gota de glicerina de concentración progresiva. En primer lugar se observó y midió, sobre el animal entero sin comprimir: largo total, largo relativo del cefalotórax y el abdomen, posición y número de los sacos ovígeros, ornamentación del segmento genital, quetotaxia (dientes, espinas, etc.), tipos de setas y espinas en los distintos apéndices, implantación de las setas furcales y, en el caso de los Harpacticoidea, forma del rostro. En segundo lugar se realizó la disección del organismo utilizando agujas entomológicas afiladas muy finas (000-0000) bajo microscopio estereoscópico y se procedió a separar las estructuras con valor taxonómico: antenas, los cinco pares de patas, el abdomen con el

## Muestreo de zooplancton y análisis taxonómico

segmento genital y las setas furcales. Todas estas estructuras se colocaron de forma ordenada en un portaobjetos sellado, para luego analizarlas en detalle bajo el microscopio óptico.

Para la determinación taxonómica de los Cladóceros, cuando fue necesario también se realizó la disección del ejemplar bajo microscopio estereoscópico y la observación de las estructuras con valor taxonómico bajo microscopio óptico (Paggi, 1995).

Dado que los ambientes acuáticos estudiados son de escasa profundidad, además de las especies típicamente planctónicas (*Daphnidae*, *Asplanchnidae*, copépodos calanoideos) suelen ocurrir especies que no pertenecen al plancton en sentido estricto, sino que son de hábitos litorales y bentónicos (*Macrothricidae*, *Chydoridae*, copépodos ciclópodos, rotíferos bdelloideos), pero que por su importancia no pueden dejar de considerarse, siendo entonces más complejo el análisis de la fracción animal del plancton.

Como se podrá observar a través de las listas de organismos, la separación en "microzooplancton" y "mesozooplancton" puede resultar algo arbitraria y no coincidir exactamente con las mismas categorías utilizadas en trabajos referidos al zooplancton del Hemisferio Norte. Sin embargo resulta un reflejo más ajustado a la naturaleza del zooplancton de la región Neotropical, que en general no posee especies de gran tamaño como dominantes de la comunidad zooplanctónica; particularmente se destaca la escasez o ausencia de grandes ejemplares de *Daphnia* (Fernando y col., 1987)

La identificación taxonómica se llevó a cabo con microscopio óptico y uso de claves específicas (Ringuelet, 1958; Reid, 1985; José de Paggi, 1995 y Paggi, 1995, entre otros). Los organismos fueron identificados a nivel de especie salvo algunas excepciones. En algunos rotíferos las determinaciones se efectuaron a nivel de género debido a las dificultades de reconocimiento por la escasez de material o por el estado de contracción de los ejemplares (e.g. *Asplanchna*; *Cephalodella*; *Epiphanes*; *Synchaeta* y *Bdelloidea*).

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

El análisis de las muestras estuvo destinado a la evaluación de la composición de la fracción animal de la comunidad planctónica y a la de sus atributos más representativos tales como: abundancias absolutas y relativas de las poblaciones correspondientes a los taxones identificados, y la diversidad específica incluyendo sus componentes de riqueza y equitatividad.

Las abundancias fueron calculadas como densidad y como biomasa y expresadas en individuos por litro y microgramos de peso seco por litro, respectivamente. Estas estimaciones fueron llevadas a cabo para cada especie y para cada grupo de mayor nivel (Rotíferos, Cladóceros, Copépodos; microzooplancton, mesozoplancton). La biomasa de los microcrustáceos fue evaluada aplicando las ecuaciones de regresión propuestas por diferentes autores y compiladas por McCaulley (1984). La biomasa de los Rotíferos fue estimada utilizando una técnica indirecta mediante el cálculo del volumen de los individuos mediante las ecuaciones propuestas por Ruttner-Kolisko (1977) y convertidas a peso seco según las constantes de Bottrell y col. (1976) y Pace y Orcutt (1981).

Como atributos de la comunidad seleccionados como variables de respuesta, se analizó también la diversidad de especies de cada sitio de muestreo y sus componentes de riqueza ( $S$ ) y equitatividad ( $E$ ) mediante el índice de Shannon y Weaver (Omori e Ikeda, 1984):

$$H = - \sum_{i=1}^S P_i \cdot \ln P_i$$

Donde:

H: Diversidad específica,

P<sub>i</sub>: N° de individuos de la especie  $i$ ,

S: número total de especies presentes.



La equitabilidad ( $E$ ) del inglés “equitability” también llamada “equidad”, (o evenness, también del inglés), se cuantificó expresando la diversidad específica  $H$  como una proporción del valor máximo de  $H$  si todos los individuos estuvieran uniformemente distribuidos entre las especies (Begon y col., 1988):

$$E = \frac{\sum_{i=1}^S P_i \cdot \ln P_i}{S}$$

Donde:

$P_i$ : N° de individuos de la especie  $i$ .

$S$ : Riqueza de especies

Las posibles diferencias entre densidad de especies entre sitios de muestreo se analizaron mediante Análisis de la Varianza (ANOVA,  $p= 0,05$ ). En los análisis de diversidad se emplearon datos correspondientes sólo a los individuos adultos, identificables taxonómicamente a nivel de especie. La biomasa en peso seco se calculó aproximando los valores de las distintas especies de cladóceros, copépodos y rotíferos según las tablas y constantes de Dumont y col., (1975).

Se utilizó la correlación de producto momento de Pearson para comparar los resultados de los atributos de la comunidad con los datos de los parámetros de calidad de agua y sedimento de los diferentes puntos de muestreo, a fin de establecer si los ambientes estudiados poseían concentraciones de Cr, Cu, Pb y Cd tales que determinaran alteraciones en la estructura comunitaria. Previo al análisis los datos fueron transformados a logaritmo.

Para el análisis de afinidades entre las muestras de zooplancton, tanto por su composición como por sus atributos en carácter de comunidad, se aplicó un análisis de conglomerados, que requiere medir la similitud entre las entidades a agrupar. Los valores contenidos en las matrices de similitud, distancia o correlación, se expresan gráficamente mediante la construcción de dendrogramas.

Se trabajó con variables discretas (densidad, riqueza y diversidad de especies, biomasa) para relacionarlos con la concentración de metales en agua y sedimento. La medida utilizada fue la distancia euclidiana, recomendada para analizar datos discretos. Se recurre a técnicas de agrupamiento cuando no se conoce una estructura de agrupamiento de los datos “*a priori*” y el objetivo operacional es identificar el agrupamiento natural de las observaciones. Las técnicas de clasificación basadas en agrupamientos implican la distribución de las unidades de estudio en clases o categorías de manera tal que cada clase (conglomerado) reúne unidades cuya similitud es máxima bajo algún criterio. Es decir, los objetos en un mismo grupo comparten el mayor número permisible de características y los objetos en diferentes grupos tienden a ser distintos.

Es importante considerar además el valor del coeficiente de correlación cofenética el cual puede ser usado para seleccionar uno de varios agrupamientos alternativos. Este coeficiente indica la correlación de las distancias definidas por la métrica de árbol binario con las distancias originales entre objetos, luego se espera que el agrupamiento con mayor coeficiente sea el que mejor describe el agrupamiento natural de los datos.

Se aplicaron tres tipos de ligamiento: Ligamiento promedio (*average linkage*) o Análisis de Ligamiento de Pares no Ponderados; ligamiento simple (*single linkage*) y ligamiento completo (*complete linkage*). En todos los casos se calculó la correlación cofenética a fin de determinar el mejor agrupamiento en función de los resultados obtenidos. La mayor correlación cofenética ( $r = 0,903$ ,  $p < 0,05$ ) fue obtenida por el método UPGMA (unweighted pair-group method) por lo que fue seleccionado para el análisis de los datos biológicos y de metales pesados de esta tesis. Los resultados fueron expresados a través de un dendograma utilizando el programa InfoStat (2004).

### 4.3. Bioensayos de acumulación de Cr en *Daphnia magna* y *Argyrodiaptomus falcifer*

Los bioensayos con *D. magna* (Crustacea, Cladocera) y *A. falcifer* (Crustacea, Copepoda) se realizaron para determinar la concentración de Cr en los tejidos de ambas especies. Los organismos fueron expuestos a tres concentraciones de Cr(VI): 150, 280 y 350  $\mu\text{g/l}$ . Las concentraciones fueron seleccionadas de acuerdo con Kungolos y Aoyama, (1993) y estudios previos (Gagneten, 2006). El cromo se agregó como  $\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}_2$ .

El tratamiento estadístico de los datos de bioacumulación consistió en la comprobación de la normalidad de los datos previamente transformados a logaritmo usando el test de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov. Se utilizó análisis de la varianza (ANOVA) seguido por el test de Tukey ( $p < 0,05$ ) para analizar posibles diferencias significativas entre el control y los tratamientos.

La comparación entre la contaminación en un organismo acuático en relación con su ambiente se cuantifica como la tasa entre la concentración del contaminante en el organismo en relación con la concentración en el agua. El valor resultante se denomina Factor de Concentración (F.C.) o de bioconcentración (F.B.C) para un determinado contaminante y una especie dada. Para evaluar el potencial de un organismo como bioacumulador de metales, se ha utilizado con frecuencia el Factor de Bioconcentración (F.B.C) (Kahle y Zauke, 2002b). El mismo puede calcularse de dos modos diferentes: (1) mediante la razón entre  $k_1$  (la constante para la fase de acumulación) y  $k_2$  (la constante para la fase de eliminación) a partir de datos cinéticos, no asumiendo que se ha alcanzado un equilibrio durante el experimento, o (2) mediante la razón entre la concentración del metal en el organismo de prueba  $CA$  y la concentración de exposición  $CW$  asumiendo que se alcanzó un equilibrio (Ravera, 2001; Butte, 1991 en Kahle y Zauke 2002b).

Es decir, el F.B.C. puede ser calculado cuando en un organismo la concentración de un contaminante está (o no) en equilibrio con la del agua; en el primer caso se denomina "F.B.C. real" o "F.B.C. en equilibrio", en el segundo caso

se denomina “F.B.C. observado” (De Bortoli y col., 1968 en Ravera, 2001).

Siguiendo a Ravera, (2001) y a Karthikeyan y col., (2007), se calculó el F.B.C. observado según:

$$\text{F.B.C} = \frac{\text{Concentración en el organismo (C}_1\text{)}}{\text{Concentración en el agua (C}_0\text{)}}$$

No se realizó un estudio cinético para conocer las concentraciones de Cr en equilibrio en el organismo. Para los datos de F.B.C. se obtuvieron el desvío estándar y el coeficiente de variación.

### **Análisis por Activación Neutrónica Instrumental (AANI)**

En estudios ecotoxicológicos recientemente se comenzó a utilizar el Análisis por Activación Neutrónica debido a que es una técnica de referencia multielemental, de elevada sensibilidad, precisión y selectividad. No destruye la muestra y requiere pequeñas masas, siendo por este motivo especialmente útil en estudios de fito y zooplancton.

Entre las ventajas del AANI cabe mencionar además que es una técnica no destructiva, de aplicación en muestras biológicas sin digestión ácida previa y en suspensiones y soluciones no acuosas, a la vez que se pueden analizar muestras de matrices muy diversas utilizando la misma metodología. Por otro lado, los límites de detección son significativamente inferiores a los permitidos por la Espectrofotometría de Absorción Atómica. Entre las desventajas del AANI, puede mencionarse que requiere de personal altamente especializado, su elevado costo y la escasa disponibilidad de reactores nucleares.

Esta técnica ha sido utilizada en múltiples aplicaciones: e.g. para la determinación de Cr y Co en suero humano (Versieck y col., 1978); para investigar la absorción de Hg en biomasa algal (Mosulishvili y col., 2004); elementos múltiples en lombrices de tierra (Zheng y col., 1997), los patrones de distribución de tres elementos raros y sus especies asociadas a proteínas en humanos (Chen y col., 2001); metales pesados en distintos órganos de peces de

ambientes contaminados (Wood y col., 1990; Veado y col., 2007) y el impacto de metales pesados del humo del tabaco (Landsberger y Wu 1999), para determinar diversos materiales de referencia en alimentos (Rao y col., 1995), para la investigación de contaminación atmosférica (Chung y col., 1997; Jassan y col., 2004 y 2007; Pignata y col., 2007; Wannaz y col., 2008) y en Geología, el AANI es aún el método más eficiente para determinar muestras multielementales que requieren precisión y exactitud (Koeberl, 1993).

#### 4.3.1. Bioensayos de acumulación de Cr en *D. magna*

Para los ensayos de acumulación de Cr en cladóceros se seleccionó *D. magna* por su tamaño comparativamente mayor al de otros cladóceros representados en la región. Los ejemplares adultos para iniciar el cultivo “stock” se obtuvieron de tanques ubicados en el Instituto Nacional de Limnología (CONICET-UNL). Organismos adultos de *D. magna* fueron expuestos a las tres concentraciones de Cr(VI) previamente mencionadas (150, 280 y 350  $\mu\text{g/l}$ ) durante 48 h. Se realizaron tres réplicas por concentración y tres controles (sin Cr (VI)). En cada réplica se colocaron 50 individuos adultos en 500 ml de medio de cultivo sintético (2 g  $\text{C}_0_3\text{HNa}$ ; 2,24 g  $\text{CaCl}_2$ , 0,26 g  $\text{S}_0_4\text{K}_2/10$  agua destilada); conductividad: 0,05 mS/cm; turbidez: 0%; oxígeno disuelto: 7,8 mg/l; salinidad: 0,0 %; pH: 7,6); la temperatura y el fotoperíodo fueron constantes ( $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ; 16 h luz: 8 h oscuridad). Se alimentó a los organismos con *Chlorella* sp. 24 h antes de la exposición pero no durante el ensayo. Luego de 48 h, los organismos fueron crioadestesiados y llevados a estufa a  $60^\circ$  hasta peso constante para posteriormente determinar la concentración de Cr por AANI. Se obtuvo una masa de  $1,86 \pm 0,9$  mg de *D. magna* para cada ensayo. Las muestras de *D. magna* fueron irradiadas con un Reactor RA6 en el Centro Atómico Bariloche. Se utilizó un detector de estado sólido HPGe tipo N. Se utilizaron valores recomendados para el material de referencia IAEA-392 en IAEA/AL/101 (1998).

#### 4.3.2. Bioensayos de acumulación de Cr en *Argyrodiaptomus falcifer*

*Argyrodiaptomus falcifer* es una especie de copépodo calanoideo relativamente grande, ampliamente distribuido en los ambientes acuáticos continentales de Sudamérica, principalmente de la llanura de inundación de los ríos Paraná y Paraguay. El estado taxonómico actual y la distribución geográfica de *A. falcifer* fue establecida por Paggi (2006). Este autor sostiene que *Diaptomus falcifer* debería ser reasignado al género *Argyrodiaptomus* y que éste es un sinónimo de *Argyrodiaptomus argentinus* (Wright, 1938).

*A. falcifer* fue recolectado de lagunas temporarias de la llanura de inundación del río Paraná, provincia de Santa Fe (31°37' S; 60°41' O), utilizando una red de zooplancton de 45 µm de abertura de malla. Debido al carácter hipereutrófico de estas lagunas temporarias, los copépodos recolectados fueron colocados en cápsulas de Petri para separar los especímenes de la materia orgánica particulada. Machos y hembras adultos de *A. falcifer* fueron separados bajo un microscopio estereoscópico de disección Olympus Z TX-E usando una pipeta plástica. Se seleccionó al azar un total de 1.800 adultos (hembras y machos) para obtener un "pool" de 150 especímenes por vaso de precipitado de 200 ml. Los organismos fueron aclimatados en agua sintética en un incubador durante 24 h, en las condiciones de prueba de 20°C ±1°C, 12:12 h (L:O), alimentados *ad libitum* con *Chlorella sp.*, y utilizados el día siguiente.

Un total de 150 individuos adultos machos y hembras fueron aleatoriamente transferidos a vasos de precipitado con 200 ml de solución aireada de Cr(VI): 150, 280 y 350 µg/l. Se realizaron tres réplicas para cada concentración y para el control. Los ensayos estáticos se realizaron en idénticas condiciones que *D. magna*, sin alimentación. Luego de 48 h, los organismos fueron filtrados, colocados en tubos plásticos Eppendorf de 1,5 ml y llevados a estufa a 60° hasta peso constante para posteriormente determinar por AANI la concentración de Cr acumulado.

El control de calidad de los resultados analíticos fue evaluado analizando el material de referencia certificado MRCChEN-002, que corresponde a la almeja *Venus antiqua*, provisto por la Comisión Chilena de Energía Nuclear. Este material de referencia fue analizado bajo las mismas condiciones experimentales que para el análisis de las muestras de *A. falcifer*.

El número de copépodos recolectados bajo las condiciones señaladas puede parecer escaso (150 por réplica) si se lo compara con el número que es posible capturar en ambientes marinos donde el zooplancton es capturado con redes de plancton de 500-700  $\mu\text{m}$  y de 1 m de diámetro. Bajo estas condiciones, se pueden obtener aproximadamente 1.300 individuos para cada tratamiento (Kahle y Zauke 2002a, b; Zauke y Schmalenbach, 2006; Pempkowiak y col. 2006). Por otro lado, la biomasa requerida por métodos analíticos más tradicionales, como por ejemplo espectrografía de absorción atómica con horno de grafito, es mayor (de aproximadamente 10 mg de materia seca de copépodos según Kahle y Zauke, 2002b), que la obtenida en este trabajo. Por el contrario AANI es un método confiable para realizar mediciones de rutina de aproximadamente 35 elementos aún en pequeñas muestras (<1 mg) (Koeberl, 1993) por lo que fue seleccionado para los estudios de bioacumulación de Cr en esta tesis.

## **RESULTADOS**

**Contexto ambiental - Estructura del zooplancton -  
Bioensayos de acumulación de Cr -**



## 5. RESULTADOS

### 5.1. Contexto ambiental

#### 5.1.1. Características del agua

##### 5.1.1.1. Parámetros físicos y químicos del agua

La variación de los parámetros físicos y químicos del agua de los sitios de muestreo se muestran en las Figuras 2 y 3.

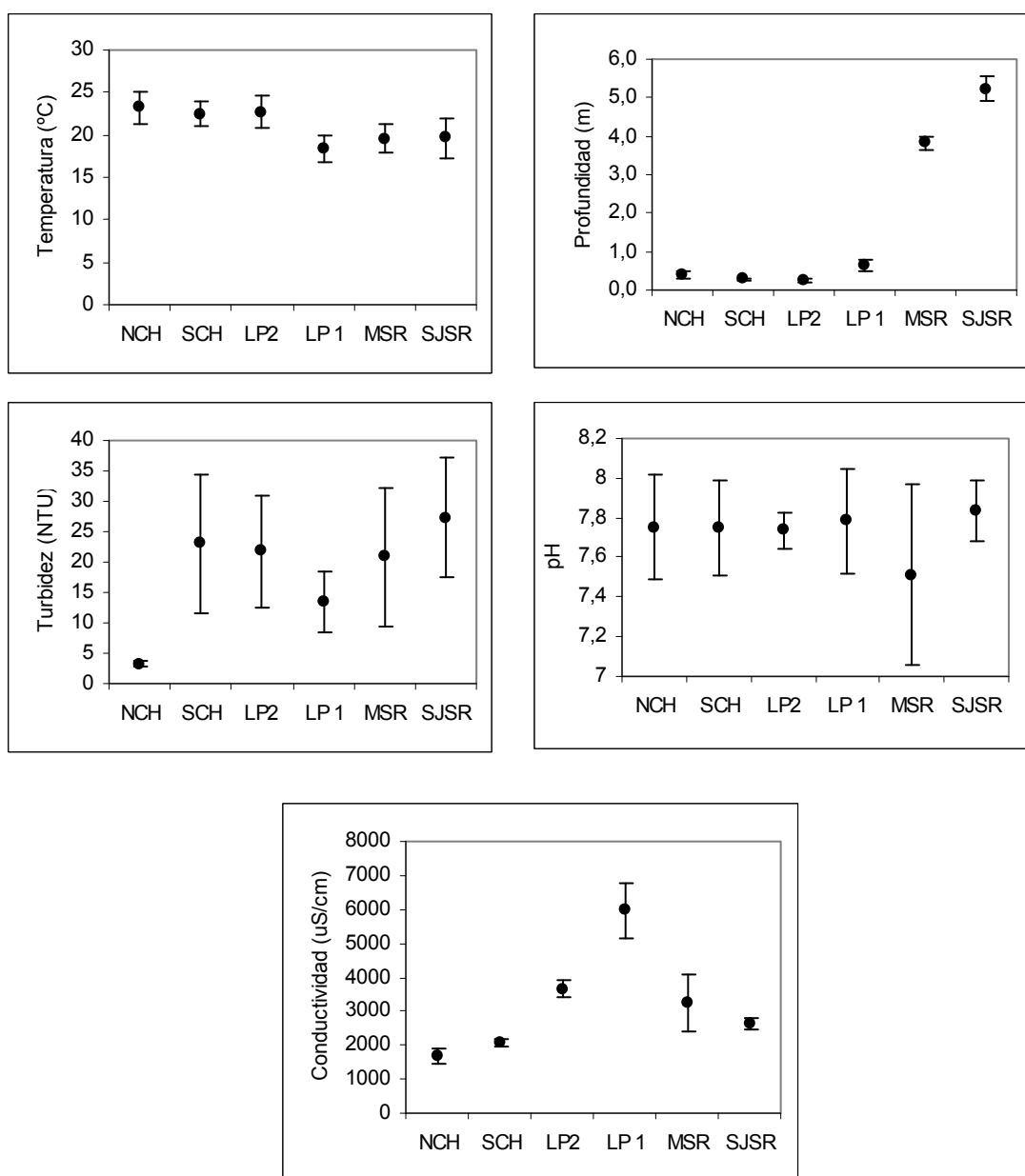


Figura 2: Parámetros físicos y químicos registrados en los sitios de muestreo. Los valores de temperatura, profundidad, turbidez, pH y conductividad corresponden al promedio de cuatro muestras en cada sitio de muestreo (círculos oscuros) con sus correspondientes desvíos estándar (barras).

La temperatura a lo largo del período de estudio varió entre 16-29 °C. El río Salado, más profundo que los canales y arroyos, tuvo temperatura un poco más baja. Entre muestreos del año, este parámetro mostró una variación acorde a la dinámica estacional normal

La profundidad fue en general escasa (< 1 m) en los Canales Norte y Sur y en el arroyo Las Prusianas pero bastante mayor en las estaciones del río Salado (3,50-5,70 m). Como indica la escasa dispersión de los datos, no se registraron variaciones importantes entre muestreos, aunque las mayores profundidades se dieron en otoño e invierno.

La turbidez mostró alta variabilidad 3-54 NTUs (Unidades Nefelométricas de Turbidez) pero escasa diferencia entre la mayoría de los sitios de muestreo. La excepción la constituyó el Canal Norte, con bajos valores tanto de promedio como de variabilidad. Los valores mayores se dieron en otoño.

El pH promedio fue de 7,8 (Figura 2), dándose valores mayores en invierno y menores en verano en todos los sitios de muestreo.

La conductividad fue alta (>1000  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) en todas las estaciones y sitios de estudio, una característica propia de este río, tal como lo indica su nombre. Los valores más altos se registraron en Las Prusianas (3.000–7.100, media: 5.965  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) y en Manucho (3.900-5.300, media 3.260  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ).

La dureza total en general tuvo valores menores a 200  $\text{CaCO}_3/\text{l}$ , salvo en el Canal Sur donde se dio el promedio más alto (502,9  $\text{CaCO}_3/\text{l}$ , Figura 3). La máxima variabilidad fue observada en la estación LP1 del arroyo Las Prusianas. Este sitio de muestreo también mostró los valores altos a lo largo del estudio, en los muestreos de otoño, invierno y verano.

Los valores de oxígeno disuelto abarcaron un amplio rango aunque en su mayoría fueron menores de 6 mg/l. Los valores mínimos se registraron en Las Prusianas, en invierno y primavera (0,1-0,2 mg/l) y los valores más altos sólo se dieron en el sitio de referencia (SJSR, con un promedio de 8 mg/l) en todas las épocas de muestreo. Hubo relativamente baja variabilidad estacional en cada sitio de muestreo.

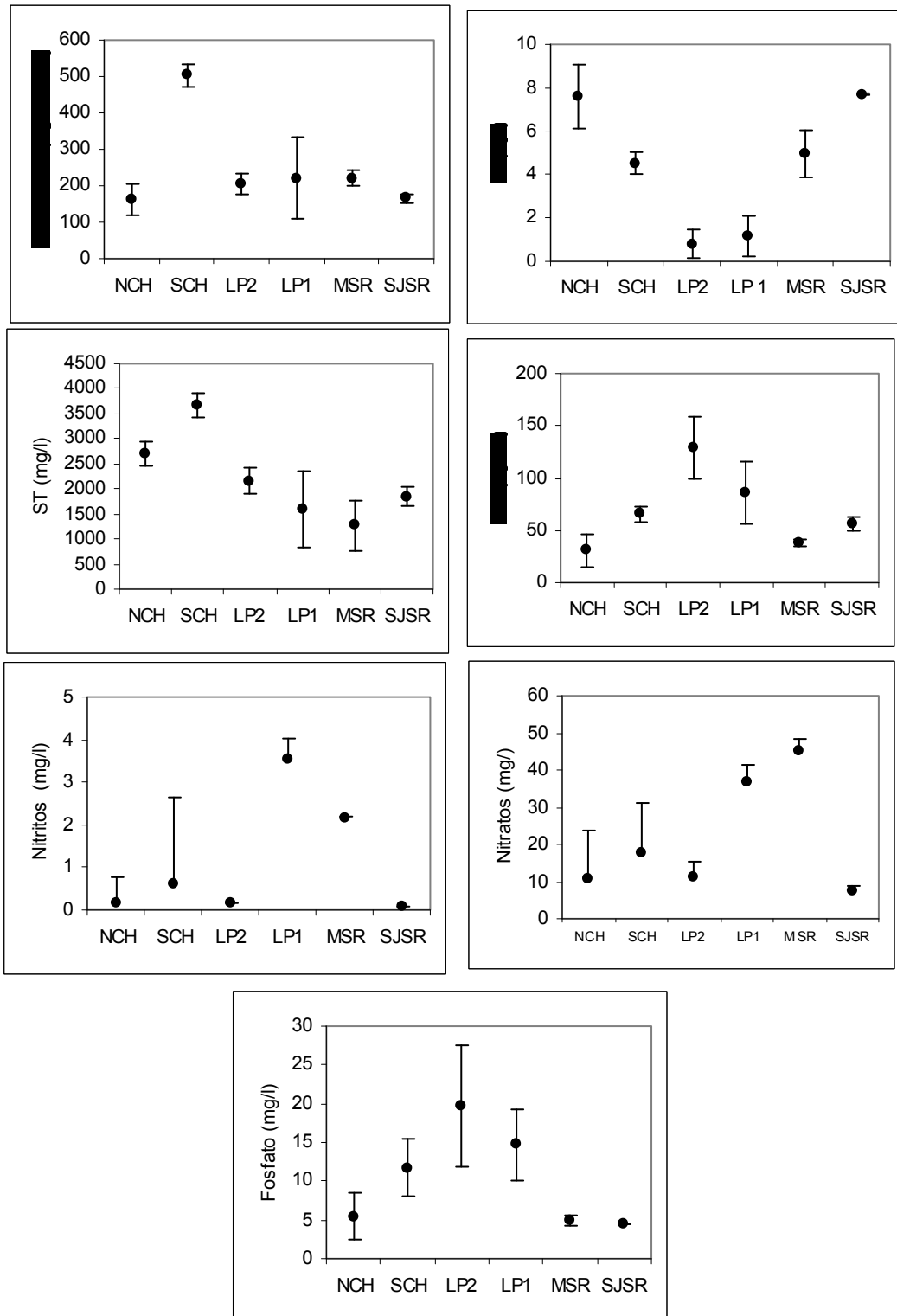


Figura 3: Parámetros químicos registrados en los sitios de muestreo. Los valores de dureza, oxígeno disuelto, demanda química de oxígeno (DQO), sólidos totales (ST), nitritos, nitratos y fosfato corresponden al promedio de cuatro muestras en cada sitio de muestreo (círculos oscuros) con sus correspondientes desvíos estándar (barras).

Los valores de DQO fueron más altos en Las Prusianas (media: 128 mgO<sub>2</sub>/l en LP2 y 85,6 mgO<sub>2</sub>/l en LP1, Figura 3) y más bajos en el río Salado (media 38,0 mgO<sub>2</sub>/l) y NCH (media 30,8 mg O<sub>2</sub>/l). Se registró amplia variación estacional entre muestreos, con el valor más alto en LP2 en primavera (179 mgO<sub>2</sub>/l) y el más bajo en NCH en verano (7 mgO<sub>2</sub>/l).

Las más altas concentraciones de Sólidos Totales (ST) (Figura 3) se registraron en Canal Sur (media 3.662 mg/l), valores intermedios en Las Prusianas (medias 1.602-2.158 mg/g) y valores mínimos en el río Salado (media 1.848 mg/l en SJSR y 1.400 mg/l en MSR). En invierno los valores fueron más bajos (media: 1948,0) y en otoño más elevados (media: 2568,6).

Con respecto a los nitritos, se registraron valores muy variables, desde bajos (NCH, SCH, LP2 y SJSR) a altos (en LP1). La variabilidad encontrada por ejemplo en SCH indica además diferencias importantes en los registros de los cuatro muestreos estacionales. El valor máximo (3,55 (mg/l) se dio en LP1 en el muestreo de invierno y el mínimo (0,1 (mg/l) en San Justo en el muestreo de primavera. Los nitratos fueron menos variables entre sitios y entre muestreos, en especial en canales y arroyos. El valor más alto (46,5 mg/l) correspondió a MSR en primavera y el más bajo (5,33 mg/l) a SJSR en otoño.

Los fosfatos mostraron valores variables entre muestreos en canales y arroyos y muy bajos en las dos estaciones del río Salado (medias: 4,8 y 4,4 mg/l en MSR y SJSR respectivamente). El valor máximo (36,2 mg/l) se dio en LP2 en el muestreo de invierno y el mínimo (2,5 mag/l) en San Justo en el muestreo de primavera.

#### **5.1.1.2. Metales pesados en agua**

El rango y los valores medios de la concentración de metales pesados en agua en cada sitio de estudio se muestran en las Tabla 1. Las variaciones de metales pesados en agua se muestran en la Figura 4.

	Cr	CrVI	Pb	Cu	Cd
<b>NCH</b>					
Media	1,9	1,2	>4	8,3	>0,5
Rango	1,15-2,62	1-2		5,65-10,5	
<b>SCH</b>					
Media	5,3	1,9	4,7	3,3	>0,5
Rango	1-11	1-4,6	4-6,1	6,1-22,9	
<b>LP 2</b>					
Media	3,4	1,25	>4	9	>0,5
Rango	1-6,4	1-2		6,9-12,8	
<b>LP 1</b>					
Media	7	1,3	>4	9,7	>0,5
Rango	3,12-13,6	1-2		7,2-13,6	
<b>MRS</b>					
Media	8,3	1,95	5,1	11,3	0,9
Rango	3,7-13	1-4,8	4-8,4	7-17,9	0,5-1,9
<b>SJSR</b>					
Media	4,1	2,5	>4	8,1	0,6
Rango	1,1-6,18	2-3		3,2-14,1	

Tabla 1: Valores promedio y rango de concentración de metales pesados (Cr, Cr (VI), Cu, Pb, Cd) en agua ( $\mu\text{g/l}$ ) en cada sitio de muestreo. Los valores corresponden al promedio de cuatro muestras en cada sitio.

En las diferentes épocas de muestreo, se registraron niveles variables de Cr en agua (Figura 4) siendo los más altos en Canal Sur en invierno ( $11,0 \mu\text{g/l}$ , media  $5,36 \mu\text{g/l}$ ), Las Prusianas en verano ( $13,6 \mu\text{g Cr/l}$ , media  $7,03 \mu\text{g/l}$ ) y Manucho en invierno ( $13 \mu\text{g/l}$ , media  $8,32 \mu\text{g/l}$ ). El Cr (VI) fue siempre alto en Canal Sur y en Manucho en primavera (valores máximos =  $4,6$  y  $4,8 \mu\text{g/l}$  respectivamente) y en San Justo (promedio =  $2,5 \mu\text{g/l}$ ). El Pb fue mayor al límite de detección sólo en Canal Sur en invierno (máximo:  $6,1 \mu\text{g/l}$ , media  $4,74 \mu\text{g/l}$ ) y

en Manucho en primavera (media 5,1  $\mu\text{g/l}$ ). Como en sedimentos, se encontraron valores relativamente altos de Cu en agua en invierno en todos los sitios de muestreo (máximo 22,9  $\mu\text{g/l}$ , media 13,0  $\mu\text{g/l}$  en Canal Sur), aún en el sitio de referencia (14,1  $\mu\text{g/l}$ , media 8,16  $\mu\text{g/l}$ ). El valor más alto de Cd en agua (1,9  $\mu\text{g/l}$ ) se registró en Manucho en el muestreo de primavera.

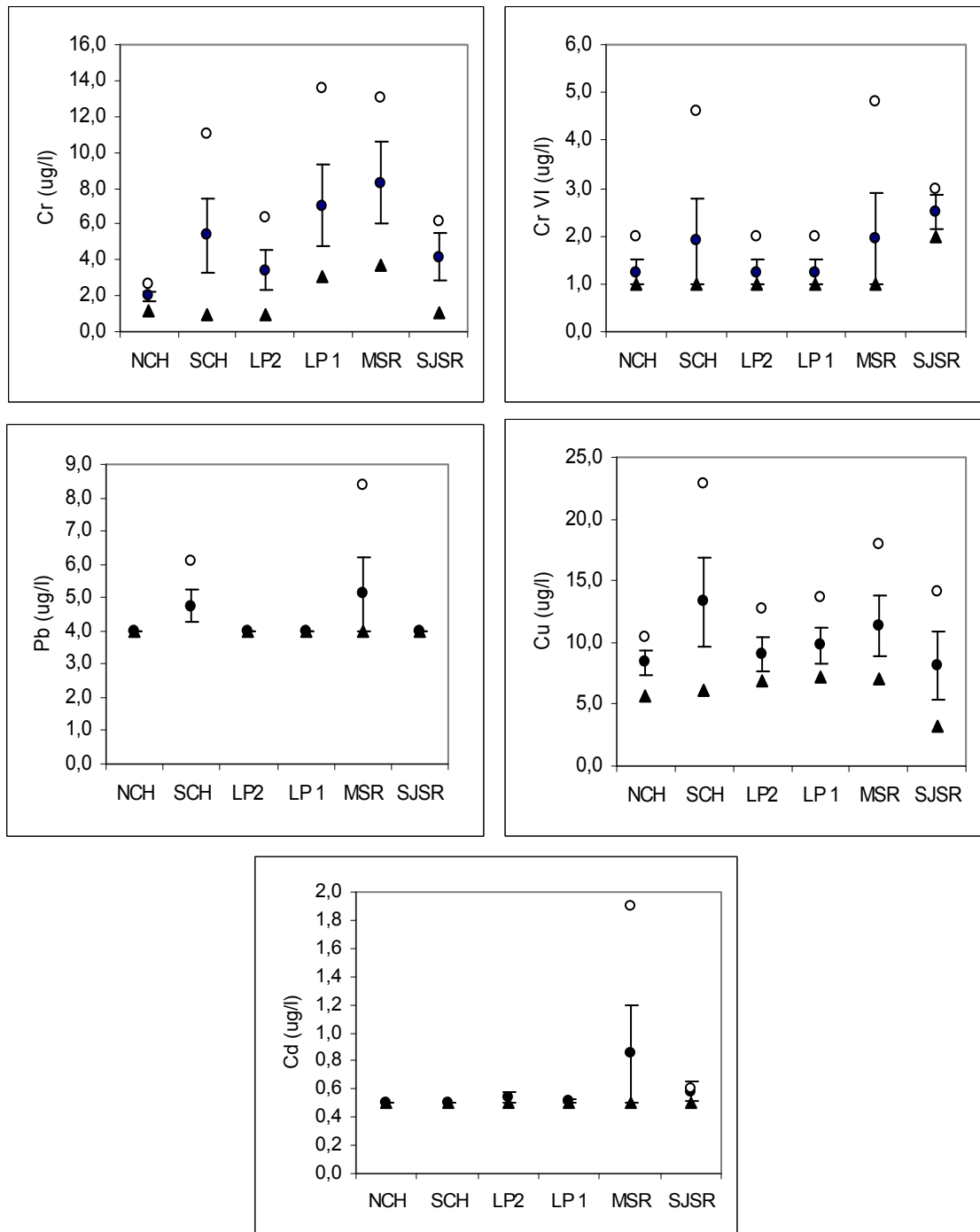


Figura 4: Contenido de Cr, Cr VI, Pb, Cu y Cd en agua. Los valores corresponden al promedio de cuatro muestras en cada sitio de muestreo (círculos oscuros) con sus correspondientes desvíos estándar (barras). Círculos vacíos: valores máximos. Triángulos: valores mínimos.

### 5.1.2. Características de los Sedimentos

#### 5.1.2.1. Parámetros físicos y químicos de los sedimentos

La composición granulométrica fue bastante heterogénea (Figura 5), aunque con una distribución regular de las diferentes fracciones en los canales, predominio de sedimentos limo-arcillosos en el sistema de Las Prusianas, y dispar dominancia de arena o arcilla en los sitios de muestreo del río Salado.

El sitio de muestreo con mayor proporción de arena fue el río Salado en Manucho, con 63 % en relación con el carácter lótico del mismo. La menor cantidad de arena (2 %) se registró en el Arroyo Las Prusianas, donde el sedimento estuvo casi únicamente formado por limo y arcilla.

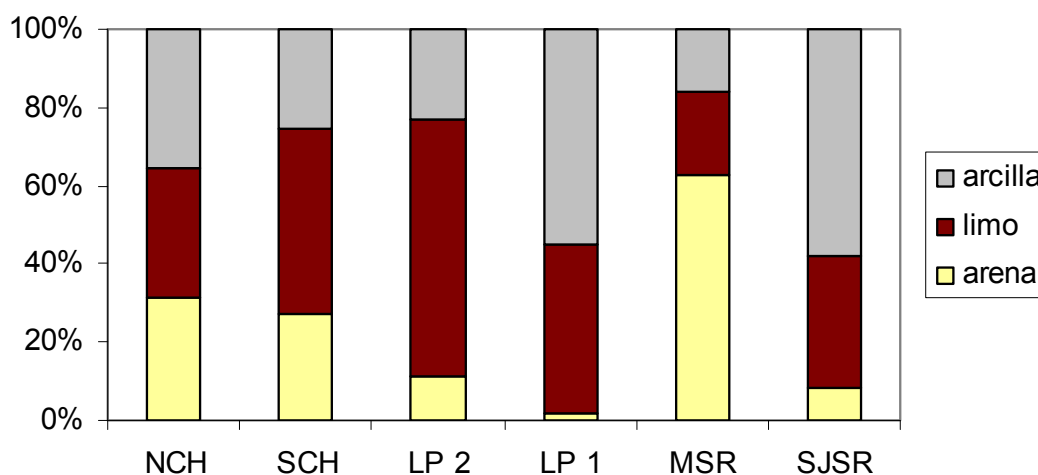


Figura 5: Composición granulométrica (% de arcilla, limo y arena) en cada sitio de muestreo.

Los valores de materia orgánica y de carbono orgánico total que se muestran en la Tabla 2 también indican que fueron más altos en el sistema de Las Prusianas.



	NCH	SCH	LP 2	LP 1	MSR	SJSR
MO (%)	8,42 (2,23)	4,63 (0,24)	9,23 (2,31)	10,56 (3,02)	4,34 (1,89)	8,32 (1,56)
CO (%)	0,67(1,07)	0,82 (0,67)	1,05 (0,79)	1,95 (0,48)	0,83 (0,34)	0,88 (0,70)

Tabla 2: Contenido de materia orgánica (% MO) y carbono orgánico (% CO) en sedimentos en cada sitio de muestreo. Los valores corresponden al promedio de cuatro muestras por sitio. Entre paréntesis: 1 D.E.

### **5.1.2.2. Metales pesados en sedimentos**

El rango y los valores medios de la concentración de metales pesados en sedimentos en cada sitio de estudio se muestran en la Tabla 3. Las variaciones de metales pesados en sedimentos se muestran en la Figura 6.

	Cr	CrVI	Pb	Cu	Cd
<b>NCH</b>					
Media	38,2	1	17,4	18,6	0,1
Rango	15,5-100	0,1-2,6	3,2-18,9	13,4-23,6	0,07-0,09
<b>SCH</b>					
Media	45,5	2,4	24,8	19,3	0,14
Rango	17,1-100	0,2-5,3	3,12-40,3	11,1-39	0,05-0,26
<b>LP 2</b>					
Media	192	8	21	19,6	0,1
Rango	18-290	0,7-21,5	4,13-32,5	13,1-26	0,07-0,17
<b>LP 1</b>					
Media	120,9	2,7	20,5	18,8	0,3
Rango	33,9-350	0,2-7,4	3,21-22,2	10,8-31	0,05-0,16
<b>MRS</b>					
Media	260,1	20,6	7,2	9,5	0,07
Rango	27,3-800	0,1-79,8	2,04-11,9	4,22-19,2	0,005-0,18
<b>SJSR</b>					
Media	13,1	0,7	7,5	10,6	0,1
Rango	5,41-21,4	0,1-2	1,83-17,1	4-21,9	0,05-0,12

Tabla 3: Valores promedio y rango de concentración de metales pesados (Cr, Cr (VI), Cu, Pb, Cd) en sedimentos ( $\mu\text{g/g}$ ) en cada sitio de muestreo. Los valores corresponden al promedio de cuatro muestras en cada sitio.

Se registraron altos valores de Cr correspondientes al muestreo de otoño en Las Prusianas y Manucho (350 y 800  $\mu\text{g/g}$  Cr, respectivamente, Tabla 3). Por otro lado, en San Justo se encontraron valores muy bajos en todas las épocas de muestreo; altos valores de Cr(VI) en primavera en Las Prusianas (21,5  $\mu\text{g/g}$ ) y en Manucho (79,8  $\mu\text{g/g}$ , media: 20,6  $\mu\text{g/g}$ ). El Pb fue más variable, con valores bajos en primavera en todos los sitios de muestreo pero muy altos en otoño, invierno y verano en Las Prusianas y Canal Sur (máximo 40,3  $\mu\text{g/g}$  en otoño, media 24,88  $\mu\text{g/g}$ ). En general el Cu mostró valores mayores en los canales y en Las Prusianas. Relativamente altos valores de Cu se encontraron en todos los sitios

de muestreo, aún en el sitio de referencia (21,9 µg/g). Los valores más altos se registraron en Canal Sur y Las Prusianas (medias 19,3 y 19,6 µg/g respectivamente). Los valores de Cd fueron en su mayoría bajos pero sólo altos en Las Prusianas en otoño (media 0,26 µg/g).

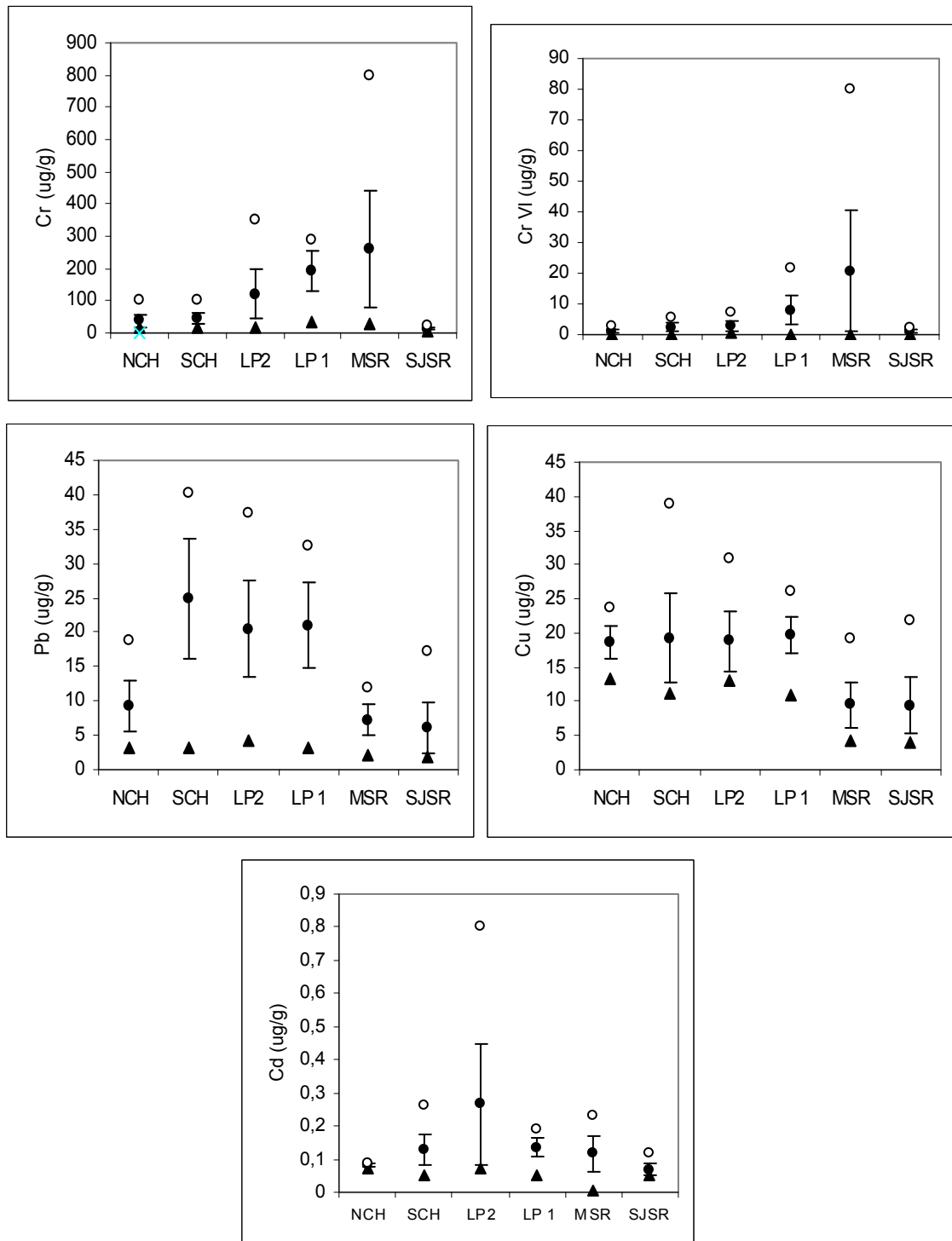


Figura 6: Contenido de Cr, Cr VI, Pb, Cu y Cd en sedimentos. Los valores corresponden al promedio de cuatro muestras en cada sitio de muestreo (círculos oscuros) con sus correspondientes desvíos estándar (barras). Círculos vacíos: valores máximos. Triángulos: valores mínimos.

**Análisis comparativo**

Se aplicó análisis de la varianza (ANOVA) de una vía para determinar posibles diferencias estadísticamente significativas entre concentraciones de todos los metales pesados analizados en sedimentos y agua de sitios contaminados en relación con el sitio de referencia (Tabla 4).

	NCH	SCH	LP2	LP1	MSR
Sedimento	<0,001	<0,001	<0,001	<0,005	<0,001
Agua	0,001	0,087	0,011	0,002	0,059

Tabla 4: Resultados de ANOVA de una vía entre la concentración de los metales pesados (Cr, Cr (VI), Cu, Pb, Cd) en sedimentos y en agua en los sitios contaminados (NCH, SCH, LP2, LP1, MSR) en relación con el sitio control (SJSR).

Los datos de metales en agua y sedimentos tuvieron una distribución normal (prueba de Kolmogorov-Smirnov). En sedimentos, se encontraron diferencias altamente significativas respecto al sitio de referencia, en Manucho ( $p < 0,001$ ), Canal Norte ( $p < 0,001$ ), Canal Sur ( $p < 0,001$ ), Las Prusianas 1 ( $p < 0,005$ ) y Las Prusianas 2 ( $p < 0,001$ ). En agua, también se encontraron diferencias significativas en Canal Norte ( $p < 0,001$ ), Las Prusianas 1 ( $p = 0,002$ ) y Las Prusianas 2 ( $p = 0,011$ ), excepto en Canal Sur ( $p < 0,087$ ) y Manucho ( $p = 0,059$ ), aunque en este último caso, cercano al nivel de significancia.

La Tabla 5 muestra la matriz de correlación para metales pesados, materia orgánica, contenido de carbono orgánico y composición granulométrica de sedimentos de superficie para todos los sitios de muestreo. Las concentraciones de Pb y Cu mostraron estar correlacionadas significativamente con los niveles de CO ( $r = 0,96$ ,  $p < 0,001$ ) y ( $r = 0,82$ ,  $p < 0,04$ ) respectivamente. El Cd estuvo correlacionado significativamente con la fracción limosa ( $r = 0,87$ ,  $p < 0,02$ ). Aunque el Cr (VI) tuvo un coeficiente de correlación relativamente alto,

no fue significativo al nivel convencionalmente establecido de  $p < 0,05$  ( $r = 0,89$ ;  $p = 0,15$ ).

	MO (%)	CO (%)	Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)
Cr	0,38( $p=0,84$ )	0,38( $p=0,44$ )	0,12( $p<0,80$ )	0,11( $p<0,82$ )	0,27( $p<0,60$ )
Cr (VI)	0,24( $p<0,64$ )	0,36( $p<0,47$ )	0,45( $p<0,36$ )	<b>0,89(<math>p&lt;0,15</math>) *</b>	0,20( $p<0,70$ )
Pb	<b>0,57(<math>p&lt;0,23</math>)</b>	<b>0,96(<math>p&lt;0,001</math>) *</b>	<b>0,65(<math>p&lt;0,15</math>)</b>	0,35( $p<0,49$ )	<b>0,54(<math>p&lt;0,26</math>)</b>
Cu	0,33( $p<0,51$ )	<b>0,82(<math>p&lt;0,04</math>) *</b>	<b>0,50(<math>p&lt;0,30</math>)</b>	<b>0,52(<math>p&lt;0,29</math>)</b>	0,20( $p<0,69$ )
Cd	0,45( $p<0,36$ )	0,21( $p<0,67$ )	0,40( $p<0,42$ )	<b>0,87(<math>p&lt;0,02</math>) *</b>	0,25( $p<0,63$ )

Tabla 5: Matriz de correlación para contenido de metales pesados, materia orgánica, carbono orgánico y composición granulométrica en sedimentos de superficie en todos los sitios de muestreo. (\*): Correlaciones significativas.

Como se puede observar en la Figura 7, el Pb mostró valores más elevados en canales y arroyos en comparación con las concentraciones del río Salado. Como se puntualizó anteriormente, el Cd sólo mostró valores altos en el sistema de Las Prusianas.

Contrariamente, se registró un aumento muy importante de Cr y Cr(VI) a lo largo del gradiente hidrológico en los sitios de muestreo desde los canales hasta el río Salado en Manucho. En el sitio de referencia en San Justo, los valores medios estuvieron muy por debajo de los registrados en los sitios más contaminados con ambas especies químicas de cromo.

Contexto ambiental

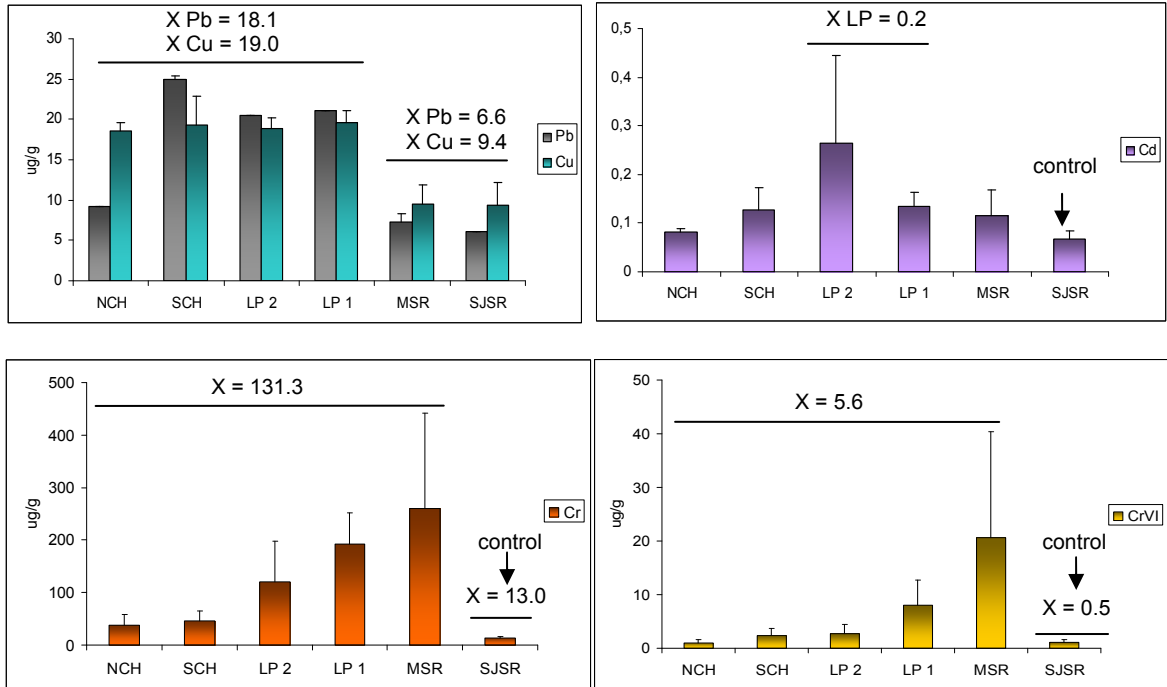


Figura 7: Incremento de metales pesados a lo largo del gradiente hidrológico de los sitios de muestreo, desde los canales Norte y Sur hasta el río Salado en Manucho, en relación al sitio control en San Justo.

Estructura del zooplancton

5.2. Estructura del zooplancton

5.2.1. Densidad

En la Tabla 6 se presenta el listado de las especies de Copépodos, Cladóceros y Rotíferos, así como la densidad promedio de cada especie en cada sitio de muestreo, registrados en este estudio.

TAXONES	NCH	SCH	LP2	LP1	MSR	SJSR
COPEPODA CYCLOPOIDA						
<i>Acanthocyclops robustus</i>	-	0,067	-	-	0,100	0,156
<i>Eucyclops neumani</i>	0,483	0,150	0,100	-	1,133	1,844
<i>Metacyclops laticornis</i>	1,000	-	-	0,783	-	-
<i>Metacyclops mendocinus</i>	-	-	-	-	0,283	-
<i>Microcyclops anceps</i>	0,133	-	-	-	-	-
<i>Paracyclops fimbriatus</i>	-	-	-	-	0,067	0,044
<i>Paracyclops sp.</i>	-	-	-	-	0,033	-
COPEPODA CALANOIDA						
<i>Argyrodiaptomus falcifer</i>	-	-	-	-	-	0,089
<i>Notodiptomus incompositus</i>	-	-	-	-	0,117	0,533
COPEPODA HARPACTICOIDA						
<i>Attheyella sancarliensis</i>	-	-	-	-	0,067	0,333
Copepoditos	0,033	-	0,017	0,117	0,500	2,489
Nauplii	0,417	0,467	0,117	6,911	1,950	3,000
CLADOCERA						
<i>Alona aff. rectangula</i>	-	0,033	-	-	0,017	0,022
<i>Bosmina hagmani</i>	-	-	-	0,017	0,017	0,156
<i>B. huaronensis</i>	-	-	0,05	0,017	0,017	0,044
<i>Ceriodaphnia cornuta</i>	-	-	0,05	-	0,300	-
<i>C. reticulata</i>	-	-	-	0,050	0,050	1,178
<i>Daphnia gessneri</i>	-	-	-	-	-	0,022
<i>D. spinulata</i>	-	-	-	0,067	-	-
<i>Diaphanosoma spinulosum</i>	-	-	-	0,017	0,183	-
<i>Ilyocryptus spinifer</i>	-	-	-	0,017	0,050	0,067
<i>Leydigia louisii</i>	-	-	-	0,050	0,050	-
<i>Macrothrix goeldi</i>	-	-	-	0,033	0,083	0,377
<i>M. squamosa</i>	-	-	-	0,050	0,117	0,378
<i>Moina micrura</i>	-	-	-	0,133	-	0,111
<i>M. minuta</i>	-	-	-	0,050	0,083	0,556



Estructura del zooplancton

<i>Moinodaphnia macleayi</i>	-	-	-	0,033	0,050	0,089
<i>Pleuroxus similis</i>	-	-	-	0,033	0,050	0,111
<i>Simocephalus sp.</i>	-	-	-	0,033	0,067	-
ROTIFERA						
<i>Anuraeopsis fissa</i>	0,183	-	-	-	-	-
<i>Asplanchna sp.</i>	0,017	0,201	-	0,050	0,267	0,333
<i>Brachionus albstromi</i>	-	-	-	-	0,258	0,029
<i>B. angularis</i>	-	-	-	0,017	0,042	-
<i>B. austrogenitus</i>	-	0,017	-	-	0,150	0,039
<i>B. bidentata</i>	-	-	-	-	0,001	0,002
<i>B. budapestinensis</i>	-	-	-	-	0,050	0,017
<i>B. calyciflorus</i>	-	-	-	-	-	0,065
<i>B. caudatus f. insuetus</i>	-	-	0,001	-	0,471	0,056
<i>B. caudatus f. provectus</i>	-	-	-	0,017	0,126	0,033
<i>B. caudatus f. vulgatus</i>	-	-	-	-	0,075	0,037
<i>B. plicatilis</i>	-	-	0,001	0,017	0,040	0,036
<i>B. quadridentatus</i>	-	0,050	0,050	0,002	0,178	0,088
<i>B. urceolaris</i>	-	-	-	0,033	0,004	0,012
<i>B. variabilis</i>	-	-	-	-	0,019	0,004
<i>Cephalodella sp.</i>	-	0,017	0,033	-	-	0,008
<i>Epiphanes clavulata</i>	0,467	0,017	-	0,117	0,068	-
<i>Epiphanes sp.</i>	-	0,083	-	0,033	0,067	0,006
<i>Euchlanis dilatata</i>	0,150	0,083	-	-	-	-
<i>Filinia longiseta</i>	-	-	-	-	0,017	0,017
<i>F. terminalis</i>	-	-	-	-	0,018	0,017
<i>Hexarthra intermedia</i>	-	-	0,033	-	0,017	0,001
<i>Keratella americana</i>	-	-	-	0,217	2,951	0,033
<i>K. cochlearis</i>	-	-	0,002	0,067	2,471	0,067
<i>K. tropica</i>	-	-	-	-	1,100	0,036
<i>Lecane curvicornis</i>	-	-	-	0,100	0,216	0,221
<i>L. bulla</i>	-	-	-	-	0,100	0,002
<i>L. elsa</i>	-	-	-	0,183	0,083	-
<i>L. hastata</i>	-	-	-	-	0,133	0,001
<i>L. lunaris</i>	0,050	0,017	-	0,083	0,017	0,004
<i>L. papuana</i>	0,117	-	-	-	0,150	0,004
<i>L. pyriformis</i>	0,117	-	-	0,117	0,283	0,056
<i>Lepadella acuminata</i>	0,033	-	0,004	0,167	0,092	0,002
<i>Lepadella rhomboides</i>	-	0,050	-	0,067	0,083	-
<i>Monostyla lunaris</i>	0,017	0,033	0,017	0,050	-	0,009
<i>Mytilina mucronata</i>	-	-	-	0,133	-	0,029
<i>Notholca acuminata</i>	-	-	-	0,117	0,017	0,001
<i>Platyas quadricornis</i>	-	-	-	-	0,033	-

Estructura del zooplancton						
<i>Polyarthra vulgaris</i>	-	-	-	-	0,051	3,500
<i>Phylodina</i> sp.	4,319	0,017	-	0,017	-	0,047
<i>Synchaeta</i> sp.	-	-	-	-	0,004	0,002
<i>Testudinella patina</i>	-	-	-	-	-	0,008
<i>Trichocerca bicristata</i>	-	-	-	-	0,200	0,009
<i>Trichotria tetractis</i>	0,117	0,034	-	-	-	0,001
<i>Bdelloideo</i> sp. 1	-	0,053	0,168	0,083	0,852	-
<i>Bdelloideo</i> sp. 2	0,536	0,285	0,001	0,850	0,605	0,009
<i>Bdelloideo</i> sp. 3	0,650	-	-	0,400	0,654	0,002

Tabla 6: Especies de Cladóceros, Copépodos y Rotíferos registradas. Se consigna la densidad promedio (Nº ind./ml) cada especie en cada sitio de muestreo. (-): Ausencia.

## Estructura del zooplancton

La densidad total de organismos fue superior en el sitio de referencia (río Salado en San Justo, 0,86 ind./l) que en los otros sitios más contaminados (0,31; 0,07; 0,03; 0,61 y 0,62 en Canal Norte, Canal Sur, Las Prusianas 2; Las Prusianas 1 y Manucho, respectivamente, Figura 8).

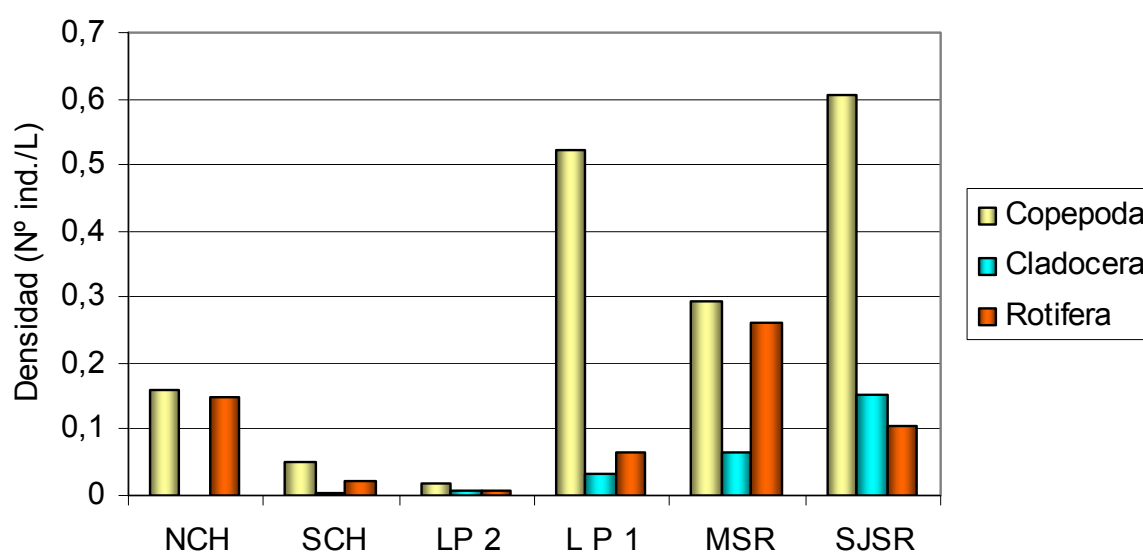


Figura 8: Densidad (ind./l) por grupo taxonómico (Copepoda, Cladocera y Rotifera) registrada en cada sitio de muestreo.

Los dominantes numéricos de la comunidad fueron los copépodos. Sin embargo, los copépodos adultos estuvieron pobremente representados tanto cuantitativa como cualitativamente. La dominancia observada en LP1, MSR y SJSR se debe a la gran proliferación de estadios larvarios y juveniles (larvas nauplio y copepoditos). Las larvas nauplio alcanzaron densidades de 6,9; 1,9 y 3,0 ind./l en LP1 (promedio desviado por un máximo de 20,7 ind./l en otoño), MSR y SJSR respectivamente. En términos generales, los crustáceos adultos no fueron tan numerosos como los rotíferos; la presencia de cladóceros fue muy baja o nula en NCH, SCH y LP2. Los géneros más frecuentes fueron *Bosmina*, *Ceriodaphnia* y *Moina*. Las especies más abundantes en LP1, MSR y SJSR fueron *Moina minuta*, *Bosmina hagmani*, *Diaphanosoma spinulosum* y *Macrothrix squamosa*.

Entre los copépodos los géneros más frecuentes fueron *Eucyclops* y *Metacyclops* estando *Acanthocyclops* representado en menor proporción. La especie con mayor frecuencia y abundancia fue *Eucyclops neumani*, que se registró en todos los ambientes y con abundancia relativamente elevada, con excepción de LP1. Otras especies que aparecieron muy esporádicamente fueron: *Microcyclops anceps* y *Paracyclops fimbriatus*.

Al comparar la dominancia parcial de los tres órdenes de copépodos (Figura 9), se encontró dominancia de ciclopoideos en los primeros cuatro sitios de muestreo, aunque nunca superaron los 0,2 ind./l. En Manucho, se registraron además algunos calanoideos y harpacticoideos, con densidad similar (0,05-0,06 ind./l). En San Justo, los tres órdenes estuvieron bien representados, con dominancia de calanoideos (0,53 ind./l) sobre los harpacticoideos y ciclopoideos (0,28 y 0,21 ind./l respectivamente).

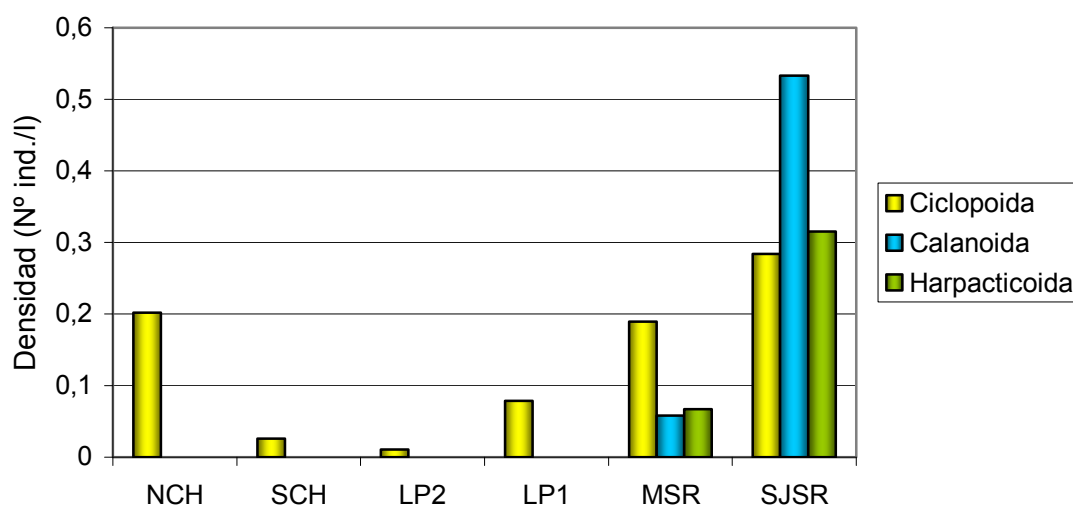


Figura 9: Densidad (ind./l) de Ciclopoida, Calanoida y Harpacticoida registrada en cada sitio de muestreo.

## Estructura del zooplancton

El mesozooplancton estuvo bien representado únicamente en San Justo, siendo escaso en Manucho y muy escaso o nulo en los afluentes (Figura 10). El microzooplancton alcanzó valores comparativamente altos en Las Prusianas 1 (3,48 ind./l) determinado por la abundancia de nauplios y menores en el río Salado (1,10 y 1,55 ind./l en Manucho y San Justo respectivamente).

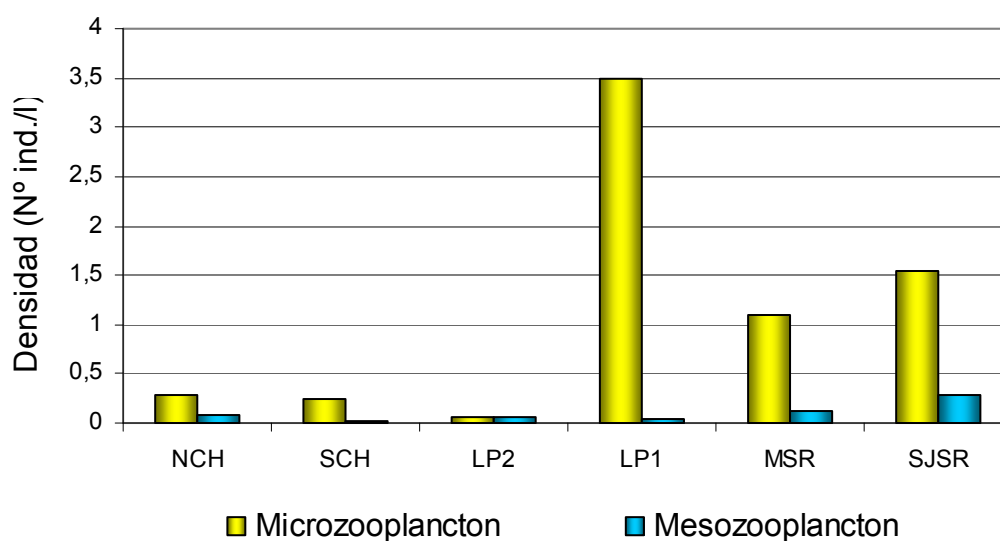


Figura 10: Densidad (ind./l) de microzooplancton (Rotifera+larvas nauplio) y mesozooplancton (Copepoda+Cladocera) en cada sitio de muestreo.

Los altos valores de microzooplancton se explican también por la abundancia de rotíferos, que resultó ser el grupo mejor representado tanto desde el punto de vista cuantitativo como del cualitativo.

Los géneros de rotíferos mejor representados por la numerosidad de especies fueron *Brachionus* (10 especies), *Lecane* (7 especies) y *Keratella* (3 especies). Las especies del género *Brachionus* más numerosas o con presencia más constante fueron *B. quadridentatus*, *B. calyciflorus*, *B. plicatilis* y *B. caudatus*. Esta última, abundante y frecuente sobre todo en el río Salado, estuvo

representada por distintas formas o “variedades”: *insuetus*, *provectus*, *vulgatus*. También fueron frecuentes en Manucho y San Justo, *B. austrogenitus* y *B. alhstromi*. Las especies más numerosas y frecuentes del género *Lecane* fueron *L. lunaris* y *L. pyriformis* y del género *Keratella*, se destacaron *K. americana* y *K. cochlearis*. El género *Polyarthra* se registró en el río Salado, llegando *P. vulgaris* a tener densidad alta en San Justo (3,5 ind./l). También fueron frecuentes y abundantes rotíferos bdelloideos (entre ellos, *Phylodina* sp.). Entre las especies de rotíferos de mayor frecuencia pero representadas con bajos valores de densidad cabe mencionar a *Monostyla lunaris*, *Lepadella acuminata*, *Asplanchna* sp. y *Epiphanes* spp.

### 5.2.2. Biomasa

La biomasa absoluta fue de 17 µg/l para copépodos (9,41, 4,24, 2,92 y 9,42 µg/l para Ciclopoidea, Calanoidea, Harpacticoidea y copepoditos + nauplios, respectivamente), 4,2 µg/l para cladóceros y 0,4 µg/l para rotíferos.

En Manucho y San Justo el zooplancton estuvo constituido por los tres grupos zooplanctónicos principales: copépodos, cladóceros y rotíferos, con altos valores de biomasa. La biomasa de copépodos fue alta y constante (alrededor de 3 µg/l) en SJSR. Algo menor en MSR (entre 1,2 y 2,0 µg/l) y de 2,3 µg/l en LP1 representada por ciclópodos (Figura 11). La biomasa de Copepoda, que se concentró en el río y LP1, estuvo distribuida: 55 % Cyclopoidea, 25 % Calanoidea, 17 % Harpacticoidea. En orden decreciente de importancia, los cladóceros tuvieron valores de biomasa entre un mínimo de 0,3 (LP1) y un máximo de 1,6 (SJSR), estando ausentes en NCH, seguidos por los rotíferos, con valores de biomasa comparativamente menores (0,01 en LP2 y 0,2 en NCH).

La biomasa absoluta varió en el orden: SJSR>MSR>LP1>SCH >NCH>LP2 con 11,1; 4,9; 2,7; 1,5m 1,2 y 1,1µg/l respectivamente.

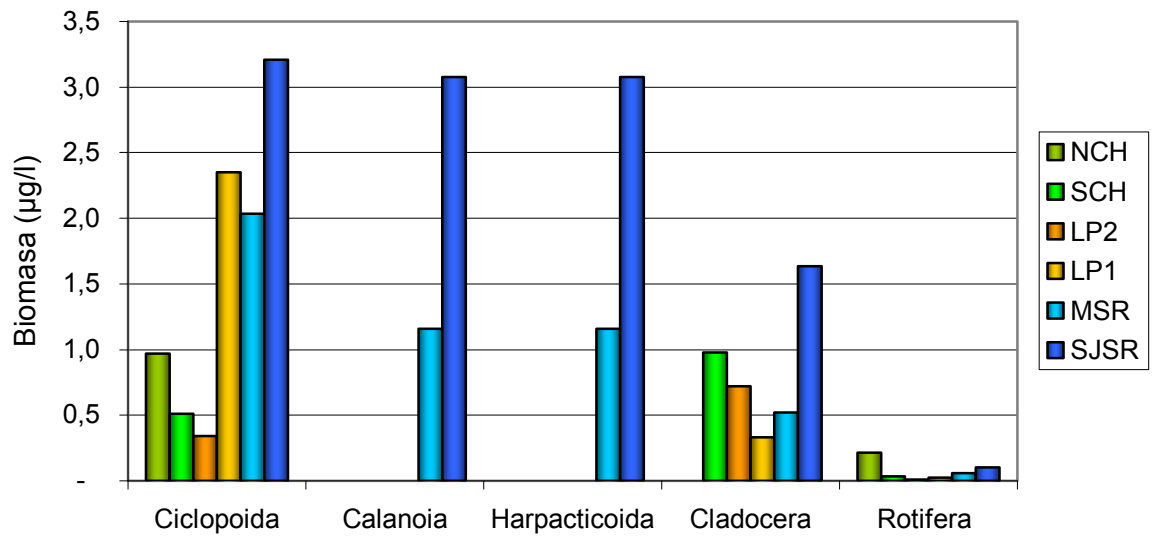


Figura 11: Biomasa ( $\mu\text{g/l}$ ) de Cyclopoida, Calanoida, Harpacticoida, Cladocera y Rotifera en cada sitio de muestreo.

### 5.2.3. Riqueza y diversidad de especies

La Tabla 7 y la Figura 12, muestran la riqueza de especies total y por grupo taxonómico, la diversidad y equitatividad de especies, registradas en los seis sitios de muestreo. Se registró un total de 74 especies (Tabla 7) de las cuales el 13,5 % correspondió a copépodos, el 22,9 % a cladóceros y el 63,5 % a rotíferos.

En MSR se registró un total de 59 especies; 56 en SJSR; 38 en LP1; 17 en SCH; 16 en NCH y 13 especies en LP2. Por lo tanto la riqueza de especies disminuyó entre sitios de muestreo en el orden siguiente: MSR>SJSR>LP1>SCH>NCH>LP2. En función de la riqueza, pueden formarse dos grupos de ambientes: los afluentes, con una riqueza de especies menor (entre 13 y 38 especies) y el eje principal del río en MSR y SJSR con casi el doble de especies (entre 56 y 59 especies) (Tabla 7).

La diversidad de especies tuvo valores bajos en los afluentes (0,35 a 1,56) y más altos (3,05 a 3,16) en el río Salado en Manucho y San Justo.

		NCH	SCH	LP2	LP1	MSR	SJSR
Riqueza de especies (S)	Copepoda	3	2	1	1	7	6
	Cladocera	0	1	2	14	14	11
	Rotifera	13	14	10	23	38	39
	<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>13</b>	<b>38</b>	<b>59</b>	<b>56</b>
Diversidad de especies (H)		<b>1,26</b>	<b>0,96</b>	<b>0,35</b>	<b>1,56</b>	<b>3,05</b>	<b>3,16</b>
Equitatividad (E)		<b>0,08</b>	<b>0,06</b>	<b>0,03</b>	<b>0,04</b>	<b>0,05</b>	<b>0,06</b>

Tabla 7: Riqueza de especies (S), Diversidad de especies (H) y Equitatividad (E) totales y por grupo taxonómico (Copepoda, Cladocera y Rotifera) en cada sitio de muestreo.



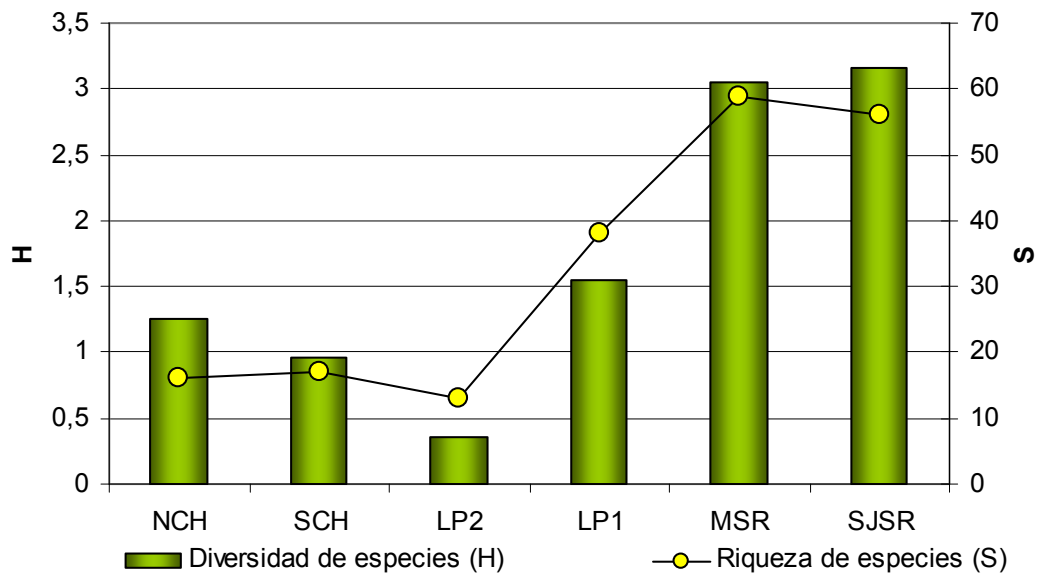


Figura 12: Riqueza de especies (S) y Diversidad de especies (H) registradas en cada sitio de muestreo.

El grupo dominante fueron los rotíferos, que estuvieron presentes en todos los sitios de muestreo. En el río (MSR y SJSR) estuvo representado el 99 % de todas las especies de rotíferos registradas. En LP 1 el 50 %; en LP2 el 22 % y sólo el 24 % en NCH y SCH siendo de destacar que en ellos se observaron algunas especies exclusivas de estos ambientes. Tal es el caso de *Anuraeopsis fissa* y *Euchlanis dilatata*. El segundo grupo en tolerancia fueron los copépodos (con baja riqueza de 1-2 especies en los afluentes y algo mayor en el río (6-7 especies) en tanto que los cladóceros contribuyeron de modo importante a la comunidad sólo en el sitio de referencia RSSJ donde tuvieron abundancia más uniforme (Figura 13).

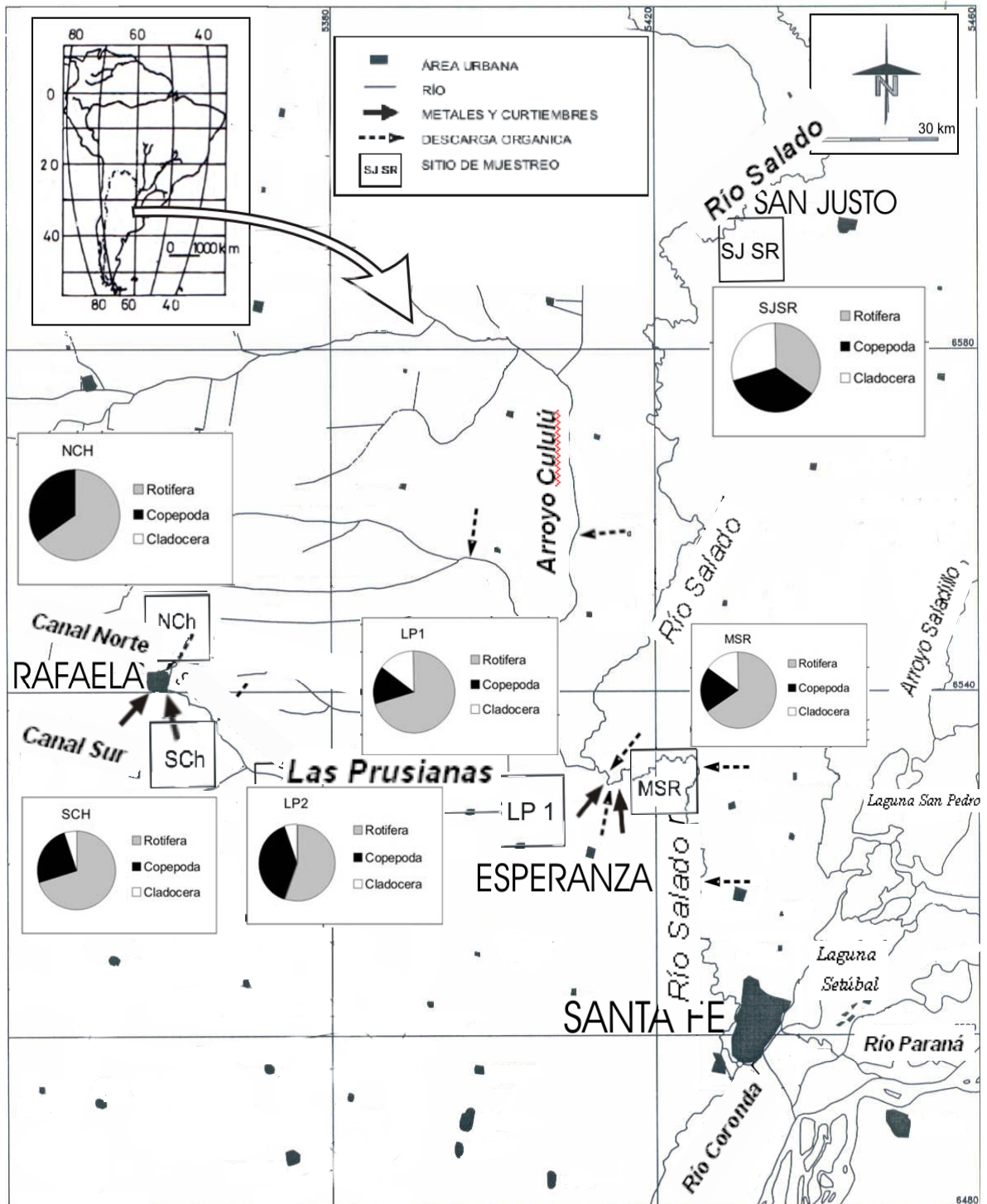


Figura 13: Mapa de la cuenca del río Salado mostrando la localización de los sitios de muestreo y la riqueza relativa de Rotifera, Copepoda y Cladocera registrada en cada sitio de muestreo. Se consideraron las 20 especies más frecuentes en cada sitio de muestreo.

En la Figura 13 se muestra la riqueza relativa de Rotifera, Copepoda y Cladocera al considerar las 20 especies más frecuentes registradas en cada sitio de muestreo. En el sentido de la corriente de la cuenca, es decir, desde NCH hasta MSR y en relación con RSSJ, se observó la ausencia de cladóceros en NCH, con dominancia de rotíferos y escasos copépodos. Los rotíferos continuaron dominando sobre los copépodos en los otros sitios contaminados, pero la presencia de cladóceros se incrementó progresivamente desde SCH hacia el río en Manucho (MSR). En el río en San Justo (SJSR), existió una proporción similar de los tres grupos.

### 5.3. Bioensayos de acumulación de Cr en *Daphnia magna* y *Argyrodiaptomus falcifer*

Como se indica en el apartado 4.1.5 de materiales y métodos, los bioensayos con *D. magna* y *A. falcifer* se realizaron para determinar la capacidad de acumulación de Cr en los tejidos de organismos representativos de dos grupos taxonómicos del zooplancton: Cladocera y Copepoda. Los organismos fueron expuestos a tres concentraciones de Cr(VI): 150, 280 y 350  $\mu\text{gCrVI/l}$ . Seguidamente se determinó la concentración de Cr por Análisis por Activación Neutrónica Instrumental y se calculó el F.B.C. para ambas especies indicando el desvío estándar y el coeficiente de variación en cada caso.

El resultado obtenido para el contenido de Cr del material de referencia MRCCChEN-002 mostró un buen ajuste con el valor certificado: el error relativo fue 6,8 %, que indica la exactitud del resultado obtenido. La diferencia estandarizada (Bode, 1996) obtenido para Cr fue 0,53, lo que indica que el resultado es satisfactorio y de acuerdo al valor de referencia.

#### 5.3.1. Bioensayos de acumulación de Cr en *D. magna*

Cuando *D. magna* fue expuesta a 150, 280 y 350  $\mu\text{g/l}$  Cr(VI) (T1, T2 y T3 respectivamente), acumuló Cr en las tres concentraciones ensayadas en relación al control, aunque las diferencias fueron mayores con la concentración más alta. Las concentraciones de Cr obtenidas fueron: en el control  $\leq 3 \mu\text{g/g}$ ; en los tratamientos con Cr (VI), los valores fueron 42,3; 40,4 y 82,3  $\mu\text{g/g}$  para 150, 280 y 300  $\mu\text{g/l}$  Cr (VI) es decir 14, 13 y 27 veces mayores al control respectivamente (Figura 14).

El Análisis de la Varianza entre tratamientos mostró diferencias significativas entre todos los tratamientos y el control ( $p < 0,0001$ ). El post test mostró diferencias significativas entre cada tratamiento y el control ( $p < 0,05$ ) pero no entre 150 y 280  $\mu\text{g/l}$  Cr (T1 y T2) ( $p = 0,876$ ).

### 5.3.2. Bioensayos de acumulación de Cr en *Argyrodiaptomus falcifer*

*Argyrodiaptomus falcifer* también acumuló Cr en las tres concentraciones ensayadas. La comparación entre 150, 280 y 350  $\mu\text{g/l}$  Cr (VI) es decir T1, T2 y T3 con el control (T0) mostró diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) pero no entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ).

Por otro lado, *D. magna* acumuló más Cr que *A. falcifer*, pero las diferencias no resultaron significativas ( $p > 0,05$ ) (Figura 14).

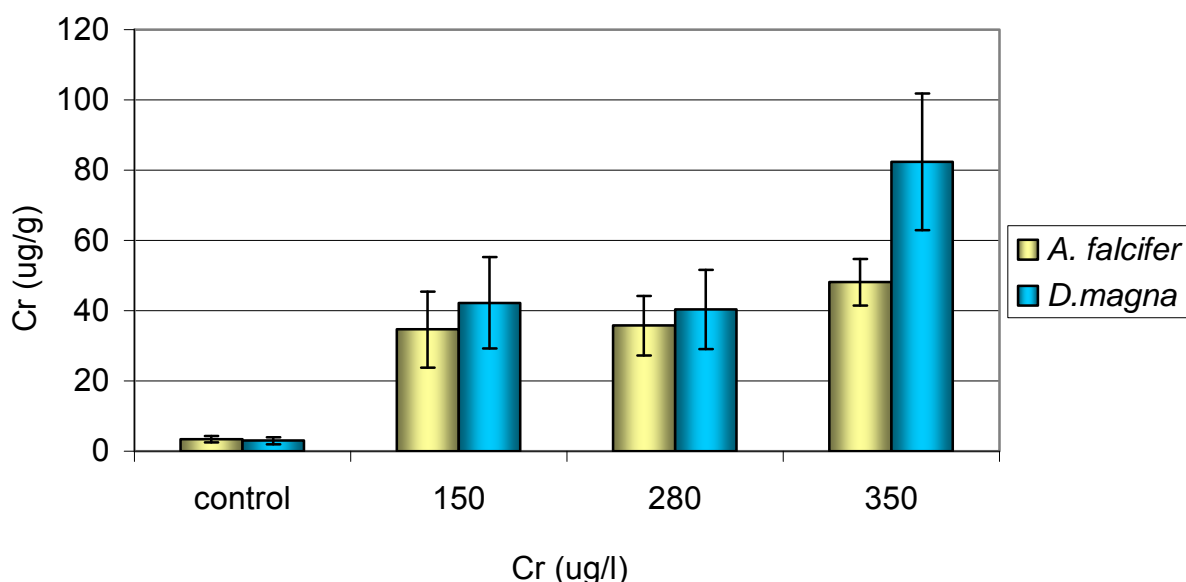


Figura 14: Concentraciones de Cr ( $\mu\text{g/g}$ ) registradas en tejidos de *A. falcifer* y *D. magna* en el control (T0) y las tres concentraciones de Cr (VI): 150 (T1), 280 (T2) y 350  $\mu\text{g/l}$  (T3). Las mediciones se realizaron por Análisis por Activación Neutrónica Instrumental (AANI). Las barras de error indican 1 D.E.

### 5.3.3. Factor de Bioconcentración

En *D. magna* no se encontró una relación directa entre el Factor de Bioconcentración (F.B.C., relación tejidos/agua) y la concentración de los tratamientos con Cr: 281,67 (D.E.= 86,64, C.V.= 0,29) en T1, 144 (D.E.= 40,51,

Bioensayos de acumulación de Cr

C.V. = 0,11) en T2 y 234,67 (D.E.= 54,81, C.V. = 1,50) en T3. Estos valores fueron similares a los registrados para *A. falcifer*: el F.B.C más alto fue 231,07 (D.E.= 71,74, C.V.= 1,62) en T1 mientras que las concentraciones T2 y T3 fueron 127,73 (D.E. = 30,24, C.V.= 1,66) en T2 y 137,40 (D.E.= 18,82, C.V. = 1,5) en T3.

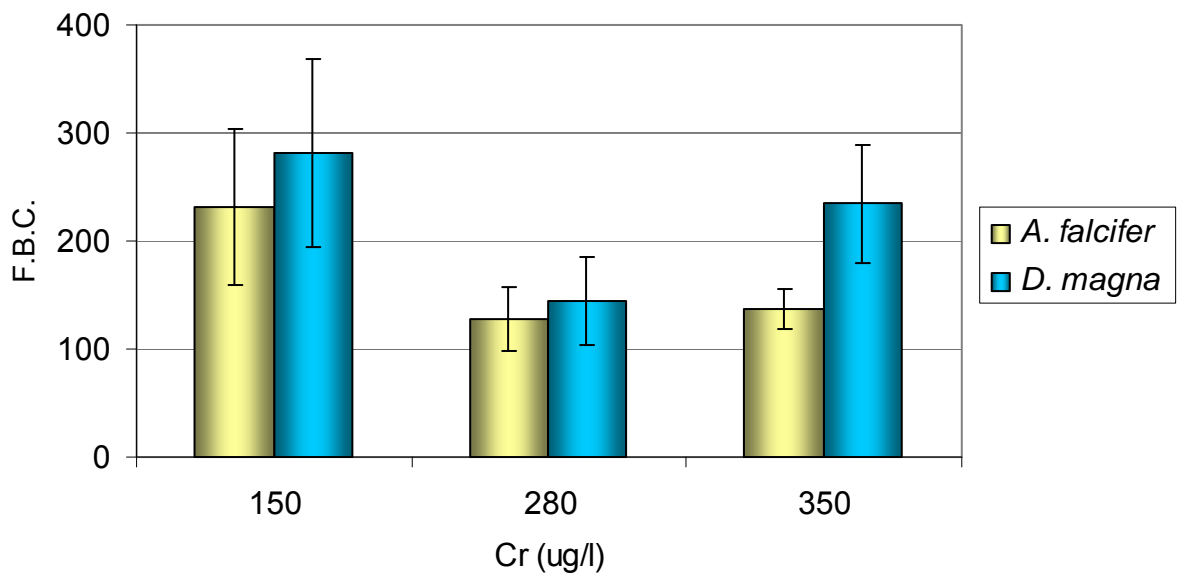


Figura 15: Factor de Bioconcentración de Cr ( $\mu\text{g/g}$ ) de *A. falcifer* y *D. magna* en las tres concentraciones de Cr (VI): 150 (T1), 280 (T2) y 350  $\mu\text{g/l}$  (T3) respecto al control (T0). Las barras de error indican 1 D.E.

## **DISCUSIÓN**

**Contexto ambiental - Estructura del zooplancton -  
Bioensayos de acumulación de Cr -**

## 6.1. Contexto ambiental

### *Granulometría*

En el río el sedimento fue preponderantemente arenoso. La menor cantidad de arena (2 %) se registró en el Arroyo Las Prusianas, donde el sedimento estuvo casi únicamente formado por limo y arcilla. El contraste en la composición granulométrica del río Salado en relación al resto de las estaciones de muestreo revela la diferencia de hábitat que generan los ambientes lóticos, con predominio de la fracción arena respecto a los ambientes leníticos y menos profundos, donde la fracción del componente arena fue menor.

### *Eutrofización*

Los nutrientes (N y P) fueron mayores en todos los sitios de muestreo excepto en el sitio de referencia (Figura 3, pág. 60), indicando un proceso de eutrofización. Los resultados de investigaciones previas comunican que la tasa 0,95:1 entre amonio y nitrato en el río Salado es menor que aquella encontrada en cuerpos de agua no contaminados, incluida la llanura de inundación del río Paraná. Este hecho podría ser interpretado como el producto de una improbable mayor productividad biológica, o la consecuencia de la contaminación antrópica (Maglinesi y Depetris, 1979).

Con respecto a los nitritos, se registraron tanto valores muy bajos (SCH, NCH, LP2 y SJSR) como muy altos (en LP1). Contrariamente, los fosfatos mostraron escasa variabilidad y valores muy bajos en las dos estaciones del río Salado, que podría deberse a la mayor dilución por el mayor caudal.

### *Concentración de metales pesados*

Como se observó en la figura 7, existe un aumento muy importante de Cr y Cr(VI) a lo largo del gradiente hidrológico de los sitios de muestreo desde los canales hasta el río Salado en Manucho. Contrariamente en San Justo (sitio de referencia) los valores medios estuvieron muy por debajo de los registrados en los sitios más contaminados con ambas especies químicas.



Por otro lado el Cr en agua en los sitios de muestreo no fue mayor al nivel guía canadiense (8,9  $\mu\text{g/l}$ ) o argentino (44  $\mu\text{g/l}$ ). Sin embargo, el Cr(VI) en agua mostró valores (1-3  $\mu\text{g/l}$ ) mayores al nivel guía canadiense (1,0  $\mu\text{g/l}$ ) pero no al argentino (2,5  $\mu\text{g/l}$ ) en todos los sitios de muestreo (Tabla 8).

SEDIMENTOS	Cr	Cr (VI)	Pb	Cu	Cd
Nivel guía canadiense ( $\mu\text{g/g}$ )	37,3	s.d.	35	35,7	0,6
Nivel guía argentino ( $\mu\text{g/g}$ )	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.

AGUA	Cr	Cr (VI)	Pb	Cu	Cd
Nivel guía canadiense ( $\mu\text{g/l}$ )	8,9	1	1-7	2-4	0,017
Nivel guía argentino ( $\mu\text{g/l}$ )	44	2,5	0,13	6,6	0,12

Tabla 8: Niveles guía canadiense y argentino para sedimentos y agua. Canadian Environmental Quality Guidelines (2003).

El Cr (VI) fue siempre alto en Canal Sur y en Manucho en primavera (4,6 y 4,8  $\mu\text{g/l}$  respectivamente) y en San Justo (2,5  $\mu\text{g/l}$ ). Este metal siempre tuvo valores por encima de los estándares permitidos, inclusive en el sitio de referencia. Las concentraciones de Cr y Cr (VI) indican contaminación industrial. Aunque en Argentina no se poseen valores guía de metales pesados para sedimentos (Tabla 8), una comparación con el estándar canadiense (37,3  $\mu\text{g/g}$ ; CEPA, 2003) indica que todos los sitios de muestreo están contaminados con Cr, a excepción del sitio de referencia (13,1  $\mu\text{g/g}$ ) Sin embargo, la aplicación del *Igeo* mostró una situación muy diferente, indicando que aún el sitio de referencia está contaminado con Cr.

La figura 16 muestra los valores del Índice de Geoacumulación (*Igeo*) para cada sitio de muestreo, a partir de datos de metales pesados en sedimentos

Contexto ambiental

registrados en este trabajo y calculado –como se expuso en el apartado 4.1.3.5, pág. 47- tomando como referencia los valores de concentración de metales pesados en sedimentos de cursos de agua pertenecientes a la cuenca del río Paraná, que incluye al río Salado.

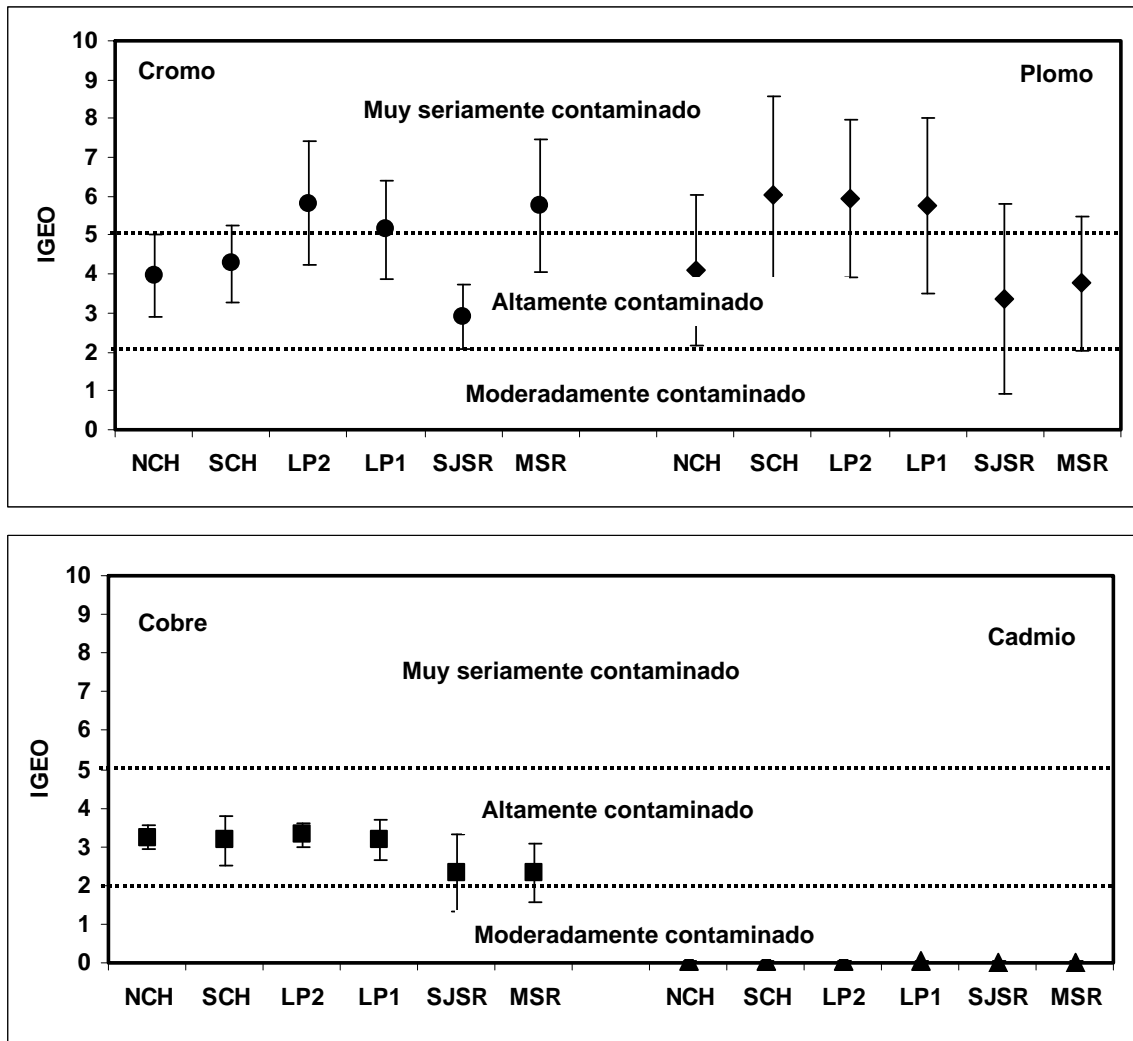


Figura 16: Valores del Índice de Geoacumulación (*Igeo*) para Cr, Pb, Cu y Cd de los seis sitios de muestreo.

Los valores del *Igeo* para Cr y Pb variaron entre "altamente contaminado" y "seriamente contaminado". Los sitios más contaminados con Cr fueron Las Prusianas y Manucho, y con Pb, Canal Sur y Las Prusianas. San Justo, el sitio inicialmente tomado como referencia, resultó estar altamente contaminado con ambos metales pesados. Por otro lado, la contaminación por Cu, como está indicado por el *Igeo*, fue elevada en todos los sitios aunque menor en el sitio de referencia. Contrariamente, de acuerdo con la evaluación realizada con el *Igeo*, el río Salado inferior no estaría contaminado con Cd.

A partir de las evidencias entregadas, es posible afirmar que los sedimentos de toda la cuenca del río Salado inferior exhiben concentraciones de metales pesados mayores que los del sitio de referencia. En agua, se encontraron diferencias significativas entre Las Prusianas y Canal Norte en comparación con el sitio de referencia. Esto indica que el agua del sistema de Las Prusianas y del Canal Norte, está contaminada con metales pesados en comparación con el sitio de referencia; aunque Manucho y Canal Sur no fueron significativamente diferentes, los valores de *p* estuvieron cercanos al valor de significancia.

Las muestras fueron recolectadas en sedimentos de fondo del río que no pueden ser definidos estrictamente como sedimentos de acumulación (del tipo de los sedimentos lacustres) porque la cantidad de sedimentos de fondo de un cuerpo de agua lóxico depende de la intensidad relativa del proceso de erosión, transporte y depositación. Tomando en cuenta el caudal relativamente bajo de algunos de los cuerpos de agua estudiados, podemos asumir que la concentración de Cr en sedimentos puede estar influenciada al menos parcialmente por la contaminación histórica. Sin embargo, los valores más altos de Cr se encontraron en los sedimentos del canal principal del río, aguas debajo de la ciudad de Esperanza, donde, debido a su mayor caudal, la erosión y el transporte son más importantes que la depositación. Tal como señalaran Alkhatib y Castor (2000) es ampliamente conocido el incremento en la resuspensión de metales pesados (Cd, Cu, Cr, Ni y Pb en el estudio citado) cuando aumenta la resuspensión de los sedimentos al aumentar la corriente.

La Figura 17 muestra que todos los sitios de estudio, incluyendo el sitio control (San Justo), están contaminados con Cr, Pb y Cu, pero no con Cd. El gráfico muestra que Cd, Cr(VI), Pb y Cu, tienden a asociarse más con la concentración de material orgánico que con la granulometría del sedimento y que por otro lado el Cr total -constituido mayormente por Cr(III)- no tiene afinidad aparente por ninguno de los otros parámetros analizados. Es decir, el Cr total es representativo de lo que podríamos denominar “contaminación histórica” y está ampliamente disperso en todo el sistema.

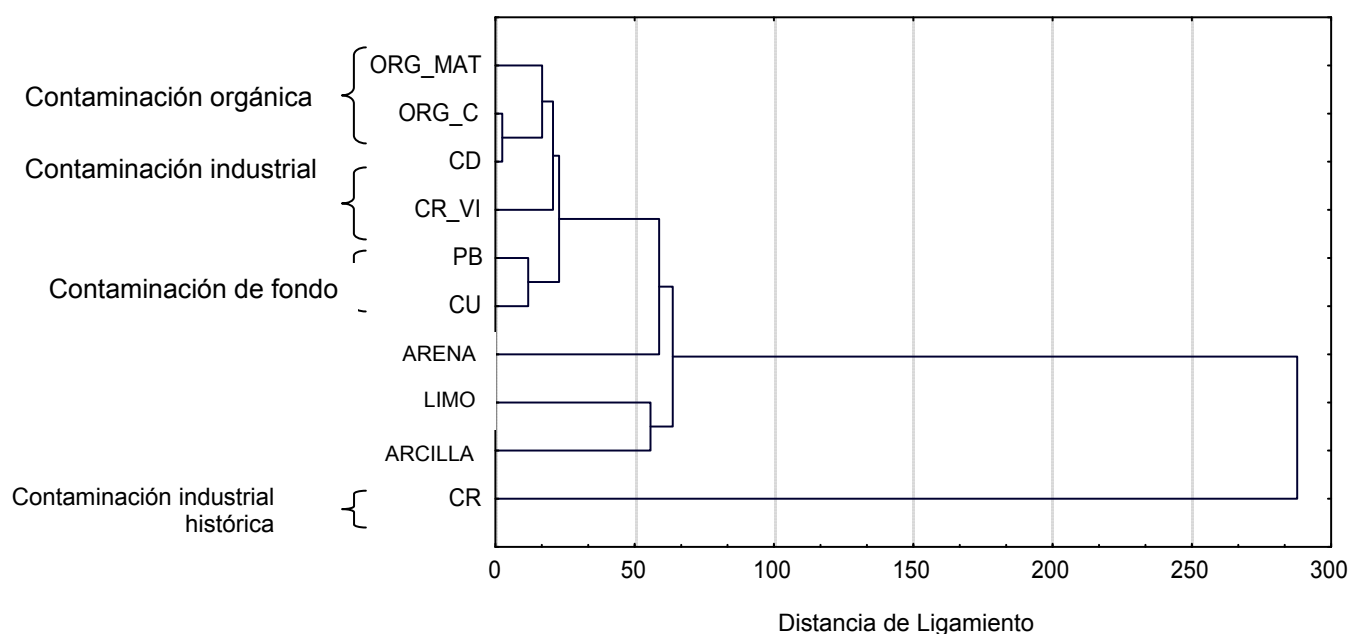


Figura 17: Análisis de la asociación, como Distancia Euclidiana, entre las concentraciones de metales pesados y varias características ambientales del agua y los sedimentos expresado a través de un dendrograma construido mediante el método UTPGMA.

La ubicación muy alejada del Cr en el análisis de conglomerados (Fig. 17) muestra este hecho y puede interpretarse como la contaminación histórica de la cuenca estudiada. Los tres sitios de muestreo relacionados con el volcado de efluentes de curtiembres (el arroyo Las Prusianas y el tramo del río Salado por debajo de la unión con la cuenca del Cululú) mostraron una concentración muy superior a la de los otros sitios de referencia. Una posible explicación es que la curtiembre más importante en la región estudiada ha utilizado, históricamente, grandes cantidades de Cr en sus procesos industriales.

En el análisis de conglomerados (Fig. 17), el Cu y el Pb aparecen estrechamente relacionados porque mostraron altas concentraciones medias en los tributarios pero valores bajos en el río Salado (Fig.7 y Tabla 2).

Las mayores concentraciones en los sedimentos de los tributarios podrían ser interpretadas como una consecuencia de su menor capacidad de dilución por su menor caudal, entre 5 a 10 veces menor que la del eje principal del río Salado. Estos valores muestran que a pesar de ser mayores a la del promedio mundial para suelos (Cu: 0,03  $\mu\text{g/g}$ ; Pb: 0,019  $\mu\text{g/g}$  según Summer, 2000), no sobrepasan los niveles guía internacionales, tales como el nivel guía canadiense (Tabla 2).

Sin embargo, todas las concentraciones registradas en sedimentos no fueron bajas. Una posible explicación de este hecho podría ser la progresiva acumulación de estos metales pesados debido al lavado de suelos en los que desde hace años se practica el control de plagas con el uso de agroquímicos que contienen arseniato de plomo y sulfato de cobre, además del aporte de talleres metalúrgicos instalados en la zona. El Cu en agua fue siempre alto (media: 3,3-11,3  $\mu\text{g/l}$ ) y mayor al estándar canadiense (2-4  $\mu\text{g/l}$ ). Esta situación se confirmó con los valores del *Igeo* que mostró que todos los sitios estudiados están altamente contaminados con Cu (Fig. 16).

Debido al método analítico utilizado, no pudieron determinarse concentraciones  $< 4 \mu\text{g/l}$  en agua, por lo tanto no podemos afirmar, sin lugar a dudas, que las concentraciones de Pb en Manucho y Canal Sur son mayores al estándar argentino. Sin embargo el *Igeo* mostró que todos los sitios estudiados están altamente o muy seriamente contaminados con este metal.

Aunque la concentración promedio de Cd en Las Prusianas fue mayor que en el resto de los sitios estudiados, el *Igeo* para Cd mostró que no puede considerarse que estén contaminados con Cd. Este metal parece estar asociado a las partículas de limo del sedimento. Los análisis de correlación sugieren que el tamaño de las partículas del sedimento, principalmente de arcilla y arena, así como el contenido de carbono, está relacionada a la presencia de metales pesados en sedimentos, probablemente vinculados al proceso de adsorción (Fig. 7 y Tabla 5). El Cd en agua mostró valores mayores a los estándares en Manucho (máximo  $1,9 \mu\text{g/l}$ ; media:  $0,85 \mu\text{g/l}$ ).

La liberación de metales pesados desde los sedimentos hacia la columna de agua y consecuentemente hacia la biota dependerá de la especiación (es decir, los metales pueden precipitar, formar complejos por competencia con otros ligandos, adsorberse, o solubilizarse) y estos procesos dependen a su vez de otros factores tales como el pH y las características físicas y químicas del agua del sistema (Sigg y Xue, 1994; Luoma, 1995; Filella y col., 1995; Gagneten y Vila 2001; Ikem y col., 2003). Sin embargo, el agua mostró una tendencia hacia la alcalinidad (7,5-8) por lo que es posible inferir que los metales pesados en agua probablemente provengan de descargas industriales y no de la solubilización a partir de los sedimentos de fondos en la columna de agua.

Otros autores también han realizado estudios recientes en el mismo sistema objeto del presente estudio. Gallo y col., (2006) registraron grandes variaciones en la concentración promedio de Cr -que los autores atribuyen a inputs intermitentes en la carga de metales pesados de origen antropogénico- entre  $<10\mu\text{g/l}$  y  $30\mu\text{g/l}$  en el arroyo Cululú. En el río Salado registraron entre 18,8 y  $12,1 \mu\text{g/l}$ . En el punto de descarga de efluentes, cerca de la ciudad de

Esperanza (que corresponde al sitio MSR en este estudio), registraron una muy alta concentración de Cr: 4.573  $\mu\text{g Cr/l}$ . Además, los autores señalan que la descarga, al ser directa, representa un alto impacto, principalmente durante las aguas bajas del río Salado.

En nuestro país, se han realizado estudios de competencia entre metales pesados y contenido de materia orgánica (MO) de sedimentos estuariales. Por ejemplo, Ferrer y col., (2000) encontraron correlaciones lineales fuertes y altamente significativas entre MO y Cu, Zn, Cr. La afinidad con Cd y Pb fue menor que con los metales previamente mencionados. Sin embargo, el estudio de las interacciones de los metales pesados con los sedimentos de sistemas acuáticos continentales no han recibido igual atención, lo que indica la necesidad de encarar este tipo de estudios, dada la histórica costumbre de utilizar a los ríos como sumideros de contaminantes industriales de distinto origen.

En este contexto, y en relación con el sistema objeto de estudio de esta tesis, cabe destacar que además de la carga contaminante que ingresa al río Salado en su tramo inferior a través del arroyo Cululú, se produce un aporte importante de contaminantes provenientes de la ciudad de Esperanza a través del canal 1° de Mayo –que desemboca en el río Salado en el sitio de MSR- el cual transporta la mayor parte de los efluentes industriales de la ciudad de Esperanza y las descargas de camiones atmosféricos. Así, y a pesar de la gran capacidad de dilución del río Salado, el sitio de muestreo en Manucho fue uno de los más contaminados con metales pesados en agua, junto con Las Prusianas y Canal Sur.

En Las Prusianas el caudal y la calidad del agua son mucho menores: mínimos tenores de oxígeno disuelto, alta dureza, y elevados valores de ST y DQO. Esta situación fue coincidente con lo analizado en estudios previos (Gagneten y Ceresoli, 2004) y corresponde a ambiente mesosaprobios y polisaprobios (Margalef, 1983). Por otro lado, Gallo y col., (2006) registraron niveles de ST entre 1.640 y 3.520 mg/l en el río Salado y entre 1.800 y 5.660 en

el arroyo Cululú, es decir, en el mismo orden de magnitud a los comunicados en este estudio.

La contaminación orgánica es originada por los efluentes que provienen de lecherías y fábricas de productos de cuero. Bajo estas condiciones, puede producirse una competencia directa con los iones metálicos libres en agua, como predice la teoría del intercambio de ligandos (Xue y col., 1995a).

Las concentraciones de todos los metales pesados en sedimentos y en algunas oportunidades en agua, fueron mayores a las concentraciones máximas permitidas. En Manucho, los valores registrados fueron 90 veces mayores a los de la norma canadiense. El estándar para Pb y Cu fue sobrepasado en Canal Sur y para Cd en Las Prusianas (52 veces).

El Índice de Geoacumulación fue más indicativo del estado de contaminación que los valores estándares. De aquí se desprende la relevancia de establecer estándares referidos a situaciones ambientales regionales.

Por otro lado, la contaminación del río Salado inferior mostró una relación muy estrecha entre el impacto adverso de los metales pesados y del proceso de eutrofización.

En síntesis, y como consecuencia del análisis del contexto ambiental de esta tesis, se acepta la **Hipótesis 1**: En los sitios con mayor impacto antrópico (Arroyo Las Prusianas, río Salado en Manucho, y Canales Norte y Sur de la ciudad de Rafaela) los niveles de metales pesados fueron mayores a los del sitio de referencia (río Salado en San Justo). El gradiente de contaminación fue: Las Prusianas > Manucho > Canal Sur > Canal Norte > San Justo.



## 6.2. Estructura del zooplancton: Densidad, biomasa, riqueza y diversidad de especies

### 6.2.1. Densidad

Como se mencionara en el apartado 4.1.4.3, correspondiente al análisis cuantitativo y estadístico de los atributos de la comunidad, la información obtenida del análisis de la fracción animal de la comunidad planctónica estuvo destinada a responder a lo que se planteó en la Hipótesis 2, utilizando los atributos de la comunidad como indicadores del posible efecto negativo de la contaminación de los cuerpos de agua estudiados.

La densidad total promedio de organismos fue significativamente mayor en el sitio de referencia (San Justo=2,73 ind./l) que en los sitios contaminados 0,31; 0,07; 0,03; 0,62 y 0,63 en Canal Norte, Canal Sur, Las Prusianas 2; Las Prusianas 1 y Manucho respectivamente ( $p < 0,002$ ; 0,0002; 0,0001; 0,0013 y 0,0015 respectivamente).

En general, la abundancia total del zooplancton fue baja, si se la compara con otros ambientes acuáticos de la región (cuenca del río Paraná que incluye al río Salado). Los valores de densidad registrados por otros autores muestran que es mayor en cuerpos de agua leníticos que lóticos, en cauces secundarios que en el cauce principal de los ríos, y en aguas bajas que en altas (José de Paggi y Paggi, 2007). En este sentido, José de Paggi y Paggi, (1998) registraron 750 ind./l en una laguna que recibe aportes permanentes de nutrientes y materia orgánica que se encuentra vinculada por desbordes al río Salado. Por otro lado, Paggi y José de Paggi, (1990) registraron entre 10 y 148 ind./l en el cauce principal del río Paraná, pero comunican que valores entre 10-100 ind./l son frecuentes para el zooplancton litoral (Paggi y José de Paggi, 1974); entre 3,74 -17,1 ind./l en el cauce principal y 25 ind./l en un cauce secundario del río Paraná (José de Paggi,

1988); se obtuvieron valores entre 148 y 400 ind./l en el tramo medio del río Paraná (José de Paggi, 1984) o entre 33,67 y 327,2 ind./l en el mismo tramo.

Por otro lado, para cauces secundarios del Paraná medio, José de Paggi, (1981) comunica una densidad de entre 1 y 10 ind./l en épocas de creciente y de 100-500 ind./l en aguas bajas. En el mismo trabajo, indica una densidad promedio de 100 ind./l para el río Salado. En este río la densidad aumenta considerablemente en zonas con enriquecimiento orgánico (José de Paggi y Paggi, 1998).

De igual manera, la mayor abundancia de planctones encontrada en el río Salado en Manucho y San Justo puede relacionarse con algunos parámetros fisicoquímicos y el estado trófico del sistema. La turbiedad, directamente relacionada con la presencia de material orgánico (detritus y bacterias, aprovechables como alimento por el zooplancton), se correlacionó positivamente con la densidad total del zooplancton ( $r=0,54$ ,  $p=0,006$ ) y su riqueza ( $r=0,67$ ,  $p=0,0003$ ).

Otros parámetros físicos y químicos que establecen condiciones que podrían resultar limitantes para el zooplancton son la profundidad y la temperatura (Gillooly, 2000, Hobæk y col., 2002, José de Paggi y Paggi, 2007).

La profundidad, que podríamos interpretar como representativa de su caudal, notablemente mayor en el tronco principal de río Salado, mostró correlaciones positivas con la densidad del mesozooplancton ( $r=0,67$ ,  $p=0,0001$ ) y con la diversidad y su componente de riqueza ( $r=0,63$ ,  $p=0,0001$  y  $r=0,70$ ,  $p=0,001$ , respectivamente). La mayor profundidad vinculada a un mayor caudal en ríos de llanura, que están sujetos a inundaciones periódicas, también sugiere la posibilidad de cobertura de un área mayor en épocas de desborde. Durante estos eventos, se produce el aporte de especies provenientes de lagunas y bañados con distinto grado de extensión, profundidad y conectividad con el río.

La temperatura estuvo relacionada positivamente con la densidad del microzooplancton ( $r=0,39$ ,  $p=0,05$ ) y con la diversidad y su componente de

riqueza ( $r=0,56$ ,  $p=0,004$  y  $r=0,56$ ,  $p=0,0004$ , respectivamente) probablemente debido a la alta tasa de crecimiento poblacional de los rotíferos, organismos dominantes del microzooplancton. La densidad de microzooplancton, y fundamentalmente de rotíferos que tienen ciclos biológicos cortos, se ve favorecida por la ausencia de cladóceros los que a su vez posiblemente han sufrido la presión de la depredación por peces, los cuales no están presentes en los canales y su presencia es escasa en los arroyos. En el río Salado, las especies ícticas más representativas son: *Pimelodus albicans* (“moncholo”), *Parapimelodus valenciennes* (“porteñito” o “bagarito”), *Hoplias malabaricus* (“dientudo”), *Prochilodus lineatus* (“sábalo”), y *Astyanax* spp. (“mojarra”) (Del Barco, comunicación personal). Por otro lado, debe tenerse en cuenta que los peces ovipositan y tienen sus crías en las épocas del año con más altas temperaturas, como ha sido señalado por Oliveros (1980), quien además sostiene que las larvas y juveniles de peces depredan selectivamente sobre cladóceros.

La salinidad y la conductividad, indicadores de la cantidad de los sólidos disueltos, parecerían tener un efecto negativo sobre la abundancia y la riqueza del zooplancton si se las compara con aquellas del sistema del río Paraná. Este patrón estaría vinculado a la elevada salinidad del río Salado, que, como su nombre lo indica, impone condiciones limitantes para el establecimiento de poblaciones pertenecientes al sistema del río Paraná, adaptadas a condiciones de baja salinidad. Al no registrarse variaciones importantes en la conductividad y salinidad entre sitios, las correlaciones con la abundancia, biomasa, riqueza y diversidad no resultaron significativas. El pH y la dureza del agua tampoco fueron importantes en la estructuración de la comunidad ya que no mostraron relación significativa con los parámetros biológicos medidos.

En esta línea de evidencia, Depetris (1976) comunicó que la concentración de sales del río Paraná fue de 79,8 mg/l y en Depetris y Pasquini (2007), que su conductividad, medida entre 1981 y 1984 en la ciudad de Paraná varió entre 30 y 110  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Por otra parte, Gallo y col., (2006) en la misma región y período de nuestro estudio (entre Junio 2000 y Noviembre 2001) registró en el

río Salado altos niveles de materia orgánica y conteos de bacterias, así como significativas concentraciones de sales en sedimentos de la cuenca y en consecuencia altas concentraciones de sólidos totales suspendidos (hasta 12.000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  en aguas medias). En un trabajo más reciente, Marchese y col., (2008) confirmaron que el río Salado se caracteriza por su elevada conductividad, con un valor máximo de 3.100  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .

El oxígeno disuelto presentó una relación positiva con la densidad total ( $r=0,42$ ,  $p=0,04$ ) y con el mesozooplancton ( $r=0,50$ ,  $p=0,01$ ) pero no con el microzooplancton ( $r=0,26$ ,  $p=0,20$ ). Esto indica por un lado que el microzooplancton sería más tolerante a la deficiencia de OD que la fracción mayor. Es ampliamente conocido que los rotíferos resisten un amplio rango de concentraciones de oxígeno (0.6–13.3 mg  $\text{O}_2/\text{l}$ , Mikschi, 1989, Duggan y col., 2001, Pecorari y col., 2006). Por otro lado, el mayor tenor de oxígeno permitió el mejor desarrollo de mesozooplancton registrado en Manucho y San Justo. El OD también mostró una relación significativa con la diversidad y su componente de riqueza ( $r=0,39$ ,  $p=0,05$  y  $r=0,39$ ,  $p=0,058$ , respectivamente), ambos con sus mayores niveles en Manucho y San Justo. La falta de correlación con el microzooplancton puede deberse a la abundancia de materia orgánica y de bacterias, que disminuyen la concentración de OD y son aprovechables como alimento por el mesozooplancton.

Un trabajo previo (Gagneten y Ceresoli, 2004) realizado en los tributarios también mostró que la concentración de oxígeno disuelto fue muy baja (1,6 mg $\text{O}_2/\text{l}$ ) en SCH en correspondencia con el DBO más alto (45,8); los valores de materia orgánica fueron elevados (entre 200 y 256 mg/l) aunque no muy diferentes entre los sitios de muestreo; el DBO presentó valores muy elevados en SCH y elevado en Las Prusianas, correspondiendo como fuera señalado previamente, a ambientes polisaprobios y mesosaprobios respectivamente según Margalef (1983).

Por otro lado, en los tributarios, el mayor aporte de metales pesados, unido al déficit de oxígeno en LP pudo ser la causa del escaso desarrollo de la asociación de especies analizada. A pesar de la elevada concentración de

materia orgánica, que podría significar mayores recursos disponibles para el zooplancton, en especial para los organismos filtradores (Gulati y Demott, 1997; Gliwicz, 1990; Nogrady y col., 1993; Ravera, 2001), la densidad en NCH, SCH, LP2 y LP1 fue muy baja, lo que sugiere un efecto tóxico de los metales pesados. Asimismo, en los dos ambientes con mayor nivel trófico (SCH y LP2), la diversidad específica fue más baja, probablemente por efecto combinado del incremento de las especies resistentes o tolerantes y la disminución de las más sensibles (Ravera, 1996).

El eje principal del río mostró elevada densidad, riqueza, biomasa y mesozooplancton tanto en Manucho como en San Justo, el sitio originariamente tomado como referencia. Es decir, en Manucho y San Justo la comunidad encontró mejores condiciones para su desarrollo, como lo resume el análisis de agrupamiento (Distancia Euclidiana - UPGMA) de todas las variables biológicas y de la concentración de metales pesados en agua y sedimento que se muestra en la Figura 18. El río Salado en Manucho y San Justo mostró mayor distancia de ligamiento y se separó claramente de sus tributarios -canales y arroyos-. Por otra parte, Las Prusianas con sus dos sitios de muestreo cercanos a la ciudad de Esperanza, se separó de los canales Norte y Sur de la ciudad de Rafaela.

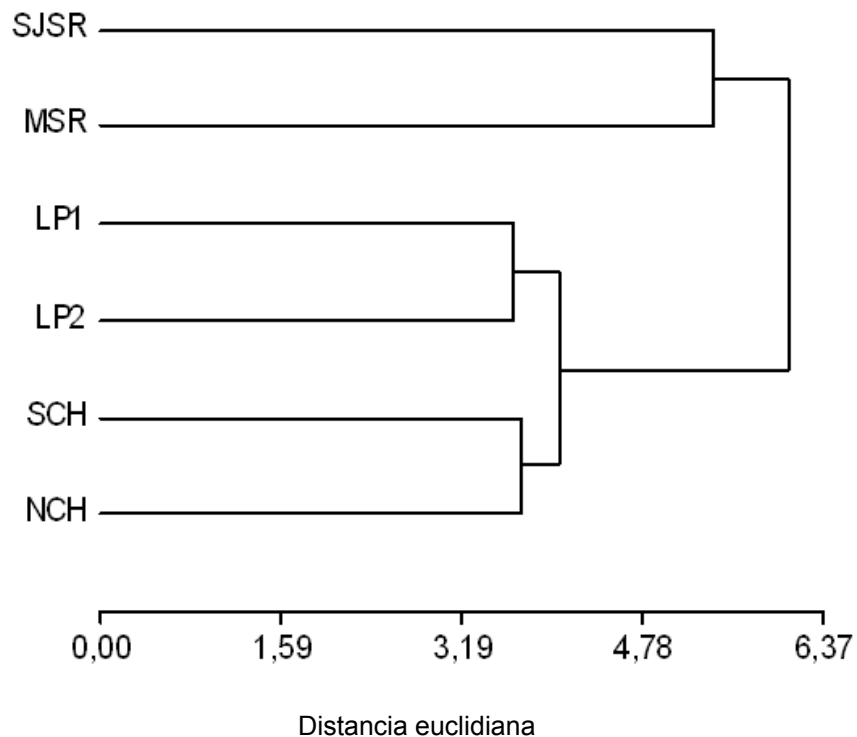


Figura 18: Análisis de la asociación, como Distancia Euclidiana, entre los parámetros biológicos y las concentraciones de metales pesados en agua y sedimentos, expresado a través de un dendrograma construido mediante el método UTPGMA.

Marchese y col. (2008) en un estudio reciente desarrollado en la misma área del presente estudio, analizaron las concentraciones de Cr en agua y sedimentos de fondo en el eje principal del río Salado y en su llanura de inundación, así como el efecto sobre los invertebrados bentónicos. Las concentraciones de Cr en sedimentos variaron entre 44,2 y 209  $\mu\text{g Cr/g}$  (peso seco), alcanzando los valores más altos en la llanura de inundación. Los valores de Cr total en agua siempre fueron mayores a los valores guía de la Subsecretaría de Recursos Hídricos de Argentina para la biota acuática ( $<2,5 \mu\text{g/L}$ ). Por otro lado, los autores concluyen que el área de referencia (San Justo) también mostró,

aunque en niveles más bajos, como en nuestro estudio, signos de contaminación que excedieron las normativas dadas por CEPA (2002) ( $37.3 \mu\text{g/g}$ ) en sedimentos, donde viven los invertebrados bentónicos.

#### ***Sensibilidad de cladóceros, copépodos y rotíferos***

Un patrón observado respecto a la prevalencia de rotíferos, cladóceros o copépodos en estudios regionales, indica que los rotíferos son dominantes en ambientes tanto leníticos como lóticos, pero que la abundancia relativa de crustáceos aumenta en aguas quietas (Paggi y José de Paggi, 1990). Sin embargo, un importante factor estructurante de la comunidad y de la abundancia de sus poblaciones es el deterioro de la calidad química del agua. Gama-Flores y col., (2006) sugieren que si bien la competencia entre poblaciones del zooplancton es un fenómeno natural en el que los cladóceros habitualmente son competitivamente superiores, los factores antropogénicos tales como el volcado de efluentes industriales pueden modificar esta interacción. Nuestros datos indican que los metales no afectaron por igual a los distintos componentes del zooplancton: los cladóceros fueron los más afectados por metales pesados, en tanto que los copépodos y rotíferos resultaron ser los más resistentes. El factor limitante para el desarrollo de crustáceos, en especial de cladóceros, en los afluentes, menos profundos y caudalosos que el eje principal del río, fue el elevado grado de contaminación por metales pesados registrado tanto en agua como en sedimentos. Los metales pesados podrían explicar la baja ocurrencia de copépodos y la casi ausencia de cladóceros en los tributarios y su mayor representatividad en el río, a pesar de su mayor turbulencia.

Otros autores en ensayos de laboratorio, también registraron que los metales pesados afectan en mayor medida a los cladóceros que a los copépodos. Estos últimos son relativamente tolerantes a la acción tóxica de metales pesados habiéndose demostrado además que las formas adultas son más resistentes que los copepoditos y nauplios (Roch y col., 1985). Datos disponibles de lagos contaminados indican que el tiempo de residencia de metales pesados en el

epilimnion puede ser alto: Coale y Flegal (1989) registraron para el Cu, Zn, Cd y Pb un tiempo de residencia de 660, 23, 20 y 4 días respectivamente. Fleming y Trevors (1989) indican una concentración media de sólo 3,0 µgCu/l para los sistemas acuáticos no contaminados del mundo, valor que fue superado en todos los puntos de muestreo en este estudio. El Pb se encontró mayoritariamente en el sedimento tal como lo indicado por WHO (1989) que sostiene que en sistemas acuáticos contaminados, casi todo el Pb está fuertemente ligado a los sedimentos. En cuanto al Cr, el valor medio en agua dulce a nivel mundial es de 0,00018 ppm (=0,018 µg/L) (Rollinson, 1973), valor superado entre 55 veces (1 µg/l en SCH y LP2) y 775 veces (13,6 µg/l en LP1) en este estudio.

En sedimentos se registraron valores de Cr hasta 21 veces mayores a los estándares permitidos, siendo alto en NCH, SCH, LP2, LP1 y MSR que corresponderían tanto a contaminación actual como histórica. Además de la reconocida importancia de la materia orgánica en el proceso de captura de metales pesados de la columna de agua y posterior depositación en los sedimentos, la biota también podría actuar secuestrando los metales pesados en suspensión. Es posible que el zooplancton represente un componente importante de este proceso dada su elevada relación superficie-volumen por unidad de masa y su alta tasa metabólica (Ravera, 2001). Esto estaría vinculado a una gran mortandad de los organismos que en nuestro trabajo se registró en forma indirecta por disminución de abundancia, biomasa, riqueza y diversidad de especies.

La baja correlación de las variables biológicas con los metales pesados en agua indica que la contaminación del agua es puntual, por lo tanto el sistema puede estar contaminado y esta situación no necesariamente se estaría reflejando en la biota. En cambio, el sedimento actúa como sumidero de los metales pesados, mostrando en este caso, correlaciones positivas entre concentración de metales en sedimentos y las variables biológicas estudiadas.

En una experiencia de enriquecimiento con metales pesados en limnocorales, Kerrison y col., (1988) encontraron que el Cu permaneció más



tiempo en la columna de agua ampliamente asociado a material particulado suspendido, en tanto que el Cd permaneció más tiempo en solución. Sin embargo tal situación ocurre a corto plazo en tanto que a largo plazo el Cd puede terminar ligándose a partículas de sedimentos de tamaño intermedio (limos), tal como lo muestran nuestros resultados. Los mencionados autores mostraron que los copépodos fueron más tolerantes al Cu y más sensibles al Cd, en tanto que los rotíferos mostraron una sensibilidad inversa.

Por otro lado, cabe considerar que los cuerpos de agua analizados son polimícticos, es decir que en ellos se produce una recirculación de los elementos del fondo. Los organismos zooplanctónicos, a excepción de los copépodos ciclópodos y de los rotíferos depredadores, en su gran mayoría son filtradores, consumidores de partículas, con régimen alimentario de tipo micrófago. Así, cuando se trata de cuerpos de agua poco profundos, como es el caso que se presenta en este trabajo, el sedimento se resuspende con relativa facilidad. Al estar los metales pesados ligados a la materia orgánica, éstos pueden ser incorporados a la biomasa zooplanctónica por vía trófica. Es tal el grado de importancia del detritus como compartimiento trófico de los sistemas acuáticos de la región, que *Prochilodus lineatus* (“sábalo”) el pez que representa entre el 50 % y el 60 % de la ictiomasa de la cuenca del río Paraná tiene un régimen de tipo micrófago detritívoro (Oldani, 1990). El río Salado tiene mayor carga de materia orgánica que su cauce receptor, el río Paraná, pero la materia orgánica, aprovechable en principio como alimento por el zooplancton, en este caso al estar asociada a metales pesados, podría tener un efecto negativo sobre la biota.

Es preciso destacar que no sólo la comunidad zooplanctónica se ve afectada por la concentración de metales pesados en agua y sedimentos de fondo. *Prochilodus lineatus* (“sábalo”) tiene gran relevancia en la dieta de pobladores locales, especialmente en familias de escasos recursos económicos. Es ampliamente reconocido el efecto benéfico que la incorporación de peces a la dieta tiene sobre la salud humana: además de ser una importante fuente de proteínas, contienen ácidos grasos que reducen el riesgo de ciertos tipos de enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, el consumo de peces es una ruta

muy importante de exposición a químicos tóxicos, especialmente en niños, por su mayor absorción intestinal. Algunos de los problemas que se asocian a este consumo son disfunciones neurológicas y alteración de parámetros reproductores (Ikem y col., 2003).

A partir del reconocimiento de la importancia del proceso de biomagnificación de metales pesados, en los últimos años se han intensificado los estudios que incluyen la distribución de los metales en la biota característica de cada ambiente. Marcovecchio (2004) destaca una relación muy estrecha entre el contenido de metales pesados de dos especies ícticas estudiadas en el Río de la Plata y sus hábitos tróficos y ecológicos. Las concentraciones del metal suelen ser mayores en la biota que en el agua, y las consecuencias ecológicas que pueden apreciarse son más exactas que si se estudian únicamente los compartimientos abióticos (Prosi, 1983 en Marcovecchio y col., 1988). En tal sentido, en experiencias de laboratorio pudo determinarse bioconcentración de Cr en el segmento de la cadena trófica de agua dulce representado por *Daphnia magna*-*Cnesterodon decemmaculatus* (Gutiérrez y col., 2008). El patrón de bioacumulación registrado podría continuar en niveles tróficos superiores como por ejemplo en peces ictiófagos.

### 6.2.2 Biomasa

En este trabajo se observó que si bien los rotíferos fueron dominantes numéricos, la mayor biomasa fue aportada por los copépodos. En sistemas no contaminados los crustáceos tienen un rol fundamental en la estructuración de la comunidad. En este sentido, Fussmann (1996) indica que la abundancia de rotíferos disminuye por la depredación de copépodos ciclópodos y calánidos además de competir en muchos casos por el recurso algal y que por otro lado, los cladóceros disminuyen las poblaciones de rotíferos tanto por competencia trófica como por interferencia mecánica. Sin embargo, nuestros datos indican que la contaminación antrópica resulta ser un factor de estructuración de mayor importancia que los factores biológicos interactuantes. En muchos casos puede

incluso revertir sus efectos y determinar la prevalencia de poblaciones más tolerantes. Así, en el presente estudio la comunidad pasó a estar dominada por organismos *r* estrategias u “oportunistas”, representados por rotíferos y larvas nauplios.

La biomasa absoluta decreció en el orden Copepoda>Cladocera>Rotifera. La mayor biomasa se concentró en las estaciones localizadas en el eje principal del río Salado. Entre sitios de muestreo, la biomasa absoluta se ordenó de acuerdo al siguiente orden jerárquico: SJSR > MSR > LP1 > SCH > NCH > LP2 con 11,1; 4,9; 2,7; 1,5; 1,1 y 1,0  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  respectivamente. La densidad absoluta siguió un patrón de distribución similar: SJSR>MSR>LP1>NCH>SCH>LP2 con 0,86; 0,63; 0,62; 0,31; 0,07 y 0,03 ind./ $\text{m}^3$  respectivamente.

En el río Paraná Medio se registraron mayores valores de biomasa: Paggi y José de Paggi, (1990) entre 8 y 420  $\mu\text{g}/\text{l}$  peso seco, con un promedio de 95  $\mu\text{g}/\text{l}$ . Para cauces secundarios del río Paraná, José de Paggi, (1981) registró entre 0,26 y 58,8  $\mu\text{g}/\text{l}$  peso seco. Si bien el porcentaje atribuible a los crustáceos fue mayor, los rotíferos fueron en general los dominantes. La evidencia recogida en el presente trabajo indica que la biomasa fue mucho menor en comparación con sistemas menos contaminados de la región. Este patrón es contrario a lo registrado para la densidad, lo que estuvo vinculado, como ya fuera mencionado, al establecimiento y proliferación de especies de pequeña talla.

La correlación entre la densidad y la biomasa fue de 0,84 ( $p=0,0001$ ); siendo de 0,55 ( $p=0,005$ ) con la fracción macro y de 0,94 ( $p=0,0001$ ) con la fracción micro es decir que el principal responsable de la vinculación entre biomasa y densidad fue el microzooplancton.

Roch y col., (1985) encontraron una correlación inversa ( $r= -0,759$ ) entre la biomasa zooplanctónica y la concentración de metales pesados en lagos y ríos canadienses. Nuestros datos mostraron también correlaciones negativas, algo más bajas pero significativas, entre la biomasa de copépodos y las concentraciones de Cu y Pb en sedimentos ( $r= -0,50$ ;  $p= 0,01$  y  $r= -0,40$   $p$ ; 0,05 respectivamente). Otra correlación significativa se encontró entre densidad de

rotíferos y concentración de Cr en sedimentos ( $r=-0.46$ ;  $p<0.024$ ). Esto indica que esta línea de evidencias (declinación en la biomasa del zooplancton a mayor concentración de metales pesados) es un buen indicador de sistemas acuáticos contaminados.

Por otro lado, la mayor biomasa de copépodos registrada en este trabajo estuvo vinculada a la mayor talla de sus individuos, pero también a la mayor tolerancia mostrada por los copépodos en relación a los cladóceros. Los primeros tendrían también mayor capacidad de acumulación de metales pesados. Existen algunos trabajos que así lo demuestran, si bien son escasos los antecedentes de bioacumulación de metales pesados en zooplancton, en gran medida por las dificultades operativas vinculadas a la cantidad de biomasa necesaria para realizar las determinaciones. Por ejemplo, en un estudio de zooplancton marino, Pempkowiak y col., (2006) encontraron que la concentración de Cu, Pb, Co, Ni, Cr, Mn, Zn, Fe y Al, pero no de Cd, fue mayor en copépodos que en cladóceros. En estudios experimentales, Yan y col., (2004) encontraron un importante grado de tolerancia de los copépodos a los metales pesados. De igual modo, Gulati y col., (1988) encontraron que *Daphnia* spp. fueron las especies más afectadas, en tanto que los copépodos, en especial los ciclópodos mostraron ser los más resistentes a la exposición al Cd.

### 6.2.3. Riqueza de especies

Entre los indicadores utilizados por los ecotoxicólogos para evaluar el efecto de diversos contaminantes, la reducción de la riqueza de especies es probablemente la respuesta más consistente y menos discutida. Rapport y col., (1985) incluyen a la disminución de la riqueza de especies como uno de los indicadores generales del síndrome de estrés ecosistémico.

Por otro lado, los cambios en la estructura y dominancia de las comunidades han sido reconocidos como importantes indicadores de situaciones de estrés (Rapport y Whitford, 1999). Así, en condiciones experimentales, Havens

(1994) encontró que el Cu afectó al plancton de agua dulce reduciendo la talla promedio de los organismos, disminuyendo la riqueza/diversidad de especies; acortando las cadenas y redes tróficas, reduciendo su complejidad y disminuyendo la eficiencia en el uso de los recursos.

En los ambientes estudiados en el presente trabajo, las especies de cladóceros, sólo estuvieron bien representadas numéricamente en el río por las mejores condiciones que ofrece para la proliferación de planctontes. Esto indica que también este atributo de la comunidad muestra que Cladocera resultó ser el grupo menos tolerante a la contaminación por metales pesados.

A diferencia de lo observado para la densidad, los valores de riqueza no fueron bajos (el total registrado fue de 59 especies) si se los compara con los obtenidos para ambientes no contaminados de la región tales como el río Paraná, donde José de Paggi, (1980) registró 76 especies, de las cuales el 71 % correspondió a rotíferos, el 20 % a copépodos y sólo el 9% a cladóceros.

Podría suponerse erróneamente que la densidad de organismos refleja mejor que la riqueza de especies el efecto de los contaminantes de diversa índole. En este trabajo, la riqueza y la densidad mostraron una alta correlación positiva ( $r=0,88$ ,  $p=0,0001$ ). La riqueza de especies no fue baja en NCH, SCH, LP 1 y 2 porque se produjo un incremento de los taxones de rotíferos. Es decir que ocurrió un reemplazo de crustáceos por rotíferos, (correlación riqueza zooplancton-densidad rotíferos  $r=0,40$ ;  $p=0,0012$ ); correlación riqueza zooplancton– densidad copépodos  $R=0,53$ ;  $p<<0,0001$ ; correlación riqueza zoo-densidad cladóceros  $r=0,39$ ,  $p=0,0007$ . Correlación riqueza zooplancton-riqueza copépodos:  $r=0,76$ ;  $p=0,0001$ ; riqueza zooplancton-riqueza cladóceros  $r=0,51$ ,  $p=0,001$  y riqueza zooplancton-riqueza rotíferos  $r=0,88$  y  $p=0,0001$ ).

La abundancia de rotíferos en ambientes contaminados está ampliamente documentada en la bibliografía (Havens y Hanazato, 1993, entre muchos otros) e implica cambios importantes en la estructura de la comunidad, que pasa a estar dominada por organismos de menor talla. Este patrón pudo ser observado por Pecorari y col., (2006) durante el análisis del zooplancton de la Laguna Setúbal,

en la ciudad de Santa Fe, que recibe desagües urbanos. Los autores registraron alta frecuencia de rotíferos Bdelloideos.

Es frecuente que los rotíferos también se desarrollen en lagunas de tratamiento de efluentes, porque resisten bajos tenores de oxígeno y se alimentan de bacterias y microflagelados. Por lo tanto, la alta correlación encontrada con la riqueza de rotíferos registrada en este trabajo podría ser atribuida a los efectos de la contaminación del sistema.

#### 6.2.4. Diversidad de especies

Un marcado descenso de la diversidad específica es considerado por algunos autores (Margalef, 1974; Clements y Newman, 2002 entre muchos otros) como un buen indicador de contaminación. Estos últimos autores destacan además que dada la facilidad computacional para calcular el índice de diversidad, el mismo resulta el mejor modo de obtener información ecológicamente relevante. En el presente estudio, se observó que el índice de diversidad de Shannon (H) varió entre 1,8 y 2,3 en los afluentes más contaminados pero que osciló entre 3,05 y 3,16 en las dos estaciones de muestreo correspondientes al eje principal del río, Manucho y San Justo. Como se mencionó anteriormente, en NCH, SCH y LP sólo se lograron tres registros de cladóceros, en sólo tres ocasiones, y con muy baja abundancia.

Evidentemente, las pocas especies que logran mantenerse habrían logrado desarrollar mecanismos de resistencia a las condiciones de contaminación. Tal es el caso de estadios larvarios de copépodos y adultos de *Eucyclops. neumani*, especie de la que se registraron machos y hembras con relativa frecuencia.

El índice de diversidad varió de acuerdo al gradiente de contaminación. Esto permitiría diferenciar distintos niveles de contaminación a partir de valores de diversidad e indica que H también es un buen indicador de estrés en sistemas contaminados. Asimismo, la diversidad estuvo relacionada con la riqueza (0,93,  $p=0,0001$ ) y con la densidad (0,95,  $p=0,0001$ ) del zooplancton.

En síntesis, el análisis de todos los parámetros registrados permite suponer, en principio, que un elevado nivel de eutrofia del sistema puede ser un factor que incremente la densidad de organismos filtradores, por la mayor disponibilidad de materia orgánica. Sin embargo, la alta concentración de metales pesados registrados, en especial de Cr y Cu, impediría el establecimiento y desarrollo de poblaciones estables en los afluentes del río. Contrariamente, en el río Salado en Manucho y San Justo, la concentración de metales pesados fue un poco menor, lo que sumado a las mejores condiciones limnológicas imperantes, ha determinado que las poblaciones encontraran mejores condiciones para su desarrollo. Es decir, el bajo caudal de los afluentes permitiría suponer un escaso efecto de dilución de los contaminantes y por consiguiente un impacto importante sobre la biota, no ocurriendo lo mismo con el río Salado en Manucho y San Justo, donde el caudal es mucho mayor.

De modo similar Scarlato y col., (1997) estudiaron la distribución del zooplancton de las áreas costeras de la provincia de Buenos Aires, encontrando que excepto para el cadmio, todos los metales estudiados (Zn, Cu, Fe, Pb y Mn) mostraron valores máximos en las costas uruguayas, patrón vinculado no solamente a la localización de las potenciales fuentes de contaminación, sino también a las características hidrológicas del área. Estas características ya fueron señaladas en la introducción (página 27) al mencionar la carga de Cr que vuelcan las curtiembres de Montevideo al río Pantanoso y eventualmente al Río de la Plata.

Si bien es muy discutido si la contaminación orgánica afecta negativa o positivamente la abundancia del zooplancton en ambientes lóticos, existe amplio consenso en que la contaminación por metales pesados tiene un marcado efecto negativo sobre este parámetro. En tal sentido, al efecto perturbador de la contaminación se adicionó el alto grado de eutrofia del sistema, evidenciado por los parámetros ambientales analizados. La turbidez, la carga de nutrientes, de

metales y DQO son parámetros que indicaron la degradación del sistema. En SCH pudo registrarse también el aporte de materia orgánica de la curtiembre en forma de restos de cueros y faneras (observación personal). En términos generales, en los afluentes se observó menor riqueza de especies en concordancia con el aumento de descarga de contaminantes y el estado trófico del sistema y la dominancia de *Eucyclops neumani*. Esta especie demostró ser muy tolerante, por lo que podría ser utilizada como especie indicadora de calidad de agua en la región.

En síntesis, el análisis de todos los atributos de la comunidad permitieron validar la **Hipótesis 2**: La biomasa, densidad total, densidad por grupo taxonómico (Copepoda, Cladocera y Rotifera), densidad de micro y mesozooplancton, riqueza de especies (S), equitatividad (E) y diversidad de especies (H) del zooplancton en las áreas contaminadas con metales pesados son menores que la del sitio tomado como referencia.

Es decir, todos los parámetros biológicos analizados fueron buenos indicadores de fuentes potenciales de contaminación por metales pesados en la cuenca inferior del río Salado.



### 6.3. Bioacumulación de Cr en *D. magna* y *A. falcifer*

Como se expuso en el apartado 5.3 del capítulo de resultados, *D. magna* y *A. falcifer* acumularon cantidades significativas de Cr en las tres concentraciones ensayadas con respecto al control.

Cuando se considera la posibilidad de usar biomonitores para evaluar la calidad ambiental, es fundamental considerar también el grado de sensibilidad que poseen las especies seleccionadas. En este sentido, los organismos con ciclo de vida corto son muy útiles para determinar eventos de contaminación de corta duración. En este estudio, el tiempo seleccionado para exponer a los especímenes al contaminante (24 h) fue suficiente para detectar acumulación de Cr en *D. magna* y en *A. falcifer*.

El presente es el primer estudio de bioacumulación de Cr que se efectúa en organismos zooplanctónicos del río Paraná Medio. Cabe destacar que Marchese y col. (2008) midieron concentraciones de Cr en tejidos de biomonitores dulceacuícolas, no planctónicos, pertenecientes a distintos niveles tróficos. En un ensayo estático multiespecífico, registraron una relación inversa entre el Factor de Bioconcentración y las concentraciones de exposición en todas las especies estudiadas. Aunque todas ellas pudieron ser propuestas como biomonitores, *Ceratophyllum demersum*, *Limnodrilus udekemianus* y *Zilchiopsis collastinensis* fueron los mejores biomonitores por su mayor capacidad para acumular Cr.

Otros estudios de bioacumulación, en este caso llevados a cabo con larvas de cangrejos del estuario de Bahía Blanca (Ferrer y col., 2006) advirtieron que las mismas pueden ser agentes potencialmente negativos en la transferencia de metales pesados a la red trófica que integran, por su relativa resistencia y su capacidad de bioacumulación de metales pesados en sus tejidos. En ensayos con mezclas de metales, Cd/Cu mostraron un efecto aditivo mientras que la mezcla Cd/Zn mostró una interacción antagonista.

Por otro lado, y tal como se señaló en el apartado 4.1.5., referida a la metodología de bioensayos de acumulación de Cr en *Daphnia magna* y

**Bioacumulación de Cr en *D. magna* y *A. falcifer***

*Argyrodiaptomus falcifer*, la biomasa necesaria para realizar análisis de concentración de metales mediante métodos tradicionales, tales como espectrofotometría de absorción atómica, es relativamente alta (10 mg copépodos en peso seco, Kahle y Zauke, 2002b).

Las evidencias entregadas en este estudio indican que para organismos zooplanctónicos de agua dulce, el AANI probó ser una técnica más apropiada que la anteriormente señalada para la determinación de Cr en tejidos, por ser más exacta y precisa a bajos límites de detección. Además de estas características, la ventaja metodológica del AANI es que permitió la cuantificación de Cr en una pequeña cantidad de muestra (< 1 mg según Phillips, 1994 y Eka y col., 2007). Esta cantidad es compatible con la biomasa zooplanctónica encontrada en los cuerpos de agua aquí estudiados. En efecto, este aspecto metodológico puede resultar una limitación seria para desarrollar estudios de bioacumulación en organismos planctónicos del valle de inundación del río Paraná y del río Salado y sus bañados. Son ambientes característicos de este sistema las lagunas temporarias hipereutróficas. Estos cuerpos de agua son de reducido tamaño y profundidad, y habitualmente durante el proceso de muestreo se produce el efecto de colmatación de las redes por la acumulación de algas, material inorgánico y restos orgánicos.

Contrariamente, en sistemas marinos, tal como se señaló en el apartado 2.1.5.1., se utilizan redes de 500-700 µm de abertura de malla y 1 m de diámetro. Bajo estas condiciones, el número de animales por captura es sensiblemente mayor y permite el estudio de bioacumulación con técnicas analíticas menos específicas.

Por lo anteriormente expuesto, los resultados aportados en este trabajo permitieron validar la **Hipótesis 3**: “Algunas especies de microcrustáceos del zooplancton actúan concentrando Cr en sus tejidos con respecto a los valores de Cr en el agua, por lo que podrían ser consideradas activas acumuladoras del metal”. Las evidencias experimentales recogidas muestran que tanto *Argyrodiaptomus falcifer* (Copepoda) como *Daphnia magna* (Cladocera) bioacumulan Cr.

**Bioacumulación de Cr en *D. magna* y *A. falcifer***

A partir de estudios previos llevados a cabo en sistemas marinos por Pempkowiak y col., (2006), se planteó la hipótesis de que el enriquecimiento con metales pesados sería –según lo comunicado por los mencionados autores– mayor en copépodos que en cladóceros. Sin embargo, en el presente estudio *D. magna* acumuló más Cr que *A. falcifer*, pero las diferencias no resultaron significativas. Las evidencias experimentales permitieron concluir que las especies representativas de ambos grupos taxonómicos son activos acumuladores de Cr. Es importante señalar que debido al rol central que tienen copépodos y cladóceros en las redes tróficas de sistemas acuáticos y su amplia distribución mundial, ambos grupos de zooplanctontes resultaron ser buenos candidatos para estudios de bioacumulación.

Finalmente, con respecto a la **Hipótesis 4**: “De los dos grupos de microcrustáceos que integran la comunidad zooplanctónica, los copépodos son más activos bioacumuladores de Cr que los cladóceros”, a partir de la evidencia experimental recogida en este trabajo se rechaza esta hipótesis, porque aunque la acumulación de Cr en *D. magna* fue mayor que en *A. falcifer*, las diferencias no resultaron significativas.

## **CONCLUSIONES**

**Contexto ambiental - Estructura del zooplancton -  
Bioensayos de acumulación de Cr -**

## 7. CONCLUSIONES

### 7.1. Contexto ambiental

- Las concentraciones de todos los metales pesados en sedimentos y en algunas oportunidades en agua, fueron mayores a las concentraciones máximas permitidas. En Manucho, los valores registrados fueron 90 veces mayores a los de la norma canadiense. Los niveles guía para Pb y Cu fueron sobrepasados en Canal Sur y para Cd en Las Prusianas (52 veces). Sin embargo en este estudio, el Índice de Geoacumulación fue más indicativo del estado de contaminación que los valores estándares.
- La contaminación del río Salado inferior muestra una relación muy estrecha entre el impacto adverso de los metales pesados y el proceso de eutrofización. Esta es una situación muy compleja que requiere futuros estudios. El gradiente de polución fue: Las Prusianas > Manucho > Canal Sur > Canal Norte > San Justo.
- El monitoreo de metales pesados y de parámetros físicos y químicos, independientemente de otras evidencias biológicas registradas en este estudio, muestra la urgencia de profundizar los estudios biológicos, mejorar el control de las emisiones de efluentes contaminados y de emprender acciones de remediación, como por ejemplo, a través de la fitorremediación en la cuenca inferior del Río Salado.

### 7.2. Zooplancton

- En términos generales, el objetivo de este trabajo es contribuir al conocimiento de las interacciones metales pesados-zooplancton y de los factores que condicionan los niveles de metales pesados en el zooplancton, tópicos que por su complejidad, continúan sin resolver.

- En esta línea de trabajo, se encontró que los metales pesados en la cuenca del Río Salado inferior pudieron actuar facilitando la proliferación de organismos *r* estrategias y oportunistas, disminuyendo la biomasa, disminuyendo la riqueza y diversidad de especies al favorecer la ocurrencia de pocas especies tolerantes y disminución de las más sensibles. Estos efectos estarían vinculados fundamentalmente a la acción del Cr y del Cu, además del alto grado de eutrofia del sistema.
- En comparación con sistemas menos contaminados de la región, la densidad fue similar, pero la biomasa mucho menor. Esto indica el establecimiento y proliferación de especies de pequeño tamaño (rotíferos).
- Los rotíferos fueron los más tolerantes; el segundo grupo en tolerancia fueron los copépodos en tanto que los cladóceros contribuyeron de modo importante a la comunidad sólo en San Justo donde además se registró mayor equitatividad. Los cladóceros mostraron ser muy poco tolerantes a la acción tóxica de los metales pesados.
- Los valores de diversidad de especies (H) permitieron diferenciar distintos niveles de contaminación. Se concluye que H es un buen indicador de estrés en sistemas contaminados.
- La riqueza de especies (S) permitió agrupar a los ambientes estudiados en dos grupos: los tributarios, con baja riqueza de especies, y el río, con mayor riqueza de especies.
- Otra línea de evidencia recogida en este trabajo fue la declinación de la biomasa del zooplankton a mayor concentración de metales pesados. Esto indica que este parámetro también es un buen indicador de sistemas acuáticos contaminados.

- En general, el río ofreció mejores condiciones para el desarrollo de la comunidad: mayor caudal y tenor de oxígeno disuelto que los tributarios. Esto permitió el establecimiento de poblaciones importantes en Manucho, uno de los sitios contaminados, y en San Justo, el sitio inicialmente tomado como referencia.
- Por los resultados obtenidos, puede concluirse que la contaminación del sistema en los sitios más impactados impuso condiciones extremas e incompatibles con el desarrollo del zooplankton. La disminución de riqueza específica y diversidad observada en las estaciones más cercanas a las ciudades de Rafaela y Esperanza, es decir a los puntos de volcado de efluente, se relacionaron con el incremento en la concentración de metales pesados y el alto grado de eutrofia del sistema.
- En estudios de campo, el zooplankton resultó un buen indicador de contaminación por metales pesados. Todos los atributos analizados: densidad, riqueza y diversidad de especies y equitatividad reflejaron la contaminación del sistema.
- En el contexto señalado, se acuerda en términos generales con lo propuesto por Clements y Newman (2002) en relación a la importancia del biomonitoreo al nivel de comunidades, aproximación que indica que las especies difieren en su grado de sensibilidad a los contaminantes antropogénicos, resultando en cambios estructurales y funcionales en los sitios contaminados que actúan como buenos indicadores de estrés ambiental.
- Por la alta tolerancia a efluentes de curtiembre y ubicuidad de *Eucyclops neumani* se la propone como especie indicadora de calidad de agua en la región.
- El copédodo calanoideo *Argyrodiaptomus falcifer* mostró una estrategia neta de acumulación de Cr, por lo que podría utilizarse en biomonitoreo de sistemas acuáticos dulceacuícolas. Por otro lado cabe destacar la casi nula

información disponible sobre toxicidad de metales pesados en copépodos de agua dulce, por lo que estos resultados adquieren relevancia a la hora de seleccionar buenos biomonitores de ambientes dulceacuícolas contaminados con Cr.

- La capacidad de bioacumular Cr registrada en *D. magna* y *A. falcifer*, también a nivel experimental, refuerza la conclusión antes expuesta, de que el zooplankton es un buen indicador de contaminación por metales pesados.
- En este trabajo y a partir de los resultados obtenidos, se destaca la importancia del zooplankton para la caracterización biológica del ambiente en zonas con diferente grado de impacto antrópico. Es posible concluir además que los zoopláncteres responden como buenos descriptores de la calidad del agua, constituyendo una herramienta eficaz en conjunto con otros parámetros ambientales.
- Finalmente, cabe destacar que la utilización de los cursos de agua superficiales como medio de transporte para evacuar líquidos residuales urbanos e industriales es, lamentablemente, la aplicación más difundida y generalizada para todos los cursos de aguas superficiales. Los tóxicos luego alcanzan el mar donde también pueden incorporarse a tramas tróficas de ambientes marinos, inclusive los más alejados y tradicionalmente considerados menos contaminados. Así, Moreno et al., (1997) registraron Cd y Cu en distintos grupos de invertebrados de la antártida. Las evidencias recogidas en este trabajo indican que las aguas del río Salado Inferior están siendo utilizadas como receptoras de efluentes industriales con alta carga de metales pesados, por lo que se propone la implementación de acciones de remediación. Con base en experiencias de laboratorio realizadas con macrófitas de importancia regional tales como *Salvinia herzogii*, *Pistia stratiotes*, *Eicchornia crassipes* y *Thypa dominguensis*, se propone



el tratamiento de los efluentes de las curtiembres con alto contenido de Cr previo a su volcado a los cursos de agua.

Por otro lado, cabe destacar la importancia de advertir a las empresas más contaminantes de la región, la necesidad de modificar las tareas de curtido del cuero por métodos menos contaminantes a pesar de lo señalado por el Programa Ambiental de las Naciones Unidas (UNEP, 1991) en el sentido de que las sales de cromo han seguido utilizándose porque a la vez que tienen alta afinidad con los grupos carboxilo de las fibras de colágeno, su precio es comparativamente bajo en relación con otros métodos menos contaminantes.

- En resumen, en este trabajo se vinculó la contaminación antrópica por metales pesados registrada en agua y sedimento con el deterioro de la comunidad zooplanctónica. En tal sentido, se coincide con lo planteado por Ravera (2001) en que no sólo es útil, sino imprescindible, reunir múltiples líneas de evidencia (por ejemplo, monitoreo químico y biológico) para determinar si existe contaminación en un área dada.

## **BIBLIOGRAFIA**

## BIBLIOGRAFÍA

- Alkhatib E. y Castor, K. (2000). Parameters influencing sediments resuspension and the link to sorption of inorganic compounds. *Environmental Monitoring and Assessment* 65: 531–546.
- Amini Ranjbar G. (1998). Heavy metal concentration in surficial sediments from Anzali Wetland, Iran. *Water, Air, and Soil Pollution* 104: 305–312.
- Avery E.L., Dunstan R.H. y Nell J.A. (1996). The Detection of Pollutant Impact in Marine Environments: Condition Index, Oxidative DNA Damage, and Their Associations with Metal Bioaccumulation in the Sydney Rock Oyster *Saccostrea commercialis*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 31:192-198.
- Balasubramanian S., Pugalenti V., Anuradha K. y Chakradhar S. (1999). Characterization of tannery effluents and the correlation between TDS, BOD and COD. *Journal of Environmental Science and Health Part A - Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 34 (2): 461-478.
- Baran A., Baysal S.H. y Sukatar A. (2005). Removal of Cr<sup>6+</sup> from aqueous solution by some algae. *Journal of Environmental Biology* 26 (2): 329-333.
- Beek B., Böhling S., Bruckman U., Franke C., Jöhncke U. y Studinger G. (2007). The assessment of Bioaccumulation In: *The Handbook of Environmental Chemistry Vol 2. Bioaccumulation*. Beek B (ed). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Begon M., Harper J.L. y Townsend C.R. (1988). *Ecología: Individuos, poblaciones y comunidades*. Ediciones Omega. Barcelona. 885 pp.
- Bertoldi de Pomar H. (1976). Métodos de preparación de sedimentos clásticos para su estudio microscópico. I Tratamientos previos. *Revista de la Asociación de Ciencias Naturales del Litoral* 7: 1-55.
- Bielmyer G.K., Grosell M. y Brix K.V. (2006). Toxicity of Silver, Zinc, Copper, and Nickel to the Copepod *Acartia tonsa* Exposed via a Phytoplankton Diet. *Environmental Science and Technology* 40: 2063-2068.

- Bode P., (1996). Instrumental and organizational aspects of a neutron activation analysis laboratory, PhD Thesis, Delft University of Technology, Delft, The Netherlands.
- Bottrel, H.H.; Duncan, A.; Gliwicz, Z.; M.; Grygierek, E.; Herzig, A.; Hillbrich-Ilkowska, A.; Kurasawa, H.; Larsson, P.; Weglenska, T. (1976). A review of problems in zooplankton production studies. *Norway Journal* (24): 419-456.
- Bryan G.W. (1976). Some aspects of heavy metal tolerance in aquatic organisms. In *Pollutants on aquatic organisms*. A.P.M. Lockwood ed. Cambridge University Press.
- Campanella L., Crescentini G. y Avino P. (1999). Chemical composition and nutritional evaluation of some natural and commercial food products based on *Spirulina*. *Analysis*, EDP Sciences, Wiley-VCH 27: 533-540.
- Canadian Environmental Quality Guidelines (2002). Canadian Council of Ministers of the Environment. Ottawa, Ontario, Canada.
- Canadian Environmental Quality Guidelines (2003). Canadian Council of Ministers of the Environment. Ottawa, Ontario, Canada.
- Carvalho R.A., Benfield, M.C. y Santschi P.H. (1999). Comparative bioaccumulation studies of colloiddally complexed and free-ionic heavy metals in juvenile brown. *Limnology and Oceanography* 44 (2): 403-414.
- Ceresoli N. y Gagneten A.M. (2003). Efectos del efluente de curtiembre sobre *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) en condiciones experimentales. *Interciencia* 28 (8): 469-475.
- Chen C.H., Zhang P. y Chai Z. (2001). Distribution of some rare earth elements and their binding species with proteins in human liver studied by instrumental neutron activation analysis combined with biochemical techniques. *Analytica Chimica Acta* 439 (1): 19-27.
- Chung Y.S., Jeong E.S., y Cho S.Y. (1997). Intercomparison and determination of environmental standard samples by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 217 (1): 71-76.
- Clements W.H. y Newman M.C. (2002). *Community Ecotoxicology*. Wiley and Sons. England. 336 pp.
- Coale K.H. y Flegal A.R. (1989). Copper, Zinc, Cadmium and Lead in surface waters of lakes Erie and Ontario. *Science of the Total Environment* 87/88: 297-304.
- Connell D.B. y Sanders J.G. (1999). Variation in cadmium uptake by estuarine

- phytoplankton and transfer to the copepod *Eurytemora affinis*. *Marine Biology* 133 (2): 259-265.
- Das B.K. y Das N. (2005). Impacts of quicklime (CaO) on the toxicity of copper (CuSO<sub>4</sub>, 5H<sub>2</sub>O) to fish and fish food organisms. *Chemosphere* 61: 186–191.
- Depetris P.J. (1976) Hydrochemistry of the Parana River. *Limnology and Oceanography* 21 (5): 736-739.
- Depetris P.J. y Pasquini A.I. (2007) The Geochemistry of the Paraná River: An Overview. In M.H. Iriondo, J.C. Paggi, y M.J. Parma (Eds.). *The Middle Paraná River: Limnology of a Subtropical Wetland*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Dias C.D. (1999). Morphological abnormalities of *Acartia lilljeborgi* (Copepoda, Crustacea) in the Espirito Santo Bay (ES Brazil). *Hydrobiologia* 394: 249-251.
- Dias Côrrea J., Ramos da Silva M. Bastos da Silva A.C., Araújo de Lima S.M., Malm O. y Allodi S. (2005). Tissue distribution, subcellular localization and endocrine disruption patterns induced by Cr and Mn in the crab *Ucides cordatus*. *Aquatic Toxicology* 73: 139-154.
- Dumont H.J, Van de Velde I. y Dumont S. (1975). The dry weight estimate of biomass in a selection of Cladocera, Copepoda and Rotifera from the plankton, periphyton and benthos of continental waters. *Oecologia* 19: 75-97.
- Duggan I.C., Green J.D. y Shiel R.J. (2001). Distribution of rotifers in North Island, New Zealand, and their potential use as bioindicators of lake trophic state. *Hydrobiologia* 446-447 (1): 155-164.
- Edmondson W.T. y Winberg G.G. (1971). A Manual on Methods for the assessment of Secondary Productivity in Fresh Waters. IBP Handbook N° 17. Blackwell, Oxford.
- Eka H., Nilssona E., Birgerssonb G., y Davea G. (2007). TNT leakage through sediment to water and toxicity to *Nitocra spinipes*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 67: 341–348.
- ENSIC: Environmental Systems Information Center (1993). Environmental Systems Reviews N° 35: 1-3.
- Environmental Protection Agency (EPA) (1994). *Methods for the Determination of Metals in Environmental Samples - Supplement I - EPA/600/R-94-111 - T.D. Martin et. al. - Method 200.2 - Sample Preparation Procedure For Spectrochemical Determination Of Total Recoverable Elements. - J.T. Creed*

- et. al - Method 200.9 , Revision 2.2 - *Determination Of Trace Elements By Stabilized Temperature Graphite Furnace Atomic Absorption*. Cincinnati, Ohio. EEUU.
- Environmental Protection Agency (EPA) (1999). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20<sup>th</sup> edition. Cincinnati, Ohio. EEUU.
- Environmental Protection Agency (EPA) (2000). Bioaccumulation testing and interpretation for the purpose of sediment quality assessment. Status and needs. EPA-823-R-00-001. Bioaccumulation Analysis Workgroup. Washington, DC 20460. 111 pp.
- Escalante A.H. (1982). Contribution to the knowledge of freshwater fishes thropic relations in the platensis area. I. *Astyanax eigenmanniorum* (Osteichthyes Tetragonopteridae). *Limnobiós* 2 (5): 311-322.
- Escalante A.H. (1983). Contribution to the knowledge of freshwater fishes thropic relations in the platensis area. II. Other Tetragonopteridae. *Limnobiós* 2 (6): 376-402.
- Everaarts J.M., Heerstes, R. y Fischer, C.V. (1993). Heavy metals (Cu, Zn, Pb, Cd) in sediment, zooplankton and epibenthic invertebrates from the area of the continental slope of the Banc d'Arguin (Mauritania). *Hydrobiologia* 258: 41-58.
- Fernández Severini M.D., Hoffmeyer, M.S., Marcovecchio, J.E. y Menéndez M.C. (2006). Heavy metals in *Acartia tonsa* and *Eurytemora americana* (Crustacea, Copepoda) in the Bahía Blanca Estuary. En: "Jornadas Multidisciplinarias de la Sociedad Argentina de Biología. Buenos Aires (Argentina), 28/11al 1/12/06.
- Fernando C.H., Paggi, J.C. y Rajapaksa R. (1987). *Daphnia* in tropical lowlands. En: R.H. Peters and R. Bernardi (Eds.) *Daphnia. Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia*. 45: 107-141.
- Ferreira C.G. (2003). La crecida extraordinaria del río Salado en Abril-Mayo de 2003 (Provincia de Santa Fe – Argentina) – Aspectos Hidrológicos. Informe Técnico. Facultad de Ciencias Hídricas. Universidad Nacional del Litoral. 28 pp.
- Ferrer L., Contardi E., Andrade S.J., Asteasuain R., Pucci E. y J. E. Marcovecchio (2000). Environmental cadmium and lead concentrations in the Bahía Blanca Estuary (Argentina). Potential toxic effects of Cd and Pb on crab larvae. *Oceanologia* 42 (4): 493–504.
- Ferrer L., Andrade S., Asteasuain, R., y Marcovecchio J. (2006). Acute toxicities of four metals on the early life stages of the crab *Chasmagnathus granulata*

- from Bahía Blanca estuary, Argentina. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 65: 209–217.
- Filella M., Town R. y Buffle J. (1995). Speciation in Fresh Waters. In: *Chemical Speciation in the Environment*. A. Ure and C. Davidson Jackson, eds.
- Fisher N.S., Stupakoff I.; Sanudo-Wilhelmy S., Wang W.X., Teyssie J.L., Fowler S.W. y Crusius J. (2000). Trace metals in marine copepods: a field test of a bioaccumulation model coupled to laboratory uptake kinetics data. *Marine Ecology* 194: 211-218.
- Fleming C.A. y J.T. Trevors (1989). Cooper toxicity and chemistry in the environment: a review. *Water, Air and Soil Pollution* 44: 143-158.
- Fussmann G. (1996). The importance of crustacean zooplankton in structuring rotifer and phytoplankton communities; an enclosure study. *Journal of Plankton Research* 18 (10):1897-1915.
- Gagneten A.M. (2002). Respuesta de una comunidad zooplanctónica de agua dulce a la aplicación de cromo en clausuras experimentales. *Interciencia* 27 (10): 563-570.
- Gagneten A.M. y Ceresoli N. (2004). Efectos del efluente de curtiembre sobre la abundancia y riqueza de especies del zooplancton en el Arroyo Las Prusianas (Santa Fe, Argentina). *Interciencia* 29 (12): 702-708.
- Gagneten A.M. y Marchese M. (2003). Effects of Paraquat on zooplankton and zoobenthic assemblages in enclosure experiments. *Ecotoxicology and Hydrobiologie*. 3 (4): 255-264.
- Gagneten A.M. y Vila I. (2001). Effects of  $\text{Cu}^{+2}$  and pH on the fitness of *Ceriodaphnia dubia* (Richard 1894) (Crustacea, Cladocera) in microcosm experiments. *Environmental Toxicology* 26 (5): 428-438.
- Gagneten A.M. (2006). Efectos de la toxicidad crónica del Cromo y del Cobre en *Daphnia magna* Straus (Crustacea, Cladocera). En: Salud Ambiental y Humana. Una Visión Holística. Editor: Jorge Herkovits. Sociedad de Toxicología y Química Ambiental (SETAC). 66-68 p.
- Gallo, M; Trento, A.; Avarez, A.; Beloméxico, H. y Campagnoli, D. (2006). Dissolved and particulate heavy metals in the Salado River (Santa Fe, Argentina). *Water, Air and Soil Pollution* 174: 67-384.
- Gama-Flores J.L., Sarma S.S., Nandini S. (2006). Effect of cadmium level and exposure time on the competition between zooplankton species *Moina*

- macrocopa* (Cladocera) and *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Journal of Environmental Science Health* 41 (6): 1057-1070.
- Giampieri, R., Tassi, P., Rodríguez, L., Gaudin, H. y Vionnet, C. (2003). Simulación numérica del desborde del río Salado sobre la ciudad de Santa Fe. Primer simposio regional sobre hidráulica de ríos. *Ríos*: 1-2.
- Gillooly J.F. (2000) Effect of body size and temperature on generation time in zooplankton. *Journal of Plankton Research* 22 (2): 241-251.
- Giusti L., Williamson A.C. y Mistry A. (1999). Biologically available trace metals in *Mytilus edulis* from the coast of northeast England. *Environment International* 25 (8): 969-981.
- Gliwicz Z.M. (1990). Why do cladocerans fail to control algal blooms? *Hydrobiologia* 200-201 (1): 83-97.
- Gulati R.D., Bodar C.W., Schuurmans A.L., Faber J.A., Zandee y D.I. (1988). Effects of cadmium exposure on feeding of freshwater planktonic crustaceans. *Comparative Biochemistry and Physiology* 90 (2): 335-40.
- Gulati R. and Demott W. (1997). The role of food quality for zooplankton: remarks on the state-of-the-art, perspectives and priorities. *Freshwater Biology* 38 (3): 753 – 768.
- Gutiérrez M.F., Gagneten A.M. y Parma, M.J. (2008). Bioconcentration and trophic transfer of chromium in the *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera) – *Cnesterodon decemmaculatus* (Pisces, Poeciliidae) system. *Fresenius Environmental Bulletin* 17(6): 647-651.
- Hadad H.R., Maine M.A., Nataleb G.S. y Bonetto C. (2007). The effect of nutrient addition on metal tolerance in *Salvinia herzogii*. *Ecological Engineering* 31: 122–131.
- Havas M. y Hutchinson T. (1982) Aquatic invertebrates from the Smoking Hills, N.T.W.: effect of pH and metals on mortality. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 39: 890-903.
- Havens K.E. (1994). Experimental perturbation of a freshwater plankton community: a test of hypotheses regarding the effects of stress. *Oikos* 69:147-153.



- Havens K.E. y Hanazato T. (1993). Zooplankton community responses to chemical stressors: A comparison of results from acidification and pesticide contamination research. *Environmental Pollution* 82 (3): 77-288.
- Hobæk A., Manca M. y Andersen T. (2002) Factors influencing species richness in lacustrine zooplankton. *Acta Oecologica* 23 (3): 155-163.
- Huang Y.L., Chen C.Y., Sheu J.Y., Chuang I.C., Pan J.H. y Lin T.H. (1999). Lipid peroxidation in workers exposed to hexavalent chromium. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A*. 56 (4): 235-247.
- Hutchinson T.H., Williams T.D. y Eales G.J. (1994). Toxicity of Cadmium, Hexavalent Chromium and Copper to Marine Fish Larvae (*Cyprinodon variegatus*) and Copepods (*Tisbe battagliai*). *Marine Environmental Research* 38: 275-290.
- Hynes H.B.N. (1978). The biology of polluted waters. Liverpool University Press. 202 pp.
- Ikem A., Egiebor N.O. y Nyavor K. (2003). Trace elements In Water, Fish And Sediment From Tuskegee Lake, Southeastern USA. *Water, Air, and Soil Pollution* 149: 51-75.
- InfoStat (2004). *InfoStat, versión 2004*. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición, Editorial Brujas. Argentina.
- Instituto Nacional de Ciencia y Técnica Hídricas (I.N.C.Y.T.H.) Secretaría de Recursos Hídricos. Centro Regional Litoral (1986). *Caracterización Hidrológica del río Salado*. Volumen I. 169 pp.
- International Atomic Energy Agency (1998). Reference Material IAEA-V10, Trace Element. In Hay Powder, Reference Sheet.
- Ip C.C.M, Li X.D., Zhang G., Wong C.S.C, y Zhang W.L. (2005). Heavy metal and Pb isotopic composition of aquatic organisms in the Pearl River Estuary, South China. *Environmental Pollution* 138: 494-504.
- Jasan, R.C., T.G. Verburg, H.Th. Wolterbeek, R.R. Plá, M.L. Pignata (2004). On the use of the lichen *Ramalina celastri* (Spreng.) Krog. and Swinsc. as an indicator of atmospheric pollution in the province of Córdoba, Argentina, considering both lichen physiological parameters and element concentrations. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 259 (1): 93-97.
- Jasan R.C., Plá R.R., Invernizzi R. y Dos Santos M. (2007). Elemental characterization of air particulate matter in Buenos Aires, Argentina. International Nuclear Atlantic Conference – INAC 2007, VIII ENAN. Santos,

- SP, Brazil, Sept. 30 – Oct. 5, Trabajo completo en CD, archive E04\_1206.  
*Journal of Nuclear Energy Science and Technology* (enviado).
- Jeejeebhoy K.N. (1999). The role of chromium in nutrition and therapeutics and as a potential toxin. *Nutrition Reviews* 57 (11): 329-335.
- Jordão C.P., Pereira M.G. y Pereira J.L. (2002). Metal contamination of riverwaters and sediments from effluents of kaolin processing in Brazil. *Water, Air and Soil Pollution* 140: 119–138.
- José de Paggi S. (1980). Campaña limnológica Keratella I en el río Paraná Medio: zooplancton de ambientes lóticos. *Ecología* 4: 69-75.
- José de Paggi S. (1981). Variaciones temporales y distribución horizontal del zooplancton en algunos cauces secundarios del río Paraná Medio. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 16: 185-199.
- José de Paggi S. (1984). Estudios limnológicos de una sección transversal del tramo medio del río Paraná. *Revista de la Asociación de Ciencias Naturales del Litoral*. 16 (2): 136-155.
- José de Paggi S. (1988). Estudio sinóptico del zooplancton de los principales cauces y tributarios del valle aluvial del Río Paraná: tramo Goya-Diamante (II Parte). *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 23: 149-163.
- José de Paggi S. (1990) Ecological and biogeographical remarks on the rotifer fauna of Argentina. *Revista Hydrobiologia Tropical* 23 (4): 297-311.
- Jose de Paggi S. (1995). Rotifera. En: Lopretto E y G Tell (eds) Ecosistemas de aguas continentales. Metodología para su estudio. Tomo III: 909-951. Ediciones Sur, La Plata, Argentina.
- José de Paggi S. y Paggi, J. C. (1998). Zooplancton de ambientes acuáticos con diferente estado trófico y salinidad. *Neotrópica* 44: 95-106.
- José de Paggi S. y Paggi J. C. (2007). Zooplancton. En: *The Middle Paraná River. Limnology of a Subtropical Wetland*. M. H. Iriondo J. C. Paggi y M. J. Parma (Eds.). Springer. 382 pp.
- Kahle J. y Zauke G.P. (2002a). Bioaccumulation of trace metals in the calanoid copepod *Metridia gerlachei* from the Weddell Sea (Antarctica). *The Science of the Total Environment* 295: 1–16.
- Kahle J. y Zauke G.P. (2002b). Bioaccumulation of trace metals in the copepod *Calanoides acutus* from the Weddell Sea (Antarctica): comparison of two-

- compartment and hyperbolic toxicokinetic models. *Aquatic Toxicology* 59: 115–135.
- Kahle J. y Zauke G.P. (2003). Trace metals in Antarctic copepods from the Weddell Sea (Antarctica) *Chemosphere* 51: 409-417.
- Karthikeyan S., Palaniappan P. L.R. M. y Sabhanayakam S. (2007). Influence of pH and water hardness upon nickel accumulation in edible fish *Cirrhinus mrigala*. *Journal of Environmental Biology* 28 (2): 489-492.
- Kennish M. (1992) Environmental threats and environmental future of estuaries. *Environmental Conservation* 29: 78-107.
- Kerrison P.H., Annoni D., Zarini S., Ravera O. y Moss B. (1988). Effects of low concentrations of heavy metals on plankton community dynamics in a small, shallow, fertile lake. *Journal of Plankton Research* 10 (4): 779-812.
- Kimbrough D.E., Cohen Y., Winer A.M., Creelman L. y Mabuni C. (1999). A critical assessment of chromium in the environment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 29 (1): 1-46.
- Koeberl C. (1993). Instrumental neutron activation analysis of geochemical and cosmochemical samples: A fast and reliable method for small sample analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 168 (1): 47-60.
- Kovatch C.E., Thomas Chandler G. y Coull B.C. (1999). Utility of a Full Life-Cycle Copepod. Bioassay Approach for Assessment of Sediment-Associated Contaminant Mixtures. *Marine Pollution Bulletin* 38 (8): 692-701.
- Kungolos A. y Aoyama I. (1993). Interaction effect, food effect, and bioaccumulation of cadmium and chromium for the system *Daphnia magna-Chlorella ellipsoidea*. *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal* 8: 351-369.
- Landsberger S. y Wu D. (1999). The impact of heavy metals from environmental tobacco smoke on indoor air quality as determined by Compton suppression neutron activation analysis. *Science of The Total Environment* 173: 323-337.
- Lee B.G. y Luoma, S.N. (1998). Influence of microalgal biomass on absorption efficiency of Cd, Cr, and Zn by two bivalves from San Francisco Bay. *Limnology and Oceanography* 43 (7): 1455-1466.
- Leslie H.A., Pavluk T.I., bij de Vaate A. y M.H.S. Kraak (1999). Triad Assessment of the Impact of Chromium Contamination on Benthic Macroinvertebrates in the Chusovaya River (Urals, Russia). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 37: 182-189.

- Lores E.M. y Pennock J.R. (1999). Bioavailability and trophic transfer of humic-bound copper from bacteria to zooplankton. *Marine Ecology-Progress Series* 187: 67-75.
- Loyaux-Lawniczak S., Refait P., Ehrhardt J., Lecomte P. y Genin J. (2000). Trapping of Cr by formation of ferrihydrite during the reduction of chromate ions by Fe(II)-Fe(III) hydroxysalt green rusts. *Environmental Science and Technology* 34: 438-443.
- Luoma S.N. (1996). Prediction of Metal Toxicity in Nature from Bioassays: Limitations and research needs. in Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems. André Tessier and D. Turner eds. John Wiley and Sons.
- Luoma, S.N. y Rainbow P. (2005). Why is metal bioaccumulation so variable? Biodynamics as a unifying concept. *Environmental Science and Technology* 39 (7): 1921- 1931.
- Maglianesi R.E. y Depetris P.J. (1979). Características químicas del agua del Río Salado Inferior (Provincia de Santa Fe, República Argentina). *PHYSIS* 30 (80): 19-32.
- Maine M.A., Suñé, N.L. y Lager, S.C. (2004). Chromium bioaccumulation: comparison of the capacity of two floating aquatic macrophytes. *Water Research* 38: 1494–1501.
- Maine M.A., Suñe, N., Hadad, H., Sánchez, G. y Bonetto, C. (2005). Phosphate and metal retention in a small-scale constructed wetland for waste-water treatment. In: Golterman, H.L., Serrano, L. (Eds.), Phosphates in Sediments. Proceedings 4<sup>th</sup> International Symposium on Phosphate in Sediments. Backhuys Publishers, Leiden, pp. 21–32.
- Maine M.A., Suñe, N., Hadad, H., Sánchez, G. y Bonetto, C. (2006). Nutrient and metal removal in a constructed wetland for waste-water treatment from a metallurgic industry. *Ecological Engineering* 26: 341–347.
- Maine M.A., Suñe, N., Hadad, H., Sánchez, G. y Bonetto, C. (2007). Removal efficiency of a constructed wetland for wastewater treatment according to vegetation dominance. *Chemosphere* 68: 1105–1113.
- Manzi R. y Gallardo M. (1970). Geografía de Santa Fe. Ed. Spadoni S.A. Mendoza. 192 pp.
- Marchese M., Gagneten A.M., Parma M.J., Pavé P.J. (2008). Accumulation and elimination of chromium by freshwater species exposed to spiked sediments.

- Archives Environmental Contamination and Toxicology* DOI 10-1007/s00244-008 9139-0.
- Marcovecchio J.E. (2004) The use of *Micropogonias furnieri* and *Mugil liza* as bioindicators of heavy metals pollution in La Plata river estuary, Argentina *Science of The Total Environment* 323 (1-3): 219-226.
- Marcovecchio J.E., Moreno, V.J. y Pérez, A. (1988). Determination of heavy metal concentrations In Biota of Bahía Blanca, Argentina. *The Science of the Total Environment* 75: 181 190.
- Marcovecchio J.E., Botté S.E. y Freije R.H. (2007). Heavy Metals, Major Metals, Trace Elements. In: L. Nollet (ed), Handbook of Water Analysis, Taylor and Francis Group LCC, Florida (USA) 784 pp.
- Margalef R. (1983). Limnología. Ed. Omega, Barcelona. 1010 pp.
- Margalef R. (1974). Ecología. Ediciones Omega. Barcelona. España. 951 pp.
- McCallum I.D. (1976). A simple method of taking a subsample of zooplanton. N.Z. *Journal of Marine and Freshwater Research* 13: 559 - 560.
- Mei B., Puryear J.D, Newton R.J. (2002). Assessment of Cr tolerance and accumulation in selected plant species. *Plant Soil* 247: 223-231.
- Mikschi E. (1989). Rotifer distribution in relation to temperature and oxygen content. *Hydrobiologia* 186-187 (1): 209-214.
- Miliou H., Verriopoulos G., Maroulis D., Bouloukos D. y Moraitou-Apostolopoulou M.. (2000). Influence of Life-History Adaptations on the Fidelity of Laboratory Bioassays for the Impact of Heavy Metals (Co super(2+) and Cr super(6+)) on Tolerance and Population Dynamics of *Tisbe holothuriae*. *Marine Pollution Bulletin* 40 (4): 352-359.
- Moreno J.E.A. de, Gerpe M.S., Moreno V.J. y Vodopivec C. (1997). Heavy metals in Antarctic organisms. *Polar Biology* 17: 131-140.
- Moriarty F. (1985). Ecotoxicología. Ed. Academia. 248 p.
- Mosulishvili L.M., Belokobylsky A.I., Khisanishvili A.I., Frontasyeva M.V., Kirkesali E.I. y Aksenova N.G. (2004). Application of epithermal Neutron Activation Analysis to Investigate accumulation and adsorption of Mercury by *Spirulina platensis* biomass. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 14 (35): 1-10.
- Moyano M., Moresco H., Blanco J., Rosadilla M., y Caballero A. (1993). Baseline studies of coastal pollution by heavy metals, oil and PAHs in Montevideo. *Marine Pollution Bulletin* 26 (8): 461- 464.

- Müller G. (1981). Die Schwermetallbelastung der Sedimente des Neckars und seiner Nebenflüsse: eine Bestandsaufnahme. *Chemical Zeitung*, 105: 157-164.
- Muniz P., Venturini N. y Gómez-Erache N. (2004). Spatial distribution of chromium and lead in the benthic environmental coastal areas of the Río de la Plata estuary (Montevideo, Uruguay). *Brazilian Journal of Biology* 64 (1): 103-116.
- Nelson S.M., Roline R.A., Thullen J.S., Sartoris J.J. y Boutwell J.E. (2000). Invertebrate assemblages and trace element bioaccumulation associated with constructed wetlands. *Wetlands* 20: 406-415.
- Nogrady T., Wallace, R.L. y Snell, T.W., (1993). *Biology, Ecology and Systematics*. Vol. 4. Nogrady, T. Ed, Rotifera I. Leiden: SPB Academic Publishing.
- Oldani N. (1990). Variaciones de la abundancia de peces del valle del río Paraná (Argentina). *Revista de Hidrobiología Tropical* 23: 67-76.
- Oliveros O.B. (1980). Campaña limnológica "Keratella I" en el Río Paraná Medio: Aspectos tróficos de peces de ambientes leníticos. *Ecología* 4: 115-126.
- Omori M. e Ikeda T. (1984). *Methods in marine zooplankton ecology*. Ed. John Wiley and Sons. 330 pp.
- Pace, M.L. y Orcutt, J.D. (1981). The relative importance of protozoans, rotifers, and crustaceans in a freshwater zooplankton community. *Limnology and Oceanography* 26 (5): 822-830.
- Paggi J.C. (1995). Cladocera. En: Lopretto E and G Tell (eds) *Ecosistemas de aguas continentales. Metodología para su estudio*. Tomo III: 909-951. Ediciones Sur, La Plata, Argentina.
- Paggi J.C. (2006). Redescription and re-evaluation of the taxonomic status of the Neotropical copepod *Diaptomus falcifer* Daday, 1905 (Calanoida: Diaptomidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 41(1): 67-78.
- Paggi J.C. y José de Paggi, S. (1974). Primeros estudios sobre el zooplancton de las aguas lóxicas del Paraná medio. *Physis* 33 (86):91-114.
- Paggi J.C. y José de Paggi, S. (1990). Zooplancton de ambientes lóxicos e lénticos do rio Paraná Medio. *Acta Limnologica Brasileira* 111: 685-719.
- Paggi J.C. (2004). Importancia de la fauna de "Cladoceros" (Crustacea, Brachiopoda) del Litoral Fluvial Argentino. *INSUGEO* 12: 5-12.

- Paterson M.J., Rudd J.W.M. y St. Louis, V. (1998). Increases in total and methylmercury in zooplankton following flooding of a peatland reservoir. *Environmental Science and Technology* 32 (24): 3868-3874.
- Pecorari S., José de Paggi S. y Paggi J.C. (2006) Assesment of the urbanization effect on a lake by zooplankton. *Water Resources* 33 ( 6): 677–685.
- Pempkowiak J., Walkusz-Miotk J, Beldowsk J. y Walkusz W. (2006). Heavy metals in zooplankton from the Southern Baltic. *Chemosphere* 62: 1697-1708.
- Pennak, R.W. (1989). *Freshwater Invertebrates of the United States*. 3º ed. J. Wiley and Sons. 625 p.
- Phillips D.J.H. (1994). *Bioaccumulation*. En Handbook of Ecotoxicology. Peter Calow ed. Blackwell Science. 885 pp.
- Pignata M.L., Plá R.R., Jasan R.C., Martínez M.S., Rodríguez J.H., Wannaz E.D., Gudiño G.L., Carreras H.A. y González C.M. (2007). Distribution of atmospheric trace elements and assesment of air quality in Argentina employing the lichen, *Ramalina celastri*, as a passive biomonitor: detection of air pollution emission sources. *International Journal of Environment and Health* 1 (1): 29-46.
- Prakasham R.S., Sheno Merrie J., Sheela R., Saswathi N. y Ramakrishna S.V. (1999). Biosorption of chromium VI by free and immobilized *Rhizopus arrhizus*. *Environmental Pollution* 104: 421-427.
- Prepas, E.C. (1984). Some statistical methods for the design of experiments and analysis of simples, 266-335 pp. En: Downing, J. A. y F. Rigler (eds) A manual on methods for the assessment of secondary productivity in freshwaters. 2nd. Ed. Blackwell, Oxford.
- Rao R.R., Holzbecher J. y Chatt A. (1995). Epithermal instrumental neutron activation analysis of biological reference materials for iodine. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. 352 (1-2): 53-57.
- Rapport D.J., Regier H.A. y Hutchinson T.C. (1985). Ecosystem behaviour under stress. *American Naturalist* 125: 617-640.
- Rapport D.J. and Whitford, W.G. (1999). How ecosystems respond to stress. *BioScience* 49 (3): 193–203.
- Ravera O. (1996). Zooplankton and trophic state relationships in temperate lakes. *Memoria Instituto Italiano di Idrobiologia* 54: 195-212.
- Ravera O. (2001). Monitoring of the aquatic environment by species accumulator of pollutants: a review. *Journal of Limnology* 60 (1): 63-78.

- 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). *Universidade de Sao Paulo. Bolm. Zool.* 9: 17-143.
- Rinderhagen M., Ritterhoff J. y Zauke G. (2000). *Crustaceans as Bioindicators*. Carl von Ossietzky Universität Oldenburg, FB Biologie (ICBM) *In: Biomonitoring of Polluted Water – Reviews on Actual Topics*. (Ed: A. Gerhardt). Trans Tech Publications – Scitech Publications, 161-194.
- Ringuelet, R.A. (1958). Los crustáceos copépodos de las aguas continentales en la República Argentina. Sinópsis sistemática. *Contribuciones Científicas. Serie Zoología*, 1(2). Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Buenos Aires. 126 pp.
- Roch M., Nordin R., Austin A., Mckean C., Deniseger J., Kathman R., Mccarter M. y Clark J. (1985). The effects of heavy metal contamination on the aquatic biota of Buttle Lake and the Campbell River Drainage (Canada). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 14: 347-362.
- Roditi H.A. y Fisher N.S. (1999). Rates and routes of trace element uptake in zebra mussels. *Limnology and Oceanography* 44 (7): 1730-1749.
- Roditi H.A., Fisher N.S. y Sanudo-Wilhelmy, S.A. (2000). Field testing a metal bioaccumulation model for zebra mussels. *Environmental Science and Technology* 34: 2817-2825.
- Rollinson C.L. (1973). The Chemistry of Chromium, Molybdenum and Tungsten. Ch. 36 of *Comprehensive Inorganic Chemistry*. Pergamon Press. 769 pp.
- Rosenberg D. y Resh V. (1993). Introduction to Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates, in: D. Rosenberg and V. Resh (eds.), *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. New York, 1-9 pp.
- Rossi L.M. (1989). Alimentación de larvas de *Salminus maxillosus* Val 1840 (Pisces Characidae). *Iheringia Serie Zoolgia* 69:49–59.
- Rossi L.M. (1992). Evolución morfológica del aparato digestivo de postlarvas y prejuveniles de *Prochilodus lineatus* (Val., 1847) (Pisces, Curimatidae) y su relación con la dieta. *Revista Hydrobiologia Tropical* 25:159–167.
- Rossi L.M. (2001). Ontogenetic diet shifts in a neotropical catfish, *Sorubim lima* (Schneider) from the River Paraná system. *Fish Management Ecology* 8:141–152.



- Ruangsomboon, S. y Wongrat L. (2006). Bioaccumulation of cadmium in an experimental aquatic food chain involving phytoplankton (*Chlorella vulgaris*), zooplankton (*Moina macrocopa*), and the predatory catfish *Clarias macrocephalus* and *C. gariepinus*. *Aquatic Toxicology* 78 (1): 15-20.
- Ruttner Kolisko, A. (1977). Plankton Rotifers: Biology and Taxonomy. Lubrecht & Cramer Ltd. 146 pp.
- Sadiq M., Mian A. y Saji A.P. (1996). Metal Bioaccumulation by Sea Urchin (*Echinometra mathaei*) from the Saudi Coastal Areas of the Arabian Gulf: 2. Cadmium, Copper, Chromium, Barium, Calcium, and Strontium. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 57: 964-971.
- Salomons W. y Förstner U. (1984). Metals in the Hydrocycle. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. New York, Tokyo, 349 pp.
- Scarlato N.A., Marcovecchio J.E., Pucci A.E. (1997). Heavy metal distribution in zooplankton from Buenos Aires coastal waters (Argentina) *Chemical Speciation and Bioavailability* 9 (1): 21-26.
- Schindler D.W. (1987). Detecting Ecosystem Responses to Anthropogenic Stress. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 44 (1): 6-25.
- Sigg L. y Xue H. (1994). Metal Speciation: Concepts, analysis and effects. In: *Chemistry of Aquatic Systems: Local and Global Perspectives*, 153-181 pp. G. Bidoglio and W. Stumm eds.
- Sokal, R.R. y Sneath, P.A. (1963). Principles of numerical taxonomy. Freeman Ed. San Francisco.
- Song K.H. y Breslin V.T. (1999). Accumulation and transport of sediment metals by the vertically migrating opossum shrimp, *Mysis relicta*. *Journal of Great Lakes Research* 25 (3): 429-442.
- Su Y., Han F.X., Maruthi Sridhar B.B, y Monts D.L. (2005). Phytotoxicity and phytoaccumulation of trivalent and hexavalent chromium on brake fern. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24: 2019-2026.
- Subsecretaría de Medio Ambiente y Ecología (1998). Inf. N° 111/98 ACCH. Ref.: Estudio de metales pesados en la Cuenca del Río Salado Inferior. 23 p.
- Subsecretaria Recursos Hídricos de la Nación (<http://www.hidricosargentina.gov.ar>).
- Summer, M. E. (2000). Handbook of Soil Science. CRC Press.

- Sunda W.G., Tester P.A y Huntsman S.A. (1990). Toxicity of Trace Metals to *Acartia tonsa* in the Elizabeth River and Southern Chesapeake Bay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 30: 207-221.
- Suñe N., Sánchez G., Caffaratti S. y Maine M.A. (2007). Cadmium and chromium removal kinetics from solution by two aquatic macrophytes. *Environmental Pollution* 145: 467-473.
- Sylva R.N. (1975). The environment chemistry of copper (II) in aquatic systems. *Water Research* 10: 789-792.
- Tortorelli M. del C. y Hernández D.A. (1995). Calidad de agua de un ambiente acuático sometido a efluentes contaminantes. En. *Ecosistemas de aguas continentales. Metodologías para su estudio*. Tomo 1. Estela C. Lopretto y Guillermo Tell directores. Ed. Sur.377 p.
- Turesson E.U., Stiernstrom S., Minten J., y Adolfsson-Erici M. (2007). Development and reproduction of the freshwater harpacticoid copepod *Attheyella crassa* for assessing sediment-associated toxicity. *Aquatic Toxicology* 83 (3):180-189.
- UNEP (1991). Tanneries and the Environment. A Technical Guide to Reducing the Environmental Impact of Tannery Operations. Technical Report Series No. 4. United Nations Environment Programme Industry and Environment Office.
- Veado M.A.R.V., Heeren A.O., Severo M.I., Grenier-Loustalot M.F., Arantes I.A., Cabaleiro H.L. y Almeida M.R. (2007). INAA and ICP-MSHS: Metal pollutants in fish tissues Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Pampulha Lake, Belo Horizonte city, Minas Gerais State, Brazil). *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 272 (3): 511–514.
- Verriopoulos G. y Moraitou-Apostolopoulou M. (1982). Differentiation of the Sensitivity to Copper and Cadmium in Different Life Stages of a Copepod. *Marine Pollution Bulletin* 13 (4):123-125.
- Versieck J., Hoste J., Barbier F. y Michels H. (1978). Determination of Chromium and Cobalt in Human Serum by Neutron Activation Analysis. *Clinical Chemistry* 24 (2): 303-308.
- Wang W.X., y Fisher N.S. (1998). Accumulation of trace elements in a marine copepod. *Limnology and Oceanography* 43: 273-283.
- Wang W.X. y Fisher N.S. (1999). Delineating metal accumulation pathways for marine invertebrates. *Science of the Total Environment* 238: 459-472.

- Wang W.X. y Guo L. (2000). Influences of natural colloids on metal bioavailability to two marine bivalves. *Environmental Science and Technology* 34: 4571-4576.
- Wang W.X., Qiu J.W. y Qian, P.Y. (1999). The trophic transfer of Cd, Cr, and Se in the barnacle *Balanus amphitrite* from planktonic food. *Marine Ecology-Progress Series* 187: 191-201.
- Wannaz E.D., Harguinteguy C.A., Jasan R., Plá R.R. y Pignata M.L. (2008). Identification of atmospheric trace-element sources by passive biomonitoring employing PCA and variogram analysis. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 88 (4): 229-243.
- Wentworth C. (1933). A scale of grade and class terms for clastic sediments. *Journal of Geology* 30: 377-392.
- Wentworth C. (1935). Fundamental limits of the sizes of clastic grains. *Science* 77: 633-634.
- Winner R.M. (1986). Interactive effects of water hardness and humic acid on the chronic toxicity of cadmium to *Daphnia pulex*. *Aquatic Toxicology* 8: 281-293.
- Wong P.P.K., Chu L.M. y Wong C.K (2000). Study of toxicity and bioaccumulation of copper in the silver sea bream *Sparus sarba*. *Environment International* 25 (4): 417-422.
- Wood C.M.; McDonald D.G.; Ingersoll C.G.; Mount D.R., Johannsson O.E. Landsberger S. y Bergman H.L. (1990). Effects of water acidity, calcium, and aluminum on whole body ions of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) continuously exposed from fertilization to swim-up: A study by instrumental neutron activation analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 47 (8): 1593-1603.
- World Health Organization (1989). Environmental Health Criteria 85. Lead-Environmental Aspects. Geneva. 8-59 pp.
- World Resources Institute, United Nations Development Programme, United Nations Environment Programme and World Bank (2000). World Resources 2000-2001. Washington, D.C. USA. <http://www.wri.org/> World Resources Institute.
- Xue H. y Sigg L. (1993). Free cupric ion concentration and Cu (II) speciation in a eutrophic lake. *Limnology and Oceanography* 38 (6):1200-1213.

- Xue H., Kistler D. y Sigg L. (1995a). Competition of copper and zinc for strong ligands in a eutrophic lake. *Limnology and Oceanography* 40 (6): 1142-1152.
- Xue H., Oestreich A., Kistler D. y Sigg L. (1995b). What forms of copper are there in different lakes and rivers? *EAWAG NEWS* 39: 13-16.
- Yan N., Girard R., Heneberry J., Keller W., Gunn, J. y Dillon P. (2004). Recovery of copepod but not cladoceran zooplankton from severe chronic effects of multiple stressors. *Ecological Letters* 7: 452-460.
- Zauke G.P. y Schmalenbach I. (2006). Heavy Metals in Zooplankton and Decapod Crustaceans from the Barents Sea. *Science of the Total Environment* 359: 283-294.
- Zauke G.P., Krause M. y Weber. A (1996). Trace Metals in Mesozooplankton of the North Sea: Concentrations in Different Taxa and Preliminary Results on Bioaccumulation in Copepod Collectives (*Calanus finmarchicus* / *C. helgolandicus*). *International Review of Hydrobiology* 81: 141-160.
- Zheng J., Goessler W., Geislinger A., Kosmus W., Chen B., Zhuang G., Xu K. y Sui G. (1997). Multi-element determination in earthworms with instrumental neutron activation analysis and inductively coupled plasma mass spectrometry: A comparison. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 223 (1-2): 149-155.
- Zou E. y Bu S. (1994). Acute toxicity of copper, cadmium and zinc to the water flea, *Moina irrasa* (Cladocera). Bul.52 II. *Environmental Contamination and Toxicology* 52: 742-748.

