

Libros de **Cátedra**

Principios de Ecotoxicología

Pedro Carriquiriborde (coordinador)

FACULTAD DE
CIENCIAS EXACTAS

e
exactas


EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

PRINCIPIOS DE ECOTOXICOLOGÍA

Pedro Carriquiriborde
(coordinador)

Facultad de Ciencias Exactas



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA


Edulp
EDITORIAL DE LA UNLP

Agradecimientos

Agradecemos sinceramente a EDULP por subsidiar la edición del presente libro. A las instituciones que nos brindan lugar de trabajo y nos permiten investigar e impartir los conocimientos vertidos en este libro. A nuestras familias por el apoyo incondicional.

*Hay algo infinitamente reparador en el reiterado ritmo de la naturaleza,
la garantía de que el amanecer llega tras la noche, y la primavera tras el invierno.*

RACHEL LOUISE CARSON, El Sentido del Asombro

Índice

Prefacio _____ 8

Capítulo 1

Introducción _____ 10

Dr. Pedro Carriquiriborde

PRIMERA PARTE

Los contaminantes en el ambiente y su acumulación en la biota

Capítulo 2

Principales familias de contaminantes, fuentes, distribución y destino ambiental _____ 27

Dra. Karina Miglioranza

Capítulo 3

Biodisponibilidad, biotransformación, bioacumulación y biomagnificación
de los contaminantes _____ 62

Dr. Pedro Carriquiriborde

SEGUNDA PARTE

Efecto de los contaminantes sobre los organismos

Capítulo 4

Bases sobre los efectos tóxicos inducidos por los contaminantes _____ 94

Dr. Pedro Carriquiriborde

Capítulo 5

Estrés Oxidativo _____ 116

Dr. José María Monserrat

Capítulo 6

Neurotoxicidad _____ 126

Dra. Olga Anguiano; Dra. Ana Ferrari

Capítulo 7

Genotoxicidad y carcinogénesis _____ 148

Celeste Ruiz de Arcaute, Milagros Laborde, Sonia Soloneski y Marcelo L. Larramendy

Capítulo 8

Disrupción Endócrina _____ 184

Dr. Gustavo Somoza, Dra. Fabiana Lo Nostro

Capítulo 9

Alteración del Comportamiento _____ 191

Bettina Eissa y Natalia Ossana

TERCERA PARTE

Respuestas a nivel de los ecosistemas

Capítulo 10

Efectos de los contaminantes sobre poblaciones _____ 209

Dr. Federico Rimoldi

Capítulo 11

Efectos sobre las comunidades biológicas _____ 232

Dra. Ana María Gagneten, Dra. Luciana Regaldo

CUARTA PARTE

Herramientas de la Ecotoxicología

Capítulo 12

Bioensayos de toxicidad _____ 268

Dra. Leticia Peluso

Capítulo 13

Biomarcadores de Contaminación _____ 291

Dra. Valeria Amé, Dra. Jimena Cazenave, Dra Mirta Menone

Capítulo 14

Evaluación de Riesgo Ecotoxicológica _____ 309

Dr. Pablo Demetrio

Los Autores _____ 336

CAPÍTULO 11

Efectos sobre las comunidades biológicas

Gagneten, Ana María y Regaldo, Luciana

*Social rules can be broken, but the laws of nature can't.
Without profound respect for Nature and compassion
for life, all life, knowledge is likely to be insufficient.*
J. T. TREVORS & M. H. SAIER JR, Three Laws of Biology

En la **Sección 1** del presente capítulo, se expondrán brevemente conceptos básicos sobre el nivel de comunidad, que pueden profundizarse en textos de Ecología general y se presentarán los diferentes ensayos ecotoxicológicos disponibles, destacando sus ventajas y desventajas, haciendo hincapié en los bioensayos multiespecíficos que por su complejidad son los más apropiados para estudiar efectos al nivel comunitario. Se presentan resultados del grupo de trabajo realizados con una o dos especies, y se explicitan algunos criterios para la selección de las especies de prueba.

A continuación, en la **Sección 2** se expondrán en primer lugar los estudios de efectos sobre dos o más especies, hasta el nivel ecosistémico. Se presentarán definiciones, y ejemplos resumidos en la tabla 1, así como los tipos de bioensayos multiespecíficos, los puntos finales utilizados y aspectos a tener en cuenta a la hora de diseñar test multiespecíficos. En segundo lugar, se presentarán herramientas metodológicas mediante algunos ejemplos de experimentos realizados en este nivel de organización biológica por nuestro equipo de trabajo.

En la **Sección 3** se discutirán algunos índices que se utilizan para abordar conceptualmente la complejidad de los experimentos al nivel de comunidad, y se comentan resultados del grupo de trabajo con este nivel de organización biológica, exponiendo sus alcances y limitaciones.

Finalmente, se presentan conclusiones parciales referidas a los trabajos con zooplancton, y conclusiones más generales vinculadas a la ecotoxicología de comunidades.

Sección 1: El nivel de Comunidad biológica

Una comunidad se define como un grupo de poblaciones interactuantes en un mismo espacio y tiempo. Sin embargo, el estudio de las comunidades trasciende la simple descripción de características demográficas y de historia de vida de las poblaciones individuales. Los ecólogos de

comunidades no se limitan a describir las tasas de natalidad y mortalidad u otros rasgos de las poblaciones aisladas, sino que se focalizan en las interacciones entre estas poblaciones en los sistemas naturales.

El principal objetivo de la ecología de comunidades es describir los patrones de organización de las comunidades y explicar los procesos subyacentes que gobiernan estos patrones (Wiens, 1984 en Clements y Newman, 2002).

Las comunidades representan un nivel intermedio de complejidad en la jerarquía de la organización biológica. Se diferencian de las poblaciones y ecosistemas, pero interactúan fuertemente con estos niveles inferiores y superiores de organización (Figura 11.1). Por ejemplo, en sitios contaminados es frecuente observar la pérdida de especies sensibles y su reemplazo por especies tolerantes. Así, la presencia o ausencia de especies sensibles o tolerantes a la contaminación permite a los ecotoxicólogos de comunidades estimar el grado relativo de contaminación en campo.

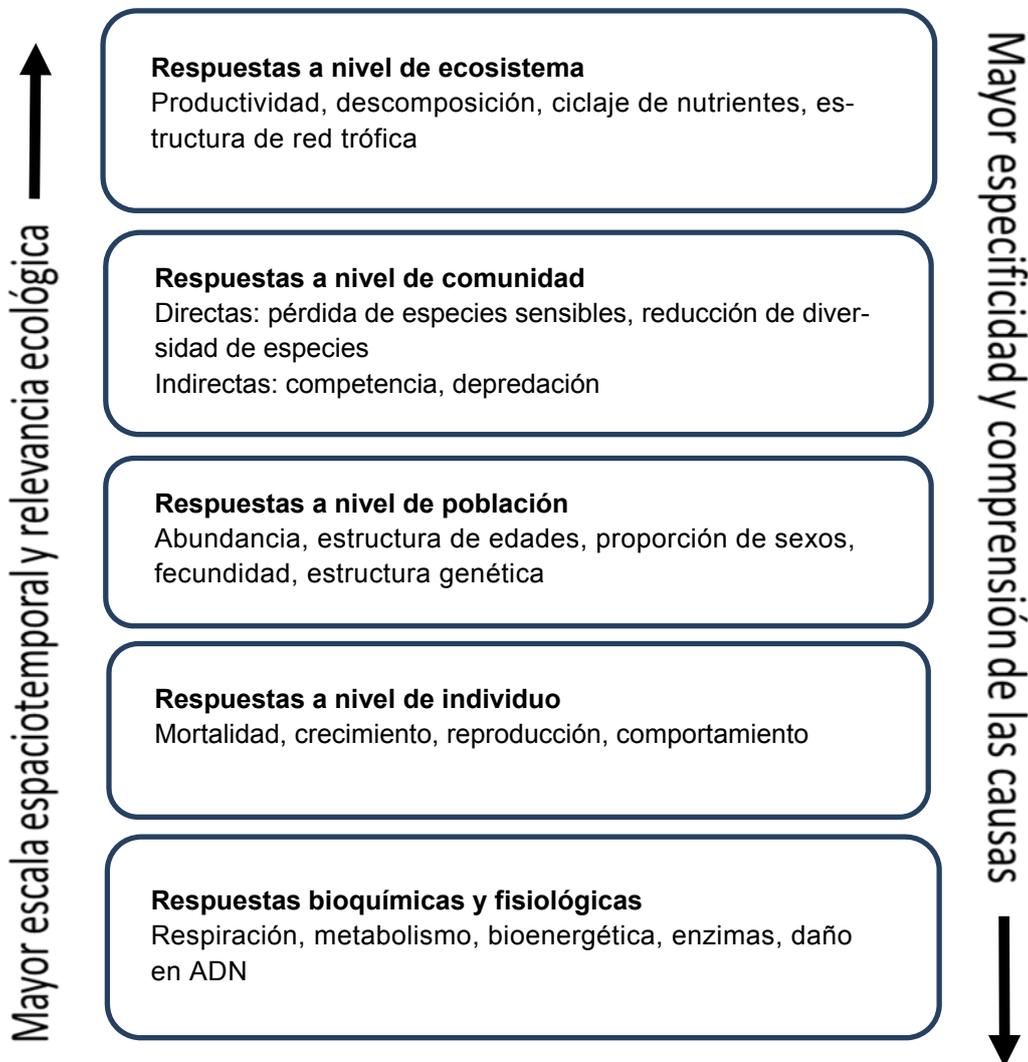


Figura 11.1: Efectos de contaminantes a través de los niveles de organización biológica. Las respuestas a niveles más bajos de organización biológica (bioquímico, fisiológico) son generalmente más específicas y mejor conocidas en términos de mecanismos subyacentes. Las respuestas a niveles más altos de organización biológica (comunidades y ecosistemas) ocurren en escalas espacio-temporales mayores y tienen más relevancia ecológica pero generalmente carecen de explicaciones mecánicas (Modificada de Clements y Newman, 2002).

Definiciones y conceptos

Una comunidad biológica se define clásicamente como "un conjunto de poblaciones de diferentes especies que viven en un área determinada o hábitat físico: es una unidad organizada en la medida en que tiene características adicionales a sus componentes individuales y poblacionales, es la parte viva del ecosistema" (Odum, 1971). Una comunidad, que habita por ejemplo un río, un campo o un bosque de ribera, está formada por especies que interactúan y forman una unidad organizada (Magurran, 1988).

Magurran (1988), sugiere el término *ensamblaje de especies* para cualquier agrupación definida operacionalmente, como por ejemplo un ensamble de especies del zooplancton, que actúan como filtradores planctónicos. Muchos modelos e índices se enmarcan en el contexto de la comunidad, pero se aplican pragmáticamente a taxocenosis o conjuntos de especies. Aunque este enfoque sigue siendo valioso y necesario, la interpretación de los resultados asociados debe ser moderada, entendiendo que un conjunto de especies, ensamble de especies o taxoceno no es la comunidad completa.

Las cualidades de la comunidad, de la metacomunidad y del ecosistema se ven afectadas por factores abióticos, incluidos los contaminantes. Desde hace ya varias décadas se estudian el destino y los efectos ecotoxicológicos de los contaminantes sobre las comunidades.

La teoría jerárquica (O' Neill et al., 1986) sostiene que los mecanismos causales que ayudan a comprender los efectos y cambios que ocurren en el nivel de organización comunitario a menudo se encuentran en el nivel inferior de organización biológica, es decir, en el nivel de población o metapoblación. Por ejemplo, el cambio puede ocurrir porque la viabilidad de una población de una especie en particular se redujo por el efecto de un tóxico sobre el crecimiento, la supervivencia o la reproducción.

Las propiedades emergentes también deben considerarse cuidadosamente en los niveles superiores de organización biológica. Las propiedades emergen en sistemas jerárquicos que no pueden predecirse únicamente a partir de nuestra comprensión limitada de las partes o componentes de un sistema. Sin embargo, a menudo subyacen procesos que no tienen una interpretación tan lineal. Por ejemplo, puede ocurrir la pérdida indirecta de varias especies porque el tóxico eliminó directamente a una especie clave importante. Una especie clave es aquella que influye en la comunidad por su actividad o función, no por su dominio numérico. Así, una especie resistente a la acción directa de un tóxico desaparecería porque otra especie que desempeña un papel crucial en la comunidad fue eliminada.

Ecotoxicología de comunidades

La ecotoxicología de comunidades es el estudio de los efectos de químicos y de agentes físicos sobre la abundancia, diversidad e interacciones de especies. Los ecotoxicólogos de

comunidades también describen los patrones en la estructura de las comunidades (por ejemplo, número y diversidad de especies, organización trófica) y los mecanismos que explican estos patrones. La ecotoxicología de comunidades se diferencia de la ecotoxicología de ecosistemas en que se centra en conocer los efectos de los contaminantes sobre la estructura de las comunidades y no en procesos ecosistémicos, tales como el flujo de energía y el ciclaje de nutrientes.

Existe una necesidad urgente de estudiar los efectos de los contaminantes sobre la biota y los procesos que sustentan la biodiversidad ambiental y los servicios del ecosistema. La posibilidad de estudiar experimentalmente los sistemas ecológicos al nivel de las comunidades permite comprender el destino del tóxico, las vías de exposición y los efectos de los contaminantes sobre las mismas. Así, el estudio de las comunidades tiene valor predictivo porque permite conocer el modo en que los contaminantes pueden afectar a los ecosistemas en su conjunto. A su vez, la investigación básica sobre redes e interacciones tróficas en ecología de comunidades ha incrementado la capacidad de interpretación y predicción acerca del transporte de contaminantes entre niveles tróficos y sobre sus efectos en la estructura trófica.

Evaluación general de efectos

Como se mencionó previamente, para evaluar los efectos a nivel de comunidad biológica, es preciso conocer los atributos poblacionales y parámetros de historia de vida de las especies que la componen.

Con el objetivo de determinar la concentración de sustancias tóxicas por debajo de las cuales la comunidad está protegida, se ha desarrollado una amplia gama de enfoques experimentales prácticos. En términos generales, una prueba de toxicidad es un intento de simulación en el laboratorio de algunas de las condiciones químicas o físicas a las que los organismos en sistemas naturales podrían estar expuestos, al menos teóricamente (Cairns y Cherry, 2009). El enfoque de especies más sensibles propone determinar cuáles son las especies más sensibles o menos tolerantes en una comunidad, como un indicador de las concentraciones a evitar, bajo el supuesto de proteger de este modo, a todas las especies de la comunidad o del ensamble de especies. A pesar de la gran ventaja de su simplicidad, surgen varias dificultades con este enfoque aparentemente aceptable (Cairns, 1986). En primer lugar, es dudosa la suposición de que las especies sobre las cuales se realizan los experimentos y los efectos medidos realmente reflejen lo más sensible de la comunidad.

Por otro lado, el supuesto de que la recopilación de los valores NOEC (*No observed effect concentration*) o LCx (*Lethal concentration*) derivados de las pruebas de laboratorio reflejarían con precisión las concentraciones nocivas para una comunidad resulta difícil de justificar (Newman et al., 2015). A menudo, los valores se derivan de las especies de prueba estándar (muy frecuentemente del hemisferio norte) y están sesgados hacia ciertos taxones. Más allá

de este sesgo hacia las especies de laboratorio y la tendencia a pasar por alto las interacciones ecológicas, es difícil saber cuántos valores de NOEC se necesitan para entender efectivamente las diferencias entre la sensibilidad de las especies en una comunidad entera o incluso en un conjunto de especies.

Estudios de efectos sobre una sola especie

Muchos autores han desarrollado técnicas y protocolos de bioensayos, utilizando a diferentes especies planctónicas (cladóceros, copépodos, rotíferos, microalgas), de vertebrados (acuáticos y terrestres) y especies vegetales (acuáticas y terrestres) como organismos test. Las modificaciones observadas en el ciclo de vida de las especies centinela pueden estar vinculadas a cambios en condiciones naturales o antrópicas. Es recomendable conocer aspectos de los ciclos de vida de los organismos en estudio a fin de no realizar extrapolaciones que pueden ser erróneas al atribuir a procesos de contaminación, cambios poblacionales que encuentran su explicación en procesos ecofisiológicos.

Los primeros criterios ecotoxicológicos para evaluar la toxicidad de los contaminantes sobre las especies acuáticas fueron la mortalidad y los daños reproductivos en ensayos cortos. Sin embargo, la necesidad de obtener información de efectos subletales a bajas dosis de contaminantes, que permita detectar el estrés previo a la muerte y tomar medidas oportunas para mitigar los riesgos, promovió nuevos enfoques metodológicos.

Estos ensayos son globalmente conocidos y aprobados, dado que se realizan siguiendo protocolos estandarizados de USEPA (1986, 2002 a, b), APHA (1998), EPA (2002 a, b y c), CEWQ (2003), OECD (2011), CEPA (2012), entre otros.

La bioconcentración y bioacumulación, es a menudo un buen indicador integrador de las exposiciones de los organismos a los contaminantes (Luoma y Rainbow, 2005). En estudios de bioconcentración utilizando Análisis de Activación Neutrónica Instrumental (AANI), el copépodo *Argyrodiaptomus falcifer* acumuló significativamente cromo (Cr) respecto al control (Gagneten et al., 2009). En estudios desarrollados por Regaldo et al. (2009), *Chlorella vulgaris* acumuló significativamente más Cr que *Daphnia magna* posiblemente porque el cladóceros puede detoxificar los metales acumulados en su exoesqueleto mediante ecdisis periódicas. Andreotti y Gagneten (2006), analizaron si el Cr puede quedar biodisponible desde sedimentos contaminados, afectando atributos del ciclo de vida en cladóceros nativos. Ceresoli y Gagneten (2004), encontraron efectos negativos sobre la supervivencia y fecundidad de *Ceriodaphnia dubia* con el aumento en la concentración de efluentes de curtiembre (menor número de crías/hembra, aumento del tiempo de desarrollo, retraso de la edad de primera reproducción y disminución del número de mudas). Por su parte, Gutierrez et al. (2008) ensayaron la transferencia trófica del Cr(VI) ($K_2Cr_2O_7$) con tres especies, registrando bioacumulación de este metal por parte de *D. magna* y transferencia de Cr(VI) al pez *Cnesterodon decemmaculatus* (biomagnificación).

El grupo de trabajo consideró relevante estudiar comparativamente los puntos finales de especies nativas y de *D. magna*, una especie estandarizada de distribución Holártica, dado que

permite compararla con el grado de sensibilidad de especies del litoral fluvial argentino (LFA) a los fines de aportar al conocimiento del grado de tolerancia de especies nativas, dado que, en general los niveles guía establecidos para la protección de la biota a nivel global se establecen utilizando especies estandarizadas, frecuentes en ambientes acuáticos del hemisferio norte.

En ensayos de toxicidad crónica de cobre (Cu), Cr y plomo (Pb) sobre *Moinodaphnia macleayi* y *C. dubia* (dos especies de cladóceros representativos del LFA) comparándolo con *D. magna*, se encontró que el Cu afectó significativamente distintos atributos de historia de vida de las tres especies. Bajas concentraciones de Cu y Pb no afectaron la sobrevivencia, el número de muda y la fecundidad de *D. magna* pero sí de *M. macleayi* y *C. dubia* (Regaldo et al., 2014), por lo que se destaca la importancia de utilizar como modelos biológicos, especies zooplánctónicas representativas del hemisferio sur. En otro estudio, *D. magna* manifestó menor sensibilidad que las especies nativas, siendo más tolerante al Cr y al glifosato que al Cu y al endosulfán (Gutierrez et al., 2011).

Por otro lado, ensayos de ciclo de vida que posibilitan conocer atributos integradores como la tasa neta de crecimiento poblacional (Ro) permitieron proponer niveles guía menores de Cu para la protección de biota acuática (Gagneten y Vila, 2001). Por su parte, Gagneten et al. (2014) analizaron posibles efectos del herbicida glifosato (N-fosfometilglicina) sobre parámetros poblacionales de *Ceriodaphnia reticulata* no encontrando efectos adversos sobre la sobrevivencia, pero sí sobre la fecundidad. Los valores de Ro disminuyeron con el aumento en la concentración de glifosato, mostrando que este parámetro integrador es un buen bioindicador de toxicidad. Otro parámetro poblacional evaluado fue la tasa intrínseca (r) de crecimiento poblacional, aunque no fue tan relevante como Ro. En otro estudio, r no fue un parámetro muy sensible a los efectos del Cr y del Cu, aunque sí al insecticida endosulfan en el cladócero litoral *Pseudosida variabilis* (Gutierrez et al., 2011).

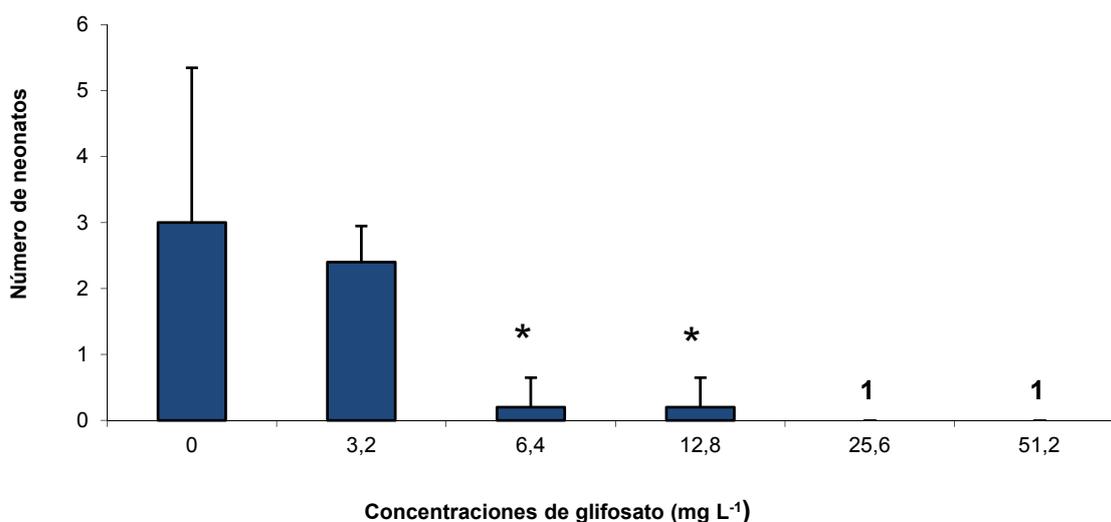


Figura 11.2: Fecundidad (N° de neonatos) de *S. vetulus* en ensayos de recuperación (15 días), luego de un período de exposición agudo (48 h) a 5 concentraciones de glifosato y el control. Las barras indican el desvío estándar (D.E.). El asterisco denota diferencias significativas con el control (ANOVA, $p < 0,05$). "1" indica la no producción de neonatos durante los 15 días del experimento.

Por su parte, Reno et al. (2015) compararon cambios en el ciclo de vida de especies planctónicas de distinto nivel trófico. Analizaron los efectos agudos de un formulado de glifosato (Es-koba®) sobre la microalga *C. vulgaris*, el cladócero *Simocephalus vetulus* y el copépodo *Notodiptomus conifer*, y la capacidad de recuperación de los organismos sobrevivientes. Los puntos finales en los ensayos de recuperación fueron sobrevivencia, edad de primera reproducción y fecundidad. El orden de sensibilidad fue: *S. vetulus* (EC_{50} 48-h: 21 mg L⁻¹), *C. vulgaris* (EC_{50} 72-h: 58,59 mg L⁻¹), *N. conifer* (EC_{50} 48-h: 95 mg L⁻¹). El crecimiento de *C. vulgaris* se inhibió a las 48 h. En los experimentos post exposición, los microcrustaceos redujeron sus expectativas de vida: *S. vetulus* disminuyó su fertilidad (Figura 11.2.) y *N. conifer* no desarrolló madurez sexual en las concentraciones más altas (Figura 11.3.). En síntesis, ambas especies perdieron la capacidad de recuperarse al efecto del glifosato.

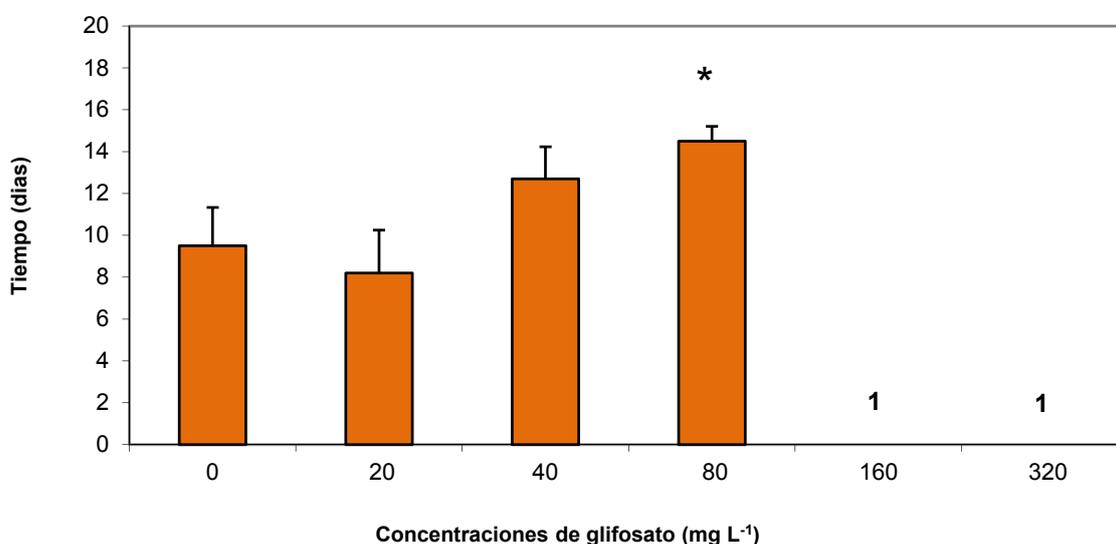


Figura 11.3: Tiempo (días) en el que *N. conifer* alcanza la madurez sexual (de copepodito 5 a 6) en ensayos de recuperación (15 días), luego de un período de exposición agudo (48 h) a 5 concentraciones de glifosato y el control. Las barras indican el D.E. El asterisco denota diferencias significativas con el control (ANOVA, $p < 0,05$). “1” indica que los organismos no alcanzaron el estado adulto, con efectos negativos sobre los organismos no blanco.

Reno et al. (2016) compararon Ro en poblaciones experimentales de *D. magna* y *C. dubia* expuestas a cuatro formulados de glifosato. También en este caso, la fecundidad fue el atributo más afectado en las dos especies. Se registraron alteraciones en el ciclo de vida por la producción de huevos abortados y efipios en *D. magna*. Ro para las dos especies de cladóceros fue <1 , condición que indicaría una disminución poblacional y posible extinción local en ambientes perturbados por los herbicidas evaluados.

Se destaca la relevancia de profundizar el conocimiento de puntos finales evaluados sobre especies nativas. Entre las especies representadas en el LFA sobre las cuales no existía información ecotoxicológica, pueden mencionarse los cladóceros *Pseudosida variabilis*, *Echinisca elegans*, *Moina micrura*, *C. reticulata*, *C. dubia* y *M. macleayi*; entre los copépodos, *Eucyclops neumani*, *Mesocyclops longisetus*, *A. falcifer* y *N. conifer*, que mostraron buenas

respuestas a contaminantes frecuentemente registrados en ambientes acuáticos continentales de Argentina y se proponen para profundizar su estudio con el objetivo de ser utilizadas en ensayos ecotoxicológicos.

Sección 2: Estudios de efectos sobre dos o más especies

Pruebas multiespecies a diferentes escalas

En los sistemas naturales, la complejidad, la superficie del área de estudio y la escala de tiempo aumentan juntos. Sin embargo, en sistemas diseñados experimentalmente, la complejidad y el tamaño pueden manipularse separadamente, logrando sistemas complejos en un tamaño razonable que permita la manipulación experimental. Entonces, es posible diseñar sistemas pequeños y complejos o sistemas grandes y simples según la pregunta que guíe la investigación, obteniendo así, resultados de la prueba de toxicidad con poder predictivo aplicable al caso ambiental en estudio.

Los ensayos multiespecies pueden ser diseñados con diferentes grados de complejidad que van desde pequeños, formados por un sistema de dos eslabones o componentes, por ejemplo, un sistema depredador-presa (Andrade et al., 2018), de transferencia trófica (Gutiérrez et al., 2008), o de comportamiento, cuantificando respuestas sutiles, para intentar conocer si un tóxico modifica las señales químicas de un depredador hacia su presa (Gutiérrez et al., 2011, Gutiérrez et al., 2012 a y b; Gutiérrez et al., 2016).

En el lado opuesto de complejidad de las pruebas multiespecie, se encuentran los ensayos a nivel ecosistémico, en los cuales se manipulan variables forzantes –por ej. el pH, la concentración de nutrientes- en relación con la carga de algún contaminante, tales como diferentes concentraciones de metales o plaguicidas, que pueden alterar todo el ecosistema, incluidas por supuesto, las comunidades biológicas.

Ensayos en estos niveles de complejidad biológica pueden tener puntos finales integrativos, por ejemplo, riqueza de especies, el grado de similitud, índices tróficos, flujo de energía, como se observa en la [Tabla 11.1](#) (según Newman, 2015).

Tabla 11.1: Variación de gradientes en el diseño y aplicación de test experimentales

<i>Complejidad de diseño</i>		
Pocos componentes	Baja Alta	Muchos componentes
Pocos puntos finales	↔	Muchos puntos finales, o puntos finales integradores
Posible de estandarizar	↔	Variación en la información de base
Replicabilidad	↔	Alta exactitud
Precisión	↔	Muy precisos
Bajo costo por unidad experimental	↔	Alto costo por unidad experimental

Escala del diseño		
Pequeñas unidades experimentales	Baja Alta	Unidades experimentales grandes
Receptor de bajo nivel de organización (ej. bacterias)	↔	Receptor de nivel de organización alto (ej. peces)
Receptor bajo en escala jerárquica (ej. procariontes)	↔	Receptor alto en escala jerárquica (ej. vertebrados)
Receptor bajo en redes tróficas (ej. microalgas)	↔	Receptor alto en redes tróficas (ej. Peces depredadores)
Receptor rápido en respuestas (ej. Biomarcadores)	↔	Receptor integrador de efectos de niveles más bajos (dinámica ecosistémica)
Respuesta rápida en términos del ciclo de vida del receptor	↔	Respuesta lenta en términos del ciclo de vida del receptor
Diferencias en complejidad y tamaño entre bioensayos y sus aplicaciones		
	Baja Alta	
Puntos finales son diferentes a los utilizados en monitoreo de sistemas naturales	↔	Puntos finales cualitativamente similares a los utilizados en monitoreo de sistemas naturales
Evaluación de riesgo, de abajo hacia arriba	↔	Evaluación de riesgo, de arriba hacia abajo
Causa conocida	↔	Efectos ambientales conocidos
Se combina un conjunto de bioensayos individuales para modelar efectos ambientales (muchas unidades experimentales)	↔	Se combina un solo test para predecir efectos ambientales (pocas unidades experimentales)
El traslado de resultados de test se traslada a predicciones de efectos ambientales (con error).	↔	Información directamente aplicable a predicciones en el sistema natural (con error).

Tipos de pruebas multiespecies

1) El **microcosmos acuático estandarizado (SAM)** es un microcosmos de 3 L diseñado para incluir muchas interacciones tróficas características de los sistemas acuáticos. Está diseñado para ser genérico, replicable e independiente del sitio de investigación, y se centra en las interacciones entre niveles tróficos (Cairns y Cherry, 1994).

2) Los ensayos de **microcosmos de tamaño mediano** incluyen sistemas artificiales en estanques y arroyos. Giddings (1986) desarrolló un microcosmos estático de 67 L que simula el área litoral de lagunas o estanques. Las comunidades que propuso incluir son: fito y zooplancton, bentos y macrófitas. Como puntos finales propuso incluir a la riqueza y similitud taxonómica, y el flujo de energía. Estas pruebas tienen un tamaño que permiten realizar un número de réplicas suficientes (al menos 3) como para que los resultados tengan validez estadística.

Se han diseñado muchos dispositivos diferentes con sistema de flujo de agua. Los diseños difieren en tamaño, patrones de flujo, profundidad, sustrato y ubicación –en el laboratorio o en el ambiente natural-. La mayoría de los sistemas medianos colocan comunidades de macroinvertebrados. Aunque potencialmente de gran utilidad, la mayoría de los diseños se han utilizado

para un solo químico por diferentes grupos de investigadores; por lo tanto, no han sido estandarizados, no son comparables en costo, consistencia o sensibilidad ni se han utilizado para evaluar varios químicos simultáneamente (Eaton et al., 1985).

3) Los **ensayos multiespecies** pueden ser **mesocosmos de estanques artificiales** del tipo utilizado actualmente en test para el registro de plaguicidas en los Estados Unidos (E.E. U.U.). Los mismos varían en tamaño, forma y sustrato y están diseñados para incluir plancton (fito y zooplancton), macrófitas, macroinvertebrados y peces como organismos de prueba. La mayoría luego son validados en experimentos en parcelas en campos agrícolas.

Son escasos los estudios **ecotoxicológicos multiespecies** que aborden el efecto de xenobióticos **sobre ensambles de especies**. Los estudios de **mesocosmos** poseen una complejidad intermedia entre los estudios de campo y de laboratorio, siendo una aproximación experimental muy útil porque permite analizar el efecto de contaminantes sobre un ensamble de especies o sobre la comunidad (y aún comparar comunidades ante igual exposición).

Los puntos finales que pueden incluirse en las pruebas multiespecies son: el destino del químico, la supervivencia de los organismos de prueba, el comportamiento, el crecimiento, la producción primaria, riqueza y diversidad del fitoplancton, la biomasa de macrófitas, así como la riqueza y diversidad de los invertebrados bentónicos, del zooplancton y de peces de pequeña talla.

Si la diversidad biótica o la eliminación de nutrientes son propiedades que se consideran valiosas en sistemas acuáticos naturales y se utilizan para juzgar el estado de salud ambiental, es válido preguntarse ¿por qué no utilizar pruebas de toxicidad que evalúen directamente los efectos del estrés por contaminación en estos atributos? Por otro lado, si se seleccionan los mismos puntos finales, será más posible la comparación de los resultados de las pruebas de laboratorio y los esperados en el sistema natural objeto de estudio.

Los experimentos de toxicidad de múltiples especies más complejos son los que involucran la manipulación experimental de ecosistemas enteros. Claramente, son los que ofrecen el mayor grado de realismo dado que no son los más cercanos a las condiciones ambientales –como los mesocosmos- sino que son el ambiente en sí mismo, sobre el que se quiere testear una o más hipótesis para obtener cierta información con fines de regulación y control.

Comparados con otras experiencias de toxicidad, son los experimentos que proveen el mayor nivel predictivo y el mayor realismo y precisión. Sin embargo, por razones éticas y prácticas, estos experimentos son raros e impracticables en la actualidad. Schindler y sus colegas han manipulado lagos enteros en el área de lagos experimentales de Canadá con nutrientes (Schindler, 1974) y ácido (Schindler et al., 1985). Llegaron a la conclusión de que la composición de organismos pequeños, de reproducción rápida y componentes muy dispersos, como el fitoplancton, puede proporcionar la mejor indicación temprana de estrés, mientras que algunos puntos finales integradores, como la producción primaria, los procesos de descomposición y el ciclaje de nutrientes, no son interrumpidos por la entrada de sustancias tóxicas.

En otro caso, el Shayler Run, un arroyo de segundo orden en Ohio, EE. UU., se dosificó con concentraciones subletales de Cu durante 33 meses (Geckler et al., 1976), realizando simultáneamente bioensayos de toxicidad. Si bien estos últimos predijeron la mortalidad de algunas especies, no predijeron que los peces evitaron el agua contaminada ni la importancia de los cambios en la calidad del agua sobre la toxicidad. Además, concentraciones seguras para algunas especies fueron subestimadas por un factor de dos.

Claramente, estudios ecotoxicológicos que involucren ecosistemas completos pueden ser realizados sin contaminar o modificar aún más el ambiente del cual se quiere conocer el efecto de algún tóxico. Por ejemplo, pueden estudiarse las comunidades planctónicas, bentónicas, de peces, de macrófitas aguas arriba, aguas abajo y en el punto de volcado de un efluente industrial (Regaldo et al., 2018). Por otro lado, los plaguicidas pueden llegar al ambiente acuático por escorrentía y/o infiltración, por el lavado de envases, por la pulverización directa sobre ríos, lagunas o arroyos e incluso por las precipitaciones (Alonso et al., 2018). Éstos fueron detectados en el agua y los sedimentos de diferentes cuencas argentinas (Aparicio et al., 2013; Primost et al., 2017; Regaldo et al., 2017; Van Opstal et al., 2017 y 2018, entre otros), pudiendo impactar negativamente en las comunidades acuáticas, entre ellas en el plancton (Reno et al., 2018; Romero et al., 2021), en ensambles de invertebrados asociados con hábitats bentónicos y con vegetación flotante (Hunt et al., 2017) y en los peces (Paracampo et al., 2015).

Sin dudas, el grado de incerteza aumenta con la escala del estudio, pero el realismo que aportan será mayor. También inevitablemente, el esfuerzo de muestreo y los costos asociados serán mayores dado que involucran series temporales más largas y un mayor número de comunidades, pero existen pruebas estadísticas que permiten manejar este nivel de complejidad y arribar a conclusiones razonablemente aceptables en términos de descripción de efectos sobre las comunidades y el sistema completo. Este tipo de información sin lugar a dudas es sumamente valiosa para los tomadores de decisiones vinculadas a la gestión ambiental.

En los E.E. U.U., la aceptación de los ensayos multiespecies es muy común en el registro de plaguicidas (por ejemplo, Touart, 1988; SETAC, 1992) y en la evaluación de productos biotecnológicos (Seidler, 1991). Ambas son aplicaciones en las que es muy valiosa la precisión predictiva, más que la comparación *per se*. La Organización para la Cooperación Económica y Desarrollo no ha estandarizado aun ningún método para pruebas de especies múltiples (OCDE, 1992).

Algunos de los aspectos a tener en cuenta acerca de la utilidad de las pruebas multiespecies son la *sensibilidad*, la *relevancia*, la *estandarización* y *replicabilidad*, y la *precisión predictiva*.

Sensibilidad

Para aumentar la posibilidad de registrar datos de tolerancia en ambos extremos, es recomendable considerar y medir la mayor cantidad posible de puntos finales. El número de puntos finales muestreados y, por lo tanto, el rango de las respuestas producidas, pueden incrementarse drásticamente con las pruebas de toxicidad a nivel comunitario. Sin embargo, esto hace poca

diferencia en relación con el significado biológico de esta información. Como afirma Mount (1987): “Más sensible no significa más preciso”.

Por otro lado, las variables 'emergentes' son características de las pruebas de toxicidad multiespecies, con lo cual tendrán una mayor variabilidad de fondo (*background variability*). Sin embargo, son estas mismas variables emergentes las que con mayor frecuencia se utilizan para determinar el grado salud de los sistemas naturales. El “ruido” en este caso es a menudo un componente inevitable del aumento del realismo de la prueba.

Relevancia

Para que una evaluación de riesgo sea relevante, no sólo debe ser exacta la información sobre la concentración-respuesta al tóxico, sino que fundamentalmente, los resultados obtenidos deben ser significativos para la sociedad.

Estandarización y replicabilidad

Los ensayos multiespecies no tienen como propósito utilizar siempre las mismas comunidades. Se ha apuntado que esto puede ser un inconveniente. Sin embargo, lo relevante es precisamente la comunidad que se toma como objeto de estudio, no la replicabilidad ni la probable escasa estandarización. Muchas pruebas de especies múltiples no intentan usar la misma comunidad de organismos cada vez. Así, los resultados son bastante variables. Sin embargo, si el ensamble de organismos expuestos es lo suficientemente grande y si no son seleccionados por resistencia o sensibilidad a una sustancia química particular, entonces el rango de sensibilidades será aleatorio y, por lo tanto, altamente replicable cuando se incremente su número. Precisamente, algunos autores (Giesy, 1985) han manifestado preocupación acerca de los intentos de estandarizar estas pruebas para su inclusión en protocolos de evaluación de riesgos, argumentando que se perderá una de las principales ventajas de pruebas de especies múltiples, cual es la capacidad de modelar interacciones particulares.

Precisión predictiva

Wilson y Peter (1988) en su libro *Biodiversidad* estima que el número total de especies en la Tierra es de 50 millones. Las estimaciones más conservadoras ahora varían entre de 20 a 30 millones.

Obviamente, es imposible evaluar un pequeño porcentaje de las especies actuales ni siquiera en una determinada ecorregión o ecosistema para una variedad de sustancias químicas. Así, se hace necesario extrapolar, a partir de un número muy limitado de especies (menos de 30, comúnmente utilizadas en pruebas de toxicidad de agua dulce en E.E. U.U.) a un gran número de especies presentes en el sistema en estudio. Si bien es difícil la extrapolación entre especies (es decir, en un mismo nivel de organización biológica), más lo será del nivel de especie a comunidades, ecosistemas o paisajes.

Algunos ejemplos de ensayos a nivel de comunidad biológica

¿Cuál es la mejor escala que puedo elegir para responder mi pregunta?

A continuación, se describirán algunos experimentos desarrollados por el grupo de trabajo con organismos del plancton, aunque en algunos casos también se comentarán experiencias más complejas que incluyeron otras comunidades que, según lo mencionado previamente, tienen mayor grado de realismo y poder predictivo que las pruebas monoespecíficas.

Escalas para evaluar la estructura de la comunidad

Los cambios en la estructura de la comunidad pueden ser estudiados en distintas escalas: microcosmos (en laboratorio), mesocosmos (generalmente ubicados en el ambiente natural) o en el campo. Estas escalas incluyen el estudio de interacciones entre pocas especies hasta las que estudian exposiciones de todo el ecosistema.

Los experimentos de laboratorio tienen muchas ventajas, que incluyen la posibilidad de asignar tratamientos en forma aleatoria, contar con suficientes réplicas de cada tratamiento, mayor control de factores potencialmente distractores y mayor control sobre la dosis de exposición. Sin embargo, éstos tienen menor realismo, vinculado generalmente a la menor capacidad para explicar procesos que ocurren a escalas espaciales y temporales mayores (Newman y Clements, 2008).

Efecto de los contaminantes sobre la comunidad del plancton de agua dulce

Comunidad zooplanctónica y su valor como bioindicador

La comunidad zooplanctónica está integrada por pequeños invertebrados acuáticos representados mayoritariamente por rotíferos, cladóceros y copépodos, y constituyen la base de las tramas tróficas de ecosistemas acuáticos por alimentarse mayoritariamente de microalgas y material particulado, constituyendo la dieta de peces zooplanctófagos de pequeña talla y de larvas y juveniles de peces de mayor talla. Contribuyen al ciclado de los nutrientes y a disminuir la eutrofización de ecosistemas acuáticos.

Según los estudios seminales de José de Paggi (1990, 2004a; 2004b), al menos 502 especies fueron estimadas en el río Paraná y su llanura de inundación. Algunas de estas especies fueron seleccionadas por nuestro grupo de trabajo para evaluar efectos de diferentes contaminantes en estudios de laboratorio, mesocosmos y campo.

Los **mesocosmos**, son sistemas experimentales relativamente grandes diseñados para representar alguna comunidad clave de un ecosistema. Generalmente están expuestos a las condiciones naturales y se ubican lo más cercanamente posible al ecosistema que se quiere representar, en algunos casos en el mismo ambiente, aunque en otros casos pueden realizarse en el laboratorio. Desde hace algunos años se discute cuál es el volumen mínimo requerido para un mesocosmos. Dada la gran disparidad en la bibliografía en relación con esta temática, se concluye que más que el volumen en sí, para definir esta escala de estudio es preciso alcanzar un cierto grado de complejidad, que puede estar dada por el número de especies o ensambles de especies, niveles tróficos involucrados, hábitos de vida, tipos de ciclos de vida y modos de reproducción, etc. En este sentido, es relevante considerar la complejidad del sistema (número de organismos/comunidades interactuantes) y que el volumen guarde relación con el tamaño de los modelos biológicos evaluados.

Los **mesocosmos** son útiles para confirmar efectos de exposición, efectos crónicos, interacciones de depredador y presa, y cambios en las poblaciones y comunidades. Asimismo, permiten analizar el efecto de distintos contaminantes sobre el crecimiento, la reproducción, distintos aspectos de la historia de vida de los organismos, cambios en el comportamiento, malformaciones, así como la capacidad de bioacumulación y eliminación de metales u otros contaminantes. También permiten comparar las respuestas de dos o más comunidades, con un grado de complejidad razonable y manejable en términos de costos e inversión de tiempo. (Calow, 1998). Anon et al. (1991), resumen procedimientos para realizar experiencias de mesocosmos para evaluar efectos de plaguicidas en agua dulce.

Difieren de los **microcosmos** en que son de mayor tamaño y tienen un menor grado de control por parte del investigador. Aunque los mesocosmos tienen diseños muy variables (Ej. Figura 11.5. y Figura 11.9.), todos tienen en común el objetivo de lograr mayor realismo del que permiten los microcosmos y mayor control que el posible en los estudios de campo, a nivel ecosistémico.

Liber et al. (1992) realizó un estudio de mesocosmos para estudiar las respuestas de la comunidad zooplanctónica a la aplicación de un policlorofenol (2,3,4,6-tetraclorofenol) colocando bolsas plásticas *in situ*, desde los sedimentos hasta la superficie de un curso de agua dulce. El diseño experimental permitió evaluar diferentes concentraciones del tóxico y réplicas entre tratamientos.

Gagneten (2002) evaluó el impacto del Cr total y Cr(VI), muy utilizado en la pampa argentina en industrias de curtiembres, sobre la estructura del zooplancton del río Paraná durante 35 días, con un período de aclimatación previo de un mes y medio (total 80 días). Se utilizaron mesocosmos de PVC de 150 L al aire libre. Se evaluó diversidad, riqueza de especies y densidad del zooplancton, así como la capacidad de repoblamiento. El Cr tuvo un importante efecto negativo sobre esta comunidad. La densidad disminuyó significativamente con el incremento en la concentración de Cr, así como la riqueza de especies y diversidad específica. El repoblamiento sólo ocurrió en el tanque con la concentración menor. En todos los tratamientos se registró una importante recuperación de las larvas nauplios luego de cada aplicación del contaminante las que, junto con una especie de rotífero, mostraron ser más tolerantes que cladóceros y copépodos

adultos. Es decir, cambió la estructura de tamaño de la comunidad por disminución de los organismos de mayor talla determinando una simplificación de la red trófica con la dominancia de *r* estrategias. Esto coincide con lo comunicado por otros autores (Havens, 1994; José de Paggi, 1997; Hanazato, 1998;) quienes determinaron que la contaminación con plaguicidas produjo la dominancia de organismos de pequeño tamaño en la comunidad zooplanctónica.

La escala de mesocosmos también permite comparar comunidades ante igual exposición. En línea con este enfoque, Gagneten y Marchese (2003) estudiaron el efecto de del herbicida Paraquat sobre ensambles de zooplancton y zoobentos y la capacidad de recuperación. El herbicida provocó disminución de la abundancia y biomasa de los individuos más grandes (cladóceros, copépodos adultos y moluscos) y el ensamble de zoobentos requirió mayor tiempo de recuperación por sus ciclos de vida más largos. A diferencia del bentos, la riqueza de especies del zooplancton fue menos afectada que su densidad. El estudio mostró que concentraciones ambientalmente relevantes –es decir, las que pueden encontrarse en el ambiente- de Paraquat son perjudiciales para dos comunidades clave de ecosistemas de agua dulce.

A continuación, se presentarán con mayor extensión, tres ejemplos de mesocosmos realizados por el grupo de trabajo, comparando dos o más comunidades. En el primero (A) se estudiaron los efectos de un metal (Cr), en el segundo (B), de un herbicida (glifosato) y en el tercero (C) de dos herbicidas (glifosato y cipermetrina) aislados y en mezcla.

Ejemplo A: Marchese et al. (2008) estudiaron la acumulación y eliminación de Cr por especies de distinto nivel trófico: la planta sumergida *Ceratophyllum demersum* (Ceratophyllaceae), el oligoqueto *Limnodrilus udekemianus* (Tubificidae), el cangrejo *Zilchiopsis collastinensis* (Decapoda) y el pez *Cnesterodon decemmaculatus* (Poeciliidae), con sedimento artificial (130 kg: arena, caolinita y turba, según OECD, 2004), enriquecido con Cr(VI) y 800 L de agua, durante 28 días, seguidos de 7 días sin Cr(VI) para evaluar la concentración residual.

Las concentraciones nominales fueron 3 mg L⁻¹ Cr(VI) (tratamiento 1, T1) y 6 mg L⁻¹ Cr(VI) (tratamiento 2, T2), y un control (T0) en idénticas condiciones, sin Cr, todos duplicados. En cada tanque a los 0, 1, 14 y 28 días, se tomaron muestras de agua (1 L), sedimentos (250 g), macrófitas (10 g), oligoquetos (2–3 g), branquias de cangrejos (2-3 organismos) y peces (pool de 10 especímenes) durante la fase de acumulación y a los días 1 y 7, durante la fase de eliminación. La concentración de Cr aumentó rápidamente alcanzando los valores más altos entre 7 y 14 días de exposición. El Cr se acumuló significativamente ($p < 0,05$) en los tejidos de las cuatro especies en relación al control. El orden de bioconcentración fue: *C. demersum*: 718,66 ($\pm 272,91$) > *L. udekemianus*: 172,55 ($\pm 80,8$) > *Z. collastinensis*: 67,72 ($\pm 35,4$) > *C. decemmaculatus*: 23,11 ($\pm 12,82$), es decir, mayor en la planta y oligoquetos que en los cangrejos y peces (Figura 11.4.). La fase de eliminación de 7 días fue suficiente para obtener una reducción significativa de Cr en *C. decemmaculatus*, pero no en *C. demersum*, *L. udekemianus* y *Z. collastinensis* (Marchese et al., 2008).

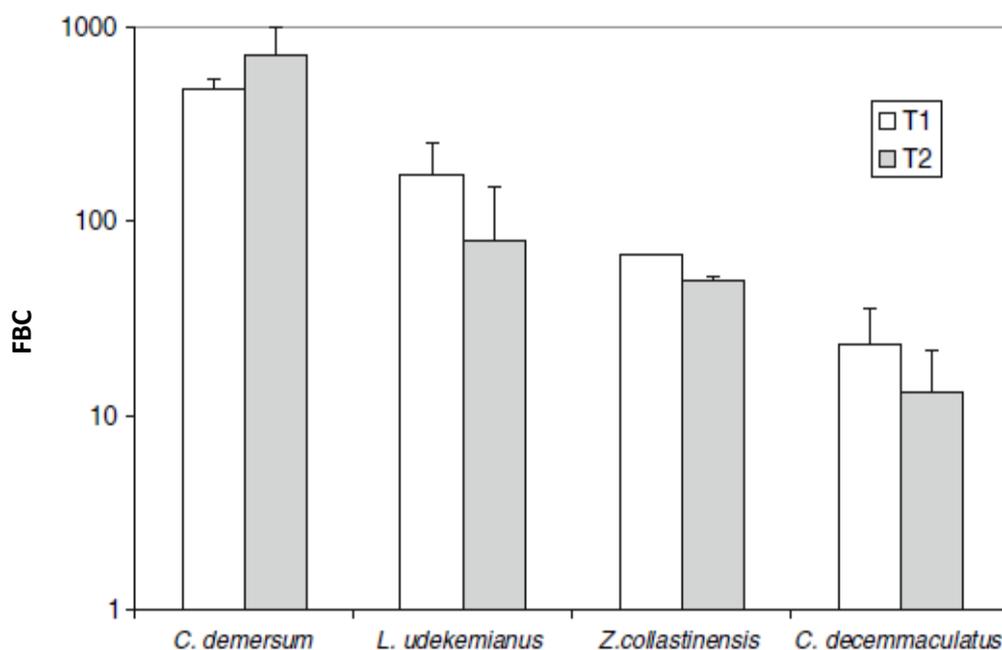


Figura 11.4: Factor de Bioconcentración (FB) (Cr tejido/Cr agua) a 28 días de exposición. Las barras indican D.E. T1: tratamiento 1 (3 mg L⁻¹); T2: tratamiento 2 (6 mg L⁻¹).

Se concluye que todos los taxa evaluados en este estudio acumularon Cr y podrían ser propuestos como biomonitores de contaminación en ambientes dulceacuícolas, dado que, si el metal está en los tejidos, refleja la biodisponibilidad en el ambiente.

Ejemplo B: Andade et al. (2019), determinaron experimentalmente los efectos directos e indirectos de un formulado de glifosato sobre la estructura y dinámica del plancton (fito y zooplancton) considerando distintos atributos comunitarios, en mesocosmos de 600 L al aire libre, durante 7 días considerando un control y dos concentraciones de glifosato. C1: 6,2 mg L⁻¹ y C2: 12,7 mg L⁻¹, con toma de muestras al inicio (T0) y a las 8 h (T1), 32 h (T2), 56 h (T3) y 80 h (T4) (Figura 11.5.).

El glifosato redujo significativamente la abundancia de cladóceros y aumentó significativamente las abundancias de rotíferos, Chlorophyceae y Euglenophyceae. La diversidad de tallas del zooplancton se redujo (Figura 11.6.), igual que la equitabilidad de microalgas. Se encontró correlación negativa y significativa entre la concentración de glifosato y la abundancia de Cladocera ($r=-0,59$; $p=0,001$) y Copepoda ($r=-0,88$; $p=0,0001$).



Figura 11.5: Mesocosmos de 600 L empleados para evaluar los efectos de dos concentraciones de glifosato sobre el plancton (fito y zooplancton).

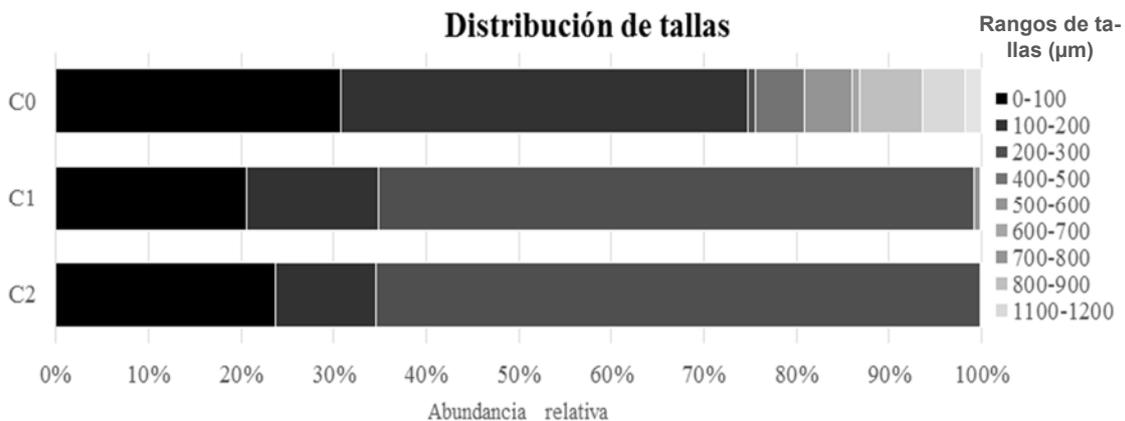


Figura 11.6: Distribución relativa de la abundancia de zooplancton en clases de tallas en C0 (control) y dos concentraciones de glifosato al final del experimento.

Los rotíferos *Asplanchna* sp., *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus angularis* aumentaron significativamente en las dos concentraciones de glifosato respecto al control (Figura 11.7). Las modificaciones en la estructura de tallas del zooplancton pueden afectar al fitoplancton (Figura 11.8), siendo toda la comunidad planctónica un buen indicador de efectos de herbicidas. El uso de métricas combinadas del plancton es un enfoque apropiado para evaluar efectos directos e indirectos del glifosato. Los componentes del plancton mostraron diferentes grados de tolerancia y competitividad más que respuestas individuales, lo que hace a la dinámica de esta comunidad un buen indicador de perturbaciones ambientales.

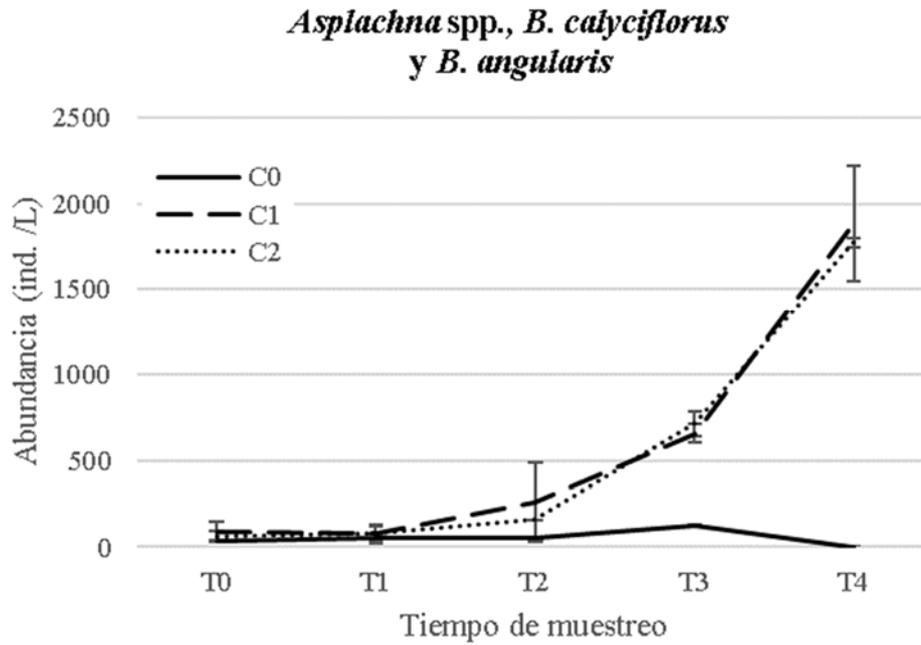


Figura 11.7: Abundancia de *Asplachna* spp., *B. calyciflorus* y *B. angularis* (agrupados) en C0: control, y dos concentraciones de glifosato (C1 y C2), en los tiempos de muestreo T0, T1, T2, T3 y T4. Las barras indican el D.E.

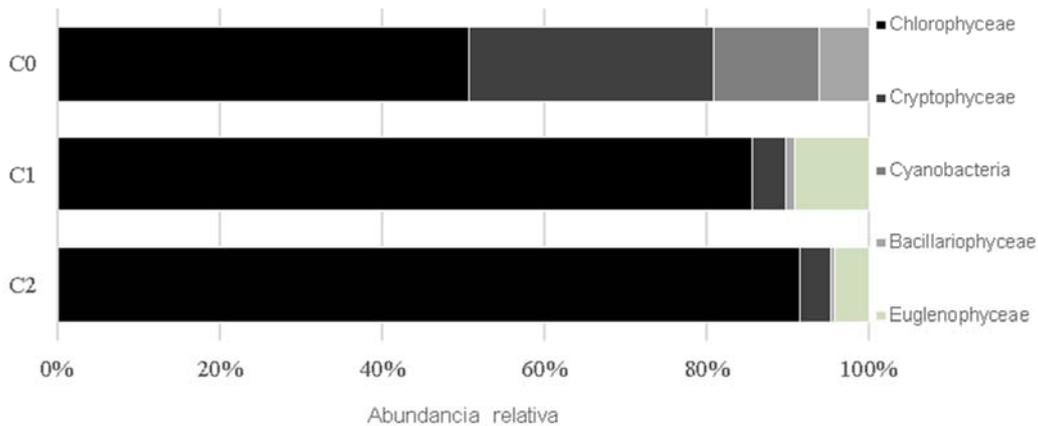


Figura 11.8: Distribución relativa de abundancia de microalgas en Clases en C0 (control), y dos concentraciones de glifosato al final del experimento.

Ejemplo C: Andrade et al. (2021) realizaron mesocosmos (30 L) en el Laboratorio de Ecotoxicología (FHUC, UNL), exponiendo durante 7 días un ensamble zooplanctónico del río Paraná Medio a cipermetrina, glifosato y la mezcla de ambos plaguicidas, más un control, todos por triplicado para evaluar posibles efectos sinérgicos o antagónicos (Figura 11.9). La diversidad y riqueza de copépodos y cladóceros fueron significativamente menores al control en los tratamientos con cipermetrina y la mezcla a los 3 y 6 días (ANOVA $p < 0,05$). La abundancia de cladóceros fue significativamente menor al control en los tratamientos con cipermetrina y la mezcla a los 3 días (ANOVA $F = 9,42$ $P = 0,002$). A los 6 días no hubo supervivencia de cladóceros en los tratamientos con cipermetrina y la mezcla. La abundancia de copépodos fue significativamente menor al control en los

tratamientos con cipermetrina y la mezcla a los 3 y 6 días (ANOVA $F=47,95$ $p<0,0001$ y $F=19,42$ $P<0,0001$). La composición del ensamble de microcrustáceos fue significativamente diferente entre tratamientos a los 3 y 6 días (NPMANOVA $F=3,01$ $p=0,002$ y $F=3,35$ $P=0,005$). Los nauplios y los copépodos ciclopoideos explicaron el 50% de tales diferencias (SIMPER). La abundancia de rotíferos tendió a aumentar en los tratamientos con cipermetrina y la mezcla (ANOVA $p>0,05$). La mezcla de plaguicidas produjo una disminución de la abundancia de copépodos en el tiempo (100%) mayor a la suma de los efectos de los plaguicidas individuales (97%). En los cladóceros no se pudo observar el efecto de la mezcla a los 6 días debido a que la concentración aplicada de cipermetrina, tanto aislada como en mezcla, produjo el 100 % de su mortalidad. Sin embargo, cuando se analizó este efecto en un escenario de menor exposición en el tiempo, a los 3 días, se observó que la mezcla de plaguicidas produjo una disminución de la abundancia de cladóceros respecto al control (100%) mayor a la suma de los efectos de los plaguicidas individuales (85%). La mezcla de plaguicidas produjo un incremento de la abundancia de rotíferos respecto al control (316%) mayor a la suma de los efectos de los plaguicidas individuales (214%). Se concluyó que la cipermetrina sola o en mezcla con glifosato afectó negativamente al ensamble. Los plaguicidas en mezcla tuvieron un efecto sinérgico negativo sobre la abundancia de copépodos y cladóceros y un efecto sinérgico positivo sobre la abundancia de rotíferos, con disminución de tallas, lo cual denota un mayor deterioro del ensamble zooplanctónico.



Figura 11.9: Mesocosmos de 30 L para evaluar los efectos de glifosato y cipermetrina aislados y en mezcla sobre el plancton.

Como se desprende de los resultados obtenidos en los estudios de **mesocosmos** anteriormente expuestos, tanto los metales como los plaguicidas ensayados podrían generar desequilibrios importantes en los sistemas acuáticos de los cuales se obtuvieron las comunidades de ensayo (principalmente de los sistemas de los ríos Paraná y Salado), que dan cuenta del potencial del zooplancton como bioindicador de contaminación.

Asociación de especies indicadoras: Ejemplos de estudios de la comunidad zooplanctónica en ambientes acuáticos de la provincia de Santa Fe

Como fue mencionado previamente, las ventajas de simplicidad y posibilidades de manipulación independiente de variables, permiten estudiar los efectos de xenobióticos en laboratorio bajo el supuesto de que los resultados serán lo más extrapolables posible a las condiciones imperantes en el ambiente. Sin embargo, el estudio de comunidades directamente en el ambiente natural, la generación de índices y la comparación de atributos poblacionales y parámetros comunitarios con sitios menos contaminados o seleccionados como controles, a la vez que se establecen correlaciones con datos fisicoquímicos y el monitoreo simultáneo de concentraciones de contaminantes, permite conocer cuáles son las mejores especies indicadoras de estrés ambiental.

El diseño de micro y mesocosmos, entonces, utilizando estas especies permitiría a su vez establecer generalizaciones sobre las condiciones ambientales. Alternativamente, si se trata de especies tolerantes a la contaminación, la teoría ecofisiológica predice que, si se exponen experimentalmente a contaminantes, tendrán un mejor desempeño (*fitness*) que las especies menos tolerantes, lo cual abre interesantes posibilidades para testear experimentalmente hipótesis contrastantes utilizando especies tolerantes. Ahora bien, ¿cómo conocer cuáles son las especies más tolerantes en los sistemas naturales? Una aproximación experimental válida es vincular resultados de biomonitoreo y monitoreo fisicoquímico en los propios ecosistemas.

Veamos algunos ejemplos:

1) Por el efecto de la urbanización en una laguna urbana del sistema del río Paraná (laguna Setúbal) se registró abundancia de protozoos (*Dexiostoma campylum*, *Didinium nasutum*, *Plagyopila* y rotíferos Bdelloidea tales como *Philodina* sp. y *Rotaria* sp.) en los sitios de recepción de desagües pluviales; mientras que los rotíferos Monogononta (*Platyias quadricornis*, *Mytilina ventralis* y *Lepadella ovalis* y el cladóceros *Chydorus pubescens* fueron dominantes en el sitio de referencia (José de Paggi et al., 2008). En el mismo sistema, la concentración de nitratos, amonio, calcio, sulfato y potasio indicaron tres órdenes de magnitud mayores a cuerpos de agua no contaminados de la región (Maine et al., 1999). Los autores concluyeron que el impacto de la urbanización se vio reflejado tanto en la química del agua como en la composición del zooplancton.

2) En el sistema del río Salado en su tramo inferior Gagneten y Ceresoli (2004) y Gagneten et al. (2007), registraron metales (Cr, Cu, Pb) y sulfuro, provenientes de efluentes industriales y urbanos puntuales y difusos en agua y sedimentos de fondo, en concentraciones mayores a los

estándares permitidos. Los valores de materia orgánica, oxígeno disuelto (OD), nitritos, nitratos y sulfuro indicarían la confluencia de procesos de eutrofización y contaminación del sistema.

Al relacionar datos químicos y biológicos, la densidad de zooplancton presentó correlaciones negativas y significativas con la concentración de Cr y sulfuro, donde los cladóceros fueron los organismos menos tolerantes (o más sensibles). La densidad total del zooplancton fue significativamente mayor en el río que en los canales y arroyos de la cuenca del río Salado en su tramo inferior, con dominancia de rotíferos, pero mayor biomasa de cladóceros. Entre los copépodos, Calanoida dominó sobre Cyclopoida y Harpacticoida. Correlaciones negativas se encontraron entre la biomasa de copépodos y las concentraciones de Cu y Pb (Gagneten y Paggi, 2009). La riqueza y diversidad de especies fueron buenos indicadores de estrés ambiental, siendo los rotíferos los más tolerantes a metales, seguidos por los copépodos y los cladóceros.

La alta conductividad registrada en el río Salado (media $5.965 \mu\text{S cm}^{-1}$) también podría ser causa de la proliferación de algunas especies de rotíferos tolerantes, tales como los géneros *Hexarthra*, *Brachionus* y *Lecane*, representados por numerosas especies. La biomasa absoluta decreció en el orden Copepoda>Cladocera>Rotifera. Las concentraciones de Cr del río Salado inferior (Gagneten et al., 2007) fueron muy superiores a los anteriormente registrados por Villar et al. (1998) en el río Paraná medio e inferior. Cataldo et al. (2001) registraron entre 3,16 y $4,97 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr en aguas superficiales y entre 27,90 y $59,90 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr en agua intersticial del delta del río Paraná. Por su parte, Gagneten y Ceresoli (2004) registraron hasta $215 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr en aguas del arroyo Las Prusianas que desemboca en el río Salado, es decir, concentraciones de Cr entre uno y dos órdenes de magnitud superiores a las del río Paraná medio.

La densidad total presentó una relación positiva con el OD y con el mesozooplancton pero no con el microzooplancton lo que indica que el microzooplancton sería más tolerante a la deficiencia de OD que la fracción mayor. Por otro lado, Gagneten y Paggi (2009) señalan que la biomasa zooplanctónica 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 al establecimiento y proliferación de especies de pequeña talla (rotíferos). Se encontraron correlaciones negativas entre la biomasa de copépodos y las concentraciones de Cu y Pb en sedimentos y entre densidad de rotíferos y las concentraciones de Cr en sedimentos.

Esto indica que esta línea de evidencias (declinación en la biomasa del zooplancton a mayor concentración de metales) también es un buen indicador de sistemas acuáticos contaminados con metales. A partir de los resultados anteriormente mencionados, los autores determinaron tres grupos de ambientes en la cuenca del río Salado inferior: el cauce principal del río, con menor contaminación y mayor densidad, riqueza y diversidad de zooplancton, y abundancia de cladóceros, que se separó claramente de los otros dos grupos de cursos de agua, principalmente canales y arroyos donde abundaron especies r estrategias de escasa biomasa y unas pocas especies tolerantes, tales como *Eucyclops neumani*. (Gagneten, 2011) resume los patrones encontrados: una relación inversa entre condiciones de estrés y tamaño corporal con proliferación de especies r estrategias (rotíferos) y especies oportunistas (larvas

nauplio), dominancia de especies tolerantes y disminución de las más sensibles (copépodos y cladóceros).

Por otra parte, más recientemente Regaldo et al. (2017) analizaron comparativamente variaciones temporales de la estructura de la comunidad zooplanctónica del Sistema de Arroyos Colastiné-Corralito (Santa Fe, Argentina) con concentraciones de plaguicidas (Atrazina -Atr- y Endosulfán -End-) y microcontaminantes inorgánicos (Cr, Cu, Pb y As) registrados en agua y sedimentos. Los valores de Cr, Pb y Cu registrados en agua superaron ampliamente los niveles guías propuestos para la protección de la biota acuática (el Cr los superó en 137 y 143 veces; el Pb 87 y 97 veces y el Cu 35 veces). La concentración de Atr en agua fue mayor que la de End, aunque nunca sobrepasó los niveles guía, mientras que el 70,83% de las muestras en donde se registró End si los superó. En agua, el 97,91 % de las muestras con Cr superaron los niveles guía para la protección de la vida acuática, el Cu lo hizo en un 70,83%, mientras que el Pb y el As en un 97,91 y 43,75%, respectivamente. En sedimento, un 2,08%, 4,16%, 39,58% y 14,58% de las muestras sobrepasaron los niveles guía para el Cr, Cu, Pb y As. La dominancia de los diferentes grupos fue Rotifera>Copepoda>Cladocera. De manera similar a los trabajos anteriores, este último grupo mostró mayor sensibilidad a las variaciones de calidad del sistema. Cuando las concentraciones de metales registradas en agua fueron máximas, la riqueza y abundancia de rotíferos y cladóceros se vio afectada. A su vez, valores extremos de conductividad, pH y la carga de contaminantes orgánicos posiblemente afectaron la estructura de la comunidad zooplanctónica (Menegazzo et al., 2016).

Sección 3: Índices aplicados en el nivel de comunidad biológica

Existen múltiples estrategias para abordar problemáticas relacionadas con la contaminación de los ecosistemas que, aplicadas de manera integrada, brindan información acerca del estado de salud o deterioro ambiental. Entre ellas podemos destacar: la determinación de parámetros fisicoquímicos y bioquímicos, la detección de bioindicadores de contaminación y la aplicación de índices. Éstos últimos han adquirido relevancia en los últimos años, dada su capacidad de generar una imagen sintética de las condiciones ambientales en el territorio.

Sin embargo, debe tenerse en cuenta que:

- En ecosistemas complejos, no es fácil distinguir los efectos del enriquecimiento orgánico de los efectos de la contaminación, a través de la estructura de las comunidades analizadas.
- Es importante conocer los requerimientos ecológicos de las especies dominantes en los ensambles estudiados para poder delimitar las áreas de mayor perturbación.
- Es fundamental tener un análisis del sistema y no sólo de un área reducida porque las posibilidades de hacer un diagnóstico y dar recomendaciones erróneas en el último caso, aumentan. Al respecto, en ríos con llanura de inundación es necesario tener en cuenta no sólo el cauce principal sino también el área inundable (Marchese et al., 2008a) ya que debido a la dinámica hidrosedimentológica se produce redistribución de sedimentos desde el cauce principal al área inundable y viceversa (Marchese et al., 2020).

Se describen a continuación algunos ejemplos de los índices seleccionados en los estudios previamente descritos en la Sección 2.

Además de los índices que se aplican para estudiar la calidad del agua y de los sedimentos (CCME 2001), se encuentran disponibles diversos índices para determinar la integridad ecológica de sistemas acuáticos en relación con la estructura de las comunidades biológicas (Gallardo et al., 2011). Sin embargo, su utilidad varía considerablemente dependiendo de los parámetros medidos; la información que proveen dependerá de las condiciones ambientales, dificultando así la selección de los índices más apropiados para biomonitoreos de cuencas hidrográficas y la comparación entre diferentes sistemas.

Las mediciones tradicionalmente aplicadas en el análisis de los cambios estructurales de la taxocenosis como consecuencia del impacto antrópico, son el *Índice de Margalef* (1958) (Ludwig y Reynolds, 1988), conocido también como de *Riqueza de especies* “R” (se refiere al número de especies presentes en una comunidad) y el *Índice de Diversidad de Shannon-Wiener* “H” (Shannon y Weaver, 1949); este último es probablemente el más empleado en ecología de comunidades, aunque también se emplean otros tales como la diversidad funcional y diversidad taxonómica.

Otros atributos de las comunidades que pueden ser empleados en el monitoreo de la calidad ambiental son la *“Equitabilidad”* que se refiere a cuán equitativa es la distribución de los individuos entre las especies que conforman una comunidad, y la *“Dominancia”*, ambos indican variaciones en la distribución del número de organismos en función de los taxa existentes en una muestra (Begon et al., 1988).

Estos índices se calculan mediante las siguientes fórmulas (Colwell, 2009):

- **Riqueza de especies: “R”, o “S”:** Número de especies que se encuentran en un hábitat, ecosistema, área o región determinada.

$$R = \frac{S - 1}{\ln(n)}$$

Donde:

S= número total de especies

n= número total de individuos observados

- **Diversidad de especies: Shannon-Wiener “H”,** el índice contempla la cantidad de especies presentes en el área de estudio (*riqueza de especies*) y la cantidad relativa de individuos de cada una de esas especies (*abundancia*).

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

Donde:

S= Número de especies

P_i= Proporción de individuos de la especie i respecto al total de individuos

- **Equitabilidad “E”**, es el grado en el que las diferentes especies son similares en cuanto a su abundancia. Así una comunidad con cuatro especies tendrá una riqueza de S=4 y si todas tienen una abundancia relativa del 25% la equitatividad será del 100%. Puede cuantificarse expresando la diversidad específica (H) como una proporción del valor máximo de H si todos los individuos estuvieran uniformemente distribuidos entre las especies (Begon et al., 1988). Varía de 0 a 1; el valor “1” indica que todas las especies son igualmente abundantes. Se representa con la siguiente fórmula:

$$J = \frac{H}{H \text{ max}} = \frac{\sum_{i=1}^S P_i \cdot \ln P_i}{\ln S}$$

Donde:

H= Índice de Shannon- Wiener

H máx.= Diversidad máxima que se obtendría si la distribución de las abundancias de las especies en la comunidad fuese perfectamente equitativa.

- **Dominancia**, es lo contrario a equitabilidad. Por ejemplo, si tres especies están presentes en dos comunidades compuestas por 500 individuos. En la primera comunidad, 450, 41 y 9 individuos pertenecen a las especies A, B y C, respectivamente. En la segunda comunidad, el número de individuos en las comunidades A, B y C son 134, 138 y 228 respectivamente, los individuos están más equitativamente distribuidos –o hay menor *dominancia*- entre especies en la segunda comunidad de especies (a veces conocida como grado de heterogeneidad) que se refleja en los índices de diversidad.

Otro de los índices aplicados a comunidades acuáticas, es el *Índice Sapróbico* (SI) de Pantle y Buck (1955). Éste utiliza la composición de especies, la abundancia relativa y la frecuencia de aparición de los diferentes taxa como indicadores del estado de degradación ambiental.

- **Índice Sapróbico (SI)**, uno de los índices bióticos más aplicados a nivel global es el índice de Pantle y Buck (1955). Los autores consideraron el sistema sapróbico de Kolwitz y Marsson (1908) y le adicionaron el concepto de abundancia relativa de los organismos de una muestra. El grado de saprobiedad en los ecosistemas acuáticos, está relacionado con la degradación de la materia orgánica, por la presencia de organismos saprófitos. Se representa con la siguiente fórmula:

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

Donde:

S= es el valor de saprobicidad

h= es la abundancia relativa (h= 1,3 o 5 si el taxón se encuentra en forma accidental, frecuente o abundante respectivamente).

A su vez, pueden compararse utilizando Modelos Aditivos Generalizados (GAM, por sus siglas en inglés). Además, se realizan regresiones entre los índices y variables ambientales para determinar qué factores ambientales se relacionan (positiva o negativamente) con los indicadores de biodiversidad en una determinada cuenca.

En los últimos años han emergido dos índices multimétricos para el biomonitoreo de ríos: El IBI y el ROVPACS (*River Invertebrate Prediction And Classification System*). Incluyen métricas biológicas tales como la riqueza de especies, o la abundancia de grupos funcionales tróficos. Estos enfoques se basan en: 1) la definición de puntos finales biológicos para precisar la salud ambiental; 2) la definición de sitios menos contaminados en términos comparativos; 3) métodos de muestreo, laboratorio y analíticos estandarizados; 4) ranqueo numérico de los sitios según su condición y 5) políticas ambientales rigurosas de control. Tales medidas proveen mejor información sobre las dimensiones biológicas que los monitoreos físicos o químicos.

- **RIVPACS** (*River Invertebrate Prediction and Classification System*), es un sistema de biomonitoreo acuático para determina calidad de agua de ríos en Inglaterra. Se basa en la cantidad de taxones de macroinvertebrados que se registran durante el muestreo. Se basa en que las especies más sensibles se encontrarán en menor proporción en sitios contaminados, o con bajos tenores de OD y que la proporción relativa de los taxa variará según la calidad del agua en distintos sitios de muestreo. La comparación estadística entre las especies esperadas y las observadas, servirá para estimar la calidad ecológica del río (Feeney, 2014).

- El Índice de **Integridad Biológica** es una herramienta especialmente ponderosa por diversas razones (Karr, 2006). En primer lugar, el IBI basa sus conclusiones sobre la salud de un ambiente acuático en un grupo de indicadores biológicos (métricas) cada uno de los cuales mide un aspecto diferente de la comunidad biológica. En segundo lugar, las métricas en el índice reflejan respuestas testeadas y predecibles a la influencia humana: cada métrica tiene su propia curva “dosis-respuesta” asociada con el uso de la tierra u otros impactos. En tercer lugar, las métricas se eligen para que reflejen los efectos de diversas actividades humanas, tales como la urbanización o la agricultura. Desde la propuesta del IBI (*Index of Biotic Integrity*) los métodos e índices de indicación de calidad de aguas y de la integridad ecológica de los sistemas fluviales en base a las comunidades que los habitan han tenido un amplio desarrollo, que continúa hasta la actualidad (Li, 2010; Lu et al., 2015). Los programas de biomonitoreo multimétricos modelados en el marco del IBI pueden ser aplicados por científicos y gestores ambientales.

- El **índice de Integridad Biótica para el Río de la Plata (IBIRP)**, relaciona la densidad fitoplanctónica (cianobacterias planctónicas y la densidad fitoplanctónica total) con dos ensamblajes bentónicos (Diatomeas e invertebrados (% Tanaidacea). Éste aporta información sobre la integridad biótica temporal y espacial, pudiendo asumir valores entre 0 (muy mal estado) y 10 (muy buen estado) (Gómez et al., 2012).

- **Índice de Diatomeas Pampeano (IDP)**, fue elaborado por Gómez y Licursi (2001), con el objetivo de evaluar la eutrofización y polución orgánica de los ríos y arroyos del área pampeana Argentina. Para su desarrollo se analizaron 164 muestras de epipelon (procedentes de 50 sitios de muestreo con distintas problemáticas ambientales) y su relación con las variables fisicoquímicas. Para esta finalidad a cada taxón se le asignó un valor de sensibilidad a la polución y eutrofización, teniendo en cuenta variables estrechamente relacionadas con estos eventos, como concentración de amonio, demanda bioquímica de oxígeno (DBO5) y fósforo reactivo soluble. Se representa con la siguiente fórmula:

$$IDP = \frac{\sum_{j=1}^n I_{idp} \cdot A_j}{\sum_{j=1}^n A_j}$$

Donde:

I_{idp} = valor del IDP para la especie (fluctúa entre 0 y 4).

A_j = abundancia relativa de la especie.

Los valores del índice fluctúan entre 0 y 4, <0,5 calidad del agua muy buena y >3 muy mala. A las distintas calidades del agua se les asigna colores para su identificación gráfica en mapas y se las relaciona con las actividades antrópicas más frecuentes en el área de estudio (Licursi y Gómez 2003).

Aunque las herramientas bioindicadoras operativamente se aplican en estudios puntuales sobre sitios dentro del ecosistema, siempre está presente en la evaluación ecológica de un sistema fluvial el concepto de paisaje y la dinámica de usos de la tierra a diversas escalas (tramo, cuenca), con la consecuente influencia de estos elementos sobre los sitios de monitoreo (Allan 2004).

En general, en ambientes contaminados disminuye la cantidad de especies y por lo tanto es esperable que en esos casos se halle una baja equitabilidad y alta dominancia, lo cual nos indica que son pocas especies las especies o los taxa representados en una determinada muestra (Licursi y Gómez 2003; Gagneten et al., 2009).

Otros índices integran información de diferentes comunidades acuáticas para indicar el estado de calidad de los ecosistemas. Con el propósito de mostrar algunos ejemplos, mencionamos un índice que relaciona la “Biomasa de zooplancton total con la biomasa de fitoplancton (clorofila a)”. Considerando que frecuentemente los cambios en la comunidad zooplanctónica repercuten en el fitoplancton, la *proporción Zooplancton/Fitoplancton* es un indicador de efecto cascada, que

provee información de cuánto puede la primera comunidad regular a la segunda. Se asume que, en ambientes con mayor estrés, la eficiencia en el consumo del fitoplancton es menor (se ve reducida), dicha proporción decrece con el incremento del fósforo y el aumento de la transparencia del agua) (Jeppesen et al., 2000).

A la luz de los resultados encontrados por diversos grupos de investigación en distintas partes del mundo, pueden establecerse algunas generalizaciones en cuanto al grado de sensibilidad/tolerancia a contaminantes, y eventualmente, establecer gradientes de sensibilidad de especies o asociaciones de especies ante cada situación ambiental en particular.

Haberman y Haldna (2014), destacan la importancia del empleo de la comunidad zooplanctónica como herramienta clave en la evaluación del estado trófico y la calidad de los cuerpos de agua. Estos autores, a partir de la información recopilada durante cuatro décadas, recomiendan una serie de parámetros que deberían considerarse en el análisis de la calidad de cuerpos de agua eutróficos: entre ellos, las relaciones entre el número y diversidad de especies; la representatividad de cada grupo (Cladóceros, copépodos y rotíferos) respecto al total de las especies halladas; la proporción (%) de rotíferos respecto a la abundancia total del zooplancton; la relación entre la abundancia de cladóceros de mayor talla respecto a la abundancia total de cladóceros; la relación entre la abundancia de copépodos calanoides respecto a la de copépodos ciclopoideos; y por último, la relación entre la abundancia de crustáceos y la abundancia de rotíferos. También presentan un listado de especies indicadoras de ambientes eutróficos y oligo-mesotróficos y sugieren, al igual que otros investigadores (Jeppesen et al., 2011), que se incluyan parámetros comunitarios del zooplancton en las directivas de protección acuática de la Unión Europea.

- **Índice de Diversidad de Tallas.** Es otro índice que se puede aplicar a la comunidad zooplanctónica. El mismo agrupa a los organismos en relación a su talla independientemente de su taxonomía. Está basado en el índice de diversidad de Shannon-Wiener, adaptado a una variable continua (tamaño corporal), e integra la amplitud del rango de tamaños y la equitatividad. Éste índice brinda información sobre el estado trófico del sistema (incremento de P y N), la salinidad, acidificación, la temperatura y la presión de depredación.

Para mayor información sobre los índices propuestos para la comunidad zooplanctónica, el modo de implementación e interpretación, así como sus ventajas y limitaciones consultar a Gallardo et al. (2011).

Clements y Newman (2002) sostienen que los enfoques multimétricos y multivariados son complementarios y pueden utilizarse en conjunto para evaluar integridad biológica. Por ejemplo, los resultados de análisis multivariados pueden usarse para identificar métricas sensibles en un índice multimétrico.

Marchese et al. (2020) sintetizaron la información sobre bioindicadores de ambientes acuáticos comprendidos en la Región de Humedales del Corredor Fluvial Chaco-Mesopotámico. Se incluyen estudios sobre macroinvertebrados bentónicos, de áreas vegetadas en humedales y de zooplancton referidos a asociación de especies indicadoras, aplicación de índices bióticos y ensayos ecotoxicológicos. Además, los autores comentan estrategias adaptativas de invertebrados para evitar

distintos tipos de estrés. Finalmente, plantean la importancia que implicaría disponer de un índice de sostenibilidad de sistemas acuáticos de la provincia de Santa Fe, integrando indicadores ecológicos y socioeconómicos que permita diagnosticar la salud ambiental de sistemas acuáticos y que constituya una herramienta valiosa para la gestión ambiental de estos sistemas.

En este sentido, la importancia de diseñar índices regionales radica en que muchos de los taxa hallados en sistemas acuáticos argentinos, presentan requerimientos ecológicos diferentes a los taxa propuestos en los listados internacionales de bioindicadores representantes del hemisferio norte.

Conclusiones parciales. Ecotoxicología del zooplancton

- La ecotoxicología, mediante estudios ecofisiológicos, ecológicos y etológicos de especies planctónicas, permite evaluar contaminación puntual y difusa de distintos contaminantes en medio acuático a distintas escalas: laboratorio, mesocosmos y campo.
- Las especies zooplanctónicas nativas son más sensibles a metales y plaguicidas que las exóticas. Sin embargo, son muy incipientes los estudios ecotoxicológicos de contaminantes emergentes tales como antibióticos y nanopartículas, por lo que se recomienda evaluar su ecotoxicidad sobre especies nativas.
- Estudios ecotoxicológicos al nivel de comunidad permiten evaluar parámetros integrados y propiedades emergentes propias de ese nivel de complejidad biológica, aspectos no detectables en bioensayos monoespecíficos.
- En ambientes acuáticos, los monitoreos fisicoquímicos y biológicos de zooplancton permiten cuantificar plaguicidas y metales y compararlos con niveles guía establecidos para la protección de la biota acuática en un marco nacional e internacional. Asimismo, se pueden establecer correlaciones entre datos fisicoquímicos y biológicos, para brindar mayor valor explicativo sobre la calidad ambiental. Cabe destacar que no existen niveles guía de calidad de agua, sedimentos y sólidos totales suspendidos referidos a contaminantes de amplio uso en Argentina, por lo que se aconseja realizar estudios ecotoxicológicos con especies nativas y proponer directrices de aplicación nacional.
- Las especies planctónicas mostraron su gran potencial como bioindicadoras de contaminación ambiental. Los monitoreos fisicoquímico y biológico a nivel de comunidades aportan conocimientos claves para evaluar efectos de contaminantes a corto y mediano plazo.

Se destaca la relevancia de integrar indicadores ecológicos y socioeconómicos que permitan diagnosticar la salud ambiental de los sistemas acuáticos y que constituya una herramienta valiosa para la gestión ambiental de los mismos.

Conclusiones generales

Si los ecotoxicólogos acuerdan en la importancia que las interacciones interespecíficas tienen en la regulación de las comunidades naturales, los esfuerzos de investigación deben orientarse a comprender cómo los contaminantes influyen en estas interacciones.

En ecotoxicología, un gran desafío es la separación de los cambios inducidos por contaminantes sobre la diversidad y composición de especies, de los producidos por la variación natural de los factores ambientales.

Los tópicos de investigación actuales en ecotoxicología de comunidades pueden resumirse en algunas categorías: 1) mejorar la comprensión de los factores ecológicos que regulan la dinámica de las comunidades; 2) integrar enfoques experimentales y de biomonitoreo. Un nuevo eje, de incipiente desarrollo en los últimos años en la ecotoxicología de comunidades sería mejorar el conocimiento del efecto de los estresores atmosféricos en las respuestas de las comunidades.

En relación con la escala de estudios ecotoxicológicos (laboratorio *versus* campo con las respectivas ventajas y limitaciones previamente señaladas), es claro que mientras el enfoque experimental a pequeña escala provee resultados “claros” con buen control de variables bióticas y abióticas, los programas de investigación de microcosmos deberían ser complementados y bien integrados con estudios de campo.

Para definir cuál es el enfoque experimental apropiado en ecotoxicología de comunidades, deben tenerse en cuenta:

- 1) Cuestiones relacionadas con la escala espacio-temporal: Realizar experimentos a diferentes escalas espaciales y temporales a través de diferentes niveles de organización biológica, compensa al menos parcialmente la falta de realismo ecológico del enfoque experimental. Siempre que sea posible, es recomendable complementar la información recabada, con biomonitoreo ambiental.
- 2) Los ensayos uniespecíficos deberían usarse para documentar las diferencias de sensibilidad entre especies, o para comparar las respuestas a un mismo tóxico, de especies nativas con estandarizadas.
- 3) La integración de los enfoques descriptivos y experimentales. Todos los enfoques experimentales que se utilizan en ecotoxicología de comunidades tienen limitaciones importantes. Además, aun cuando un experimento esté bien diseñado con fuerza estadística suficiente para demostrar el efecto de un determinado factor, siempre queda sin resolver la importancia del factor estudiado en relación con otros no investigados, aunque potencialmente importantes. Un programa de investigación exitoso debería integrar teoría, observación y experimentación (Clements y Newman 2002).

Finalmente, e independientemente de si los experimentos se realizan para poner a prueba predicciones o para determinar la importancia relativa de factores causales, dos problemas clave con que se enfrenta el ecotoxicólogo de comunidades son la posibilidad de *generalización* y de *extrapolación* de los resultados obtenidos, restricción que puede subsanarse en parte realizando

estudios integradores de distintas escalas espacio-temporales. Por otro lado, los estudios ecotoxicológicos deberían realizarse siempre teniendo en cuenta la historia natural y el marco teórico ecológico en el que se inscriben las hipótesis de trabajo.

Bibliografía

- Alonso, L. L. Demetrio P. M., Etchegoyen M. A., y Marino D. J. (2018) Glyphosate and atrazine in rainfall and soils in agroproductive areas of the pampas region in Argentina. *Science or the Total Environment* 645:89-96
- Allan J. D (2004) Landscapes and Riverscapes: The Influence of Land Use on Stream Ecosystems. *Annu. Rev. Stable*, 35, 257–284.
- Andrade, V; Polla, W. Gutierrez, F; Regaldo, L., Reno, U.; Propielatz; Gervasio, S. y Gagneten AM. (2019) Direct and Indirect Effect of a Glyphosate Formulation on Freshwater Plankton: a Mesocosm Study. *Journal of Experimental Biology*. En prensa.
- Andrade VS, Gutiérrez MF, Propielarz A, Gervasio S, Reno U, Gagneten AM. (2021) Synergy between glyphosate and cypermethrin formulations on zooplankton: evidences from a single-specie test and a community mesocosm experiment. *Journal Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12619-0>
- Andrade, VS; Gutiérrez MF; Fantón, N. Gagneten, AM. (2018) Shifts in zooplankton behavior caused by a mixture of pesticides. *Water, Air & Soil Pollution*. 229:107.
- Andreotti, C. y 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.
- Anon. (1991) Guidance document on testing procedures for pesticides in freshwater mesocosms. In: Workshop at Monks Wood Experimental Station, Abbots Ripton, p. 46. Huntingdon, UK.
- Begon, M., Harper, J.L. y Townsend, C.R. (1988). *Ecología, individuos, poblaciones y comunidades*. Ediciones Omega S.A., Barcelona, 886 pp.
- Cairns J Jr.; Cherry DS (1998) Ch. 7. Multi-species Test Systems. In: *Handbook of Ecotoxicology* Edited by Peter Calow. Blackwell Science Ltd.
- Cairns, J. Jr. (1986) *Community Toxicity Testing*, STP. ASTM, Philadelphia, 350 pp.
- Cairs Jr.; Cherry, D.S. (2009) Ch. 7. Freshwater Multi Species test systems. In: *Handbook of Ecotoxicology*. Calow, P. (Ed.) 900 pp.
- Calow, P. (1998) *Handbook of Ecotoxicology* Edited by Peter Calow. Blackwell Science Ltd.
- Ceresoli, N. y Gagneten, A.M. (2004) "Efectos del efluente de curtiembre sobre *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) en condiciones experimentales". *Interciencia* 28 N° 8: 469-475.
- Clement MF.M. y Newman (2002). *Ecotoxicology: A comprehensive treatment*.
- Eaton, J., Arthur, J., Hermanutz, R., Kiefer, R., Mueller, L., Anderson, R., Erickson, R., Nordling, B., Rogers, R. & Pritchard, H. (1985) Biological effects of continuous and intermittent dosing of

- outdoor experimental streams with chlorpyrifos. In: Aquatic Toxicology and Hazard Assessment. 8th Symposium. ASTM STP 891 (Eds R.C Bahner & D.J. Hansen), pp. 85-118. American Society of Testing and Materials, Philadelphia.
- EPA (2002a) Method 1002.0: Daphnid, *Ceriodaphnia dubia*, Survival and Reproduction Test; Chronic Toxicity.
- EPA (2002b) Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms Fourth Edition.
- EPA (2002c) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms Fifth Edition.
- Feeney, Anna (2014-12-18). "RIVPACS reference database". Centre for Ecology & Hydrology. Retrieved 2017-09-14.
- Gagneten, A.M. y Vila, I. (2001). "Effects of Cu⁺² and pH on the fitness of *Ceriodaphnia dubia* (Richard 1894) (Crustacea, Cladocera) in microcosm experiments". *Environmental Toxicology* 16 (5): 428-438.
- 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 Marchese, M. (2003) "Effects of Paraquat on zooplankton and zoobenthic assemblages in enclosure experiments". *Ecohydrology and Hydrobiologie*. Vol 3 (4): 255-264.
- 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.
- Gagneten, A.M.; 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.; Marchese, M. (2003) Effects of Paraquat on zooplankton and zoobenthic assemblages in enclosure experiments. *Ecohydrology and Hydrobiologie*. Vol 3 (4): 255-264.
- Gagneten, A.M.; Paggi, J.C. (2009). Effects of heavy metal contamination (Cr, Cu, Pb, Cd) and eutrophication on zooplankton in the lower basin of the Salado River (Argentina). *Water, Air and Soil Pollution* 198: 317-334.
- Gagneten, AM., Plá R.R., Regaldo L. and Paggi J.C. (2009). Assesment of Bioconcentration Factor of Chromium by Instrumental Neutron Activation Analysis in *Argyrodiaptomus falcifer* Day, a subtropical freshwater copepod. *Water, Air and Soil Pollution*. 204 (1-4): 133-138.
- Gagneten, A.M.; Vila, I. (2001) Effects of Cu⁺² and pH on the fitness of *Ceriodaphnia dubia* (Richard 1894) (Crustacea, Cladocera) in microcosm experiments. *Environmental Toxicology* 16 (5): 428-438.
- Gagneten, A. M. (2011) Effects of Contamination by Heavy Metals and Eutrophication on Zooplankton, and their possible effects on the Trophic Webs of Freshwater Aquatic Ecosystems. En: *Eutrophication: causes, consequences and control*. Ansari, A.A.; Singh Gill, S.; Lanza, G.R.; Rast, W. (Eds.) 1st Edition 394 p., ISBN: 978-90-481-9624-1

- Gagneten, AM; Maitre, MI, Reno, U., Regaldo, L., Roldán, S y Enrique, S. (2014) Efectos del herbicida Ron-do® sobre *Cerodaphnia reticulata* (Crustacea, Cladocera) y degradabilidad del glifosato (N-fosfometilglicina) en condiciones experimentales. *Natura Neotropicalis* 45 (1 y 2): 71-85.
- Gallardo, B., Gascón S., Quintana X.; Comín FA. (2011) How to choose a biodiversity indicator- Redundancy and complementarity of biodiversity metrics in a freshwater ecosystem. *Ecological Indicators*, 11: 1177-1184.
- Geckler, F.R., Hoving, W.B., Neiheisel, T.M.; Pickering Q.H., Robinson, E.L.; Stephan, C.E. (1976) Validity of laboratory tests for predicting copper toxicity in streams, EPA-600/3-76-116. National Technical Information Service, Springfield, VA.
- Giddings, J.M. (1986) A microcosm procedure for determining safe levels of chemical exposure in shallow water communities. In: *Community Toxicity Testing*, STP 920 (Ed. 1. Cairns Jr, pp. 121-131. ASTM, Philadelphia,
- Giesy, J.P., Allred, P.M. (1985) Replicability of aquatic multispecies test systems. In: *Multi-species Toxicity*.
- Gómez N. and Licursi M. 2001. The Pampean Diatom Index (IDP) for assessment of rivers and streams in Argentina. *Aquatic Ecology*, 5: 173-181.
- Gómez, N. (2012) Contribución de los índices bióticos regionales a la gestión ambiental de ecosistemas acuáticos pampeanos. En: *Aplicación de indicadores biológicos en cursos de agua de la ecorregión Pampa*. Rodríguez Capítulo, A. y Gómez, N. Ed.s
- Gutierrez MF, Paggi JC and Gagneten AM (2011) Microcrustaceans escape behavior as an early bioindicator of copper, chromium and endosulfan toxicity. *Ecotoxicology* 21 (2): 428-438.
- Gutiérrez, MF. Gagneten, AM y Paggi, JC (2012) Exposure to sublethal chromium and endosulfan concentrations alter the diel vertical migration (DVM) in different zooplanktonic species. *Ecotoxicology* 21(1):37-47
- Gutiérrez, MF. Gagneten, AM y Paggi, JC (2012a) Exposure to sublethal chromium and endosulfan concentrations alter the diel vertical migration (DVM) in different zooplanktonic species. *Ecotoxicology* 21(1):37-47.
- Gutierrez MF, Paggi JC and Gagneten AM (2012b) Infodisruptions in predator-prey interactions: Xenobiotics alter microcrustaceans responses to fish infochemicals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 81:11-16.
- Gutierrez, MF, Andrade V.1; Fantón N., Gagneten AM. (2016) Facing predation risk in aquatic systems: differential response of zooplankton and habituation to the false alarm. *Fundamental and Applied Limnology*. 184 (4): 329-339.
- Hanazato, T. (1998) Response of a zooplankton community to insecticide application in experimental ponds: a review and the implications of the effects of chemicals on the structure and functioning of freshwater communities. *Environmental Pollution*, 101: 361-373.
- Havens, KE (1994) An experimental comparison of the effects of two chemical stressors on a freshwater zooplankton assemblage. *Environmental Pollution*, 84:245-251.

- Jeppesen, E., Jensen, JP, Sondergaard, M. et al (2000). Trophic structure, species richness and biodiversity in Danish lakes: changes along a phosphorous gradient. *Freshwater Biology*. 45 (2) 201-218.
- Jeppesen, E., Jensen, JP, Sondergaard, M. et al (2000). Trophic structure, species richness and biodiversity in Danish lakes: changes along a phosphorous gradient. *Freshwater Biology*. 45 (2) 201-218.
- José de Paggi, S. 1997. Efectos de los Pesticidas sobre el Zooplancton de las Aguas Continentales: Análisis Revisivo. *FABICIB*, 1: 103-114
- Jose de Paggi, S.; J. C. Paggi, P. Collins, J. Collins, G. Bernal (2008) Water quality and zooplankton composition in a receiving pond of stormwater runoff from an urban catchment. *Journal of Environmental Biology*, 29 (5): 693-700.
- Karr, JR, KD Fausch, PL Angermeier, PR Yant, IJ Schlosser (1986) Assessing biological integrity in running waters: A method and its rationale. *Illinois Nat. Hist. Surv. Spec. Publ.* 5, 5(August), 28.
- Li L, Zheng B, Liu L (2010) Biomonitoring and bioindicators used for river ecosystems: Definitions, approaches and trends. *Procedia Environ. Sci.*, 2, 1510–1524.
- Liber, KN, Kaushik, NK, Solomon, KR Carey, JH (1992) Experimental Designs for Aquatic Mesocosm Studies: A Comparison of the "Anova" and "Regression" Design for Assessing the Impact of Tetrachlorophenolon Zooplankton Populations in Limnocorrals. *Environ. Toxicol. Chem.* 11, 61-77.
- Licursi M y Gómez N. 2003. Aplicación de índices bióticos en la evaluación de la calidad de agua en sistemas lóticos de la llanura pampeana Argentina a partir del empleo de diatomeas. *Biología Acuática*, 21: 31-49.
- Lu Y, Wang R, Zhang Y, Su H, Wang P, Jenkins, A, Squire G (2015) Ecosystem health towards sustainability. *Ecosyst. Heal. Sustain.*, 1(1), 1–15.
- Ludwig, J. & Reynolds, J. (1988). *Statistical Ecology*. New York: John Wiley.
- Luoma, S.N. y Rainbow P.S. (2005). Metal accumulation in aquatic ecosystems. *Environmental Science and Technology* 39 (7) 1921-1931.
- Magurran, A.E. (1988) *Ecological Diversity and its Measurement*. Croom Helm, London.
- Maine, MA, Panigatti MC.; Suñé N.L; Pizarro M. J. (1996) Phosphorus forms in lotic and lentic environments of the Middle Paraná flood Valley (Argentina). *Polskie Archiwum Hydrobiologie*, 43(4): 391-400.
- Marchese, M. Gagneten, AM, Parma, MJ 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.
- Marchese, M., Gagneten, A.M., Montalto, L., Gallardo L.I., Damborsky M. P. y Poi, A.S.G. (2020) Aplicación de Indicadores Biológicos en el Nordeste Argentino. En: en el libro "La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de la Argentina: Bases para el análisis de la integridad ecológica". E. Dominguez, A. Giorgi y N. Gómez (Comps.) Eds. Min. Amb., CONICET; RemAqua Eds. ISBN: ISBN 978-950-23-3006-8

- Megenazzo, E.; Regaldo, L. & Gagneten, A.M. (2016). El zooplancton de arroyos de la provincia de Santa Fe (Argentina) con presencia de microcontaminantes inorgánicos y plaguicidas. Tesis de la Lic. En Biodiversidad. Facultad de Humanidades y Ciencias, Universidad Nacional del Litoral. 67 pp.
- Newman et al. (2015) Chapter 11. Effects to Communities and Ecosystems. En: Fundamentals of Ecotoxicology. 4th ed.
- Odum, E. P. (1971). Fundamentals of Ecology. Philadelphia, Saunders.
- O'Neill, R.V., D. L. Deangelis, J. B. Waide, T. F. H. Allen (1986) A Hierarchical Concept of Ecosystems. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Wilson, E.O. (1988) Biodiversity. National Academy Press, Washington, DC.
- OECD 301 (1992) OECD Guideline for testing of chemicals.
- Pantle, R., Buck, H. (1955): Die Biologische Überwachung der Gewässer und die Darstellung der Ergebnisse. GWF, 96, 603 pp.
- Paracampo A.H., García, i.D., Mugni, H.D., Marrochi, M.N., Carriquiriborde, P. et al. (2015). Studies on Neotropical Fauna and Environment 50, 3: 7-9. Fish assemblage of a Pampasic stream (Buenos Aires, Argentina).
- Primost J.E., Marino, D.J., Aparicio, VC, Costa, JL, Carriquiriborde, P. (2017) Glyphosate and AMPA, "pseudopersistent" plutants under real world agricultural management practices in the mesopotamic Pampas agroecosystem, Argentina. Environ. Pollut. 229, 771-779.
- Regaldo L, Gagneten AM, Troiani H. (2014) Comparative study of the effects of Cu, Cr, Pb on *Daphnia magna* and two cladocerans representatives of the Argentinean Fluvial Littoral (AFL). (2014) Journal of Environmental Biology Vol. 35 (4): 689-697.
- Regaldo L, Gagneten, A.M., Troiani, H. (2009) Accumulation of Chromium and interaction with other elements in *Chlorella vulgaris* (Chlorofyceae) and *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera). Journal of Environmental Biology. Vol. 30 (2): 213-216.
- Regaldo, L.; Gutierrez, M.F.; Reno, U; Fernández, V.; Gervasio, S; Repetti, M.R., Gagneten, A.M. (2017) Water and sediment quality assessment: Impact of industry and agriculture on aquatic ecosystems in Santa Fe (Argentina). Environmental Science and Pollution Research. 1-18.
- Regaldo L., Reno U., Romero N., Gagneten A.M. Ecotoxicidad de lixiviados de Residuos Sólidos Urbanos (RSU) del relleno sanitario de la ciudad de Santa Fe (Argentina). VII Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental (SETAC ARG). Octubre 2018, San Luis.
- Regaldo, L. Gutierrez, Reno U, Fernández V, Gervasio S, Repetti MR, Gagneten AM. (2018) Water and sediment quality assessment in the Colastiné-Corralito stream system (Santa Fe, Argentina): impact of industry and agriculture on aquatic ecosystems Environmental Science and Pollution Research. 25 (7): 6951-6968.
- Reno, U, Regaldo, L y Gagneten AM. (2016) Efectos subletales de cuatro formulaciones de glifosato sobre *Daphnia magna* y *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera). Natura Neotropicalis. 47: 7-20.
- Reno, U.; Gutierrez, M.F.; Regaldo, L. & Gagneten A.M (2015) Impact of Eskoba®, a glyphosate formulation, on the freshwater plankton community. Water Environmental Research. 86 (12): 2294-2300.

- Reno, U.; Regaldo, L.; Ayarragaray, M.; Mendez, E.; Gagneten, A.M. (2018) Monitoreo de plaguicidas y empleo de bioindicadores como herramientas de la gestión ambiental para dar respuesta a demandas sociales. Periurbanos Hacia el Consenso. Tiftonell P & Giobellina B. Compiladores. Buenos Aires, INTA. 673 pp.
- Reno, U.; Regaldo, L.; Vidal, E.; Mariani, M.; Zalazar, C. y Gagneten, A.M. (2015) Water polluted with glyphosate formulations: effectiveness of a decontamination process using *Chlorella vulgaris* growing as bioindicator. *Journal of Applied Phycology* 28(4), 2279-2286.
- Reno, U. Doyle S; Momo F; Regaldo L; Gagneten AM (2018) Effects of glyphosate formulations on population dynamics of freshwater microcrustaceans. *Ecotoxicology Special Issue: Pesticides*. 27(7):784-793.
- Romero N., Attademo A., Reno U., Regaldo L., Repetti M.R., Lajmanovich R., Gagneten, A.M. (2021) Analysis of the zooplanktonic community in rice cultivars during a crop cycle in agroecological versus conventional management. En revisión.
- Salomons, W., Förstner, U. (1984) *Metals in the hydrocycle* (p. 349). Berlin Heidelberg New York: Springer.
- Schindler, D.W. (1974) Experimental studies of eutrophication and lake recovery: Some implications of lake management. *Science* 184, H97 -899.
- Schindler, D.W. (1985) Detecting ecosystem responses to anthropogenic stress. *Can. 1. Fish. Aquat. Sci.* 44, 6-25.
- Seidler, R.J. Ed.1 (1991) The use and development of environmentally controlled chambers mesocosms for evaluating biotechnology products. *Proceedings of a Workshop on the Use and Development of Terrestrial Mesocosms*, EPA/69~C:O-0021. US EPA Environmental Research Laboratory, Corvallis, Oregon.
- Society for Environmental Toxicology and Chemistry (1992) *Workshop on aquatic microcosms for ecological assessment of pesticides*. SETAC Foundation for Environmental Education, Pensacola, Florida.
- Touart, L.W. (1988) *Aquatic Mesocosm Tests to Support Pesticide Registrations*. EPA 540/09-88-035. US EPA Office of Pesticide Programs, Washington, DC. US EPA, Minnesota.
- Trevors J.T., Saier M.H Jr. (2008) *Three Laws of Biology*. DOI 10.1007/s11270-008-9925-3.
- Van Opstal N., Gagneten A.M., Sasal C., Regaldo L., Wilson M., Seehaus M., Gabioud Relevamiento cualitativo de la comunidad zooplanctónica de una cuenca del norte Entrerriano. VII Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental (SETAC ARG). Octubre 2018, San Luis.
- Van Opstal N.V.; Sasal M.C. y Gagneten A.M. Análisis del avance de la frontera agrícola y del efecto de plaguicidas sobre comunidad indicadora de agua dulce superficial. Periurbanos hacia el consenso. Córdoba, 12-14/09/2017.
- Willson, E. y Peter, FM. (1988). *Biodiversity*. National Academic Press. Washington, D.C. 521 p.