

EL USO DE BIOINDICADORES Y BIOMONITORES COMO EVALUADORES AMBIENTALES EN ARROYOS: DEFINICIONES, ESTRATEGIAS Y APLICACIONES

*Bernd Markert, Simone Wünschmann, Silvia Graciela De Marco, Nora Gómez,
María Paula Barral y Jorge Eduardo Marcovecchio*

RESUMEN

Desde hace varios años la estructura clásica de los programas de vigilancia del ambiente está siendo complementada con mediciones de bioindicación. En este sentido, las investigaciones sobre los organismos vivos o sus restos (turba por.ej.) se utilizan para indicar la condición del ambiente estudiado, ya sea en términos cualitativos (**bioindicación**) o cuantitativos (**biomonitoreo**). Esto proporciona información sobre la carga ambiental de una región en un momento determinado, o de sus cambios a lo largo del tiempo (*análisis de tendencias*). La bioindicación clásica a menudo se refiere a la observación y la medición de los efectos de tóxicos químicos (tanto inorgánicos como los orgánicos) sobre organismos bioindicadores (de cualquier grupo biológico, incluido el humano). Al analizarlo -tanto en términos de los procedimientos analíticos como de los resultados obtenidos- se observa una evolución paralela entre los avances conceptuales en bioindicación y la innovación en las técnicas instrumentales aplicadas.

Después de aproximadamente 30 años de desarrollo en la bioindicación es posible destacar algunas líneas particulares: (1) la cada vez más frecuente inclusión de análisis multielementales totales dirigidos a la investigación de correlaciones mutuas en el sentido expresado en el Sistema Biológico de los Elementos; (2) el aumento de estudios de especiación analítica que permitan re-orientar a las ciencias ambientales a través de los efectos reales que se identifican; y (3) focalizar sobre la integración de los métodos de bioindicación, considerando que para muchos problemas ambientales la información que puede brindar un solo bioindicador no resulta significativa ni demasiado útil. Así, conceptos integradores como el de **Bioindicación por Multi-Marcadores** (*multi-markered bioindication concept* – MMBC) proveen información básica para alcanzar niveles de protección ambiental precautoria contra los efectos de tóxicos a través de una metodología de segunda generación. Se ilustra la aplicación de esta metodología con un caso de estudio en Argentina.

PALABRAS CLAVE

Biomonitoreo –Bioindicación –Sistema Biológico de los Elementos –Biomonitoreo Integrado – Concepto de Bioindicación por Multi-Marcadores (MMBC)

INTRODUCCIÓN

En términos generales, durante la historia de las ciencias biológicas hubo tres fases diferentes en la adquisición de información y conocimientos sobre el o ambiente o las condiciones ambientales, así como de los cambios naturales y antropogénicos a los que están sometidos. Esas fases son:

- a) Fase descriptiva, biología observacional, hasta aproximadamente 1950.
- b) Desarrollo de las ciencias ambientales, en la segunda mitad del siglo XX (~1950 – 2000).
- c) La presente síntesis entre “nueva” y “vieja” ecología toma el principio de sustentabilidad como su objetivo científico. Esto incluye la utilización de la información más reciente, tecnología y sistemas comunicacionales novedosos (Markert *et al.*, 2020).

Una de las formas en que la información relativa a la calidad del ambiente puede ser recogida es a través del uso de la **bioindicación** o del **biomonitoreo**.

Históricamente, una de las definiciones más simples pero a la vez más significativa de **bioindicación** fue propuesta por Mueller en 1980: *“es la reducción del contenido de la información de los biosistemas de tal manera que a través suyo permita evaluar zonas enteras”*.

La Bioindicación es esencialmente una herramienta de la biología de la conservación tradicional. Los *taxa* indicadores se utilizan para interpretar los efectos de los cambios ambientales y de alteración o fragmentación de los hábitats. Desde hace algunos años se incluyen, además, los inconvenientes generados por el cambio climático y por los rápidos cambios registrados en los ecosistemas.

Un **bioindicador** es un organismo (o parte de un organismo o una comunidad de organismos) que contiene información sobre la calidad de su ambiente (o una parte del ambiente). En cambio, un **biomonitor** es un organismo (o una parte de un organismo o una comunidad de organismos) que contiene información sobre los aspectos cuantitativos de la calidad del ambiente. Un biomonitor siempre es también un bioindicador, pero un bioindicador no necesariamente cumple con los requisitos de un biomonitor (Markert *et al.*, 2003).

Información general sobre el ambiente

Tanto la bioindicación como el biomonitoreo deben proporcionar información sobre el estado, el alcance de la contaminación o de la degradación de los ecosistemas considerados. A partir de la bioindicación se obtienen dos formas diferentes de información: (i) información general, que puede tener el riesgo de incluir consideraciones sobre-simplificadas; y (ii) información específica, que incluye consideraciones muy detalladas, objetivas, reproducibles y precisas. Por ejemplo, la actividad de un determinado contaminante puede estar vinculada a la generación de una reacción fisiológica en un organismo bioindicador, y de esta manera ser utilizado para obtener una información más general sobre su ambiente.

Cuando los datos y la información obtenida por bioindicación se extrapolan para proporcionar un conocimiento mayor, la subjetividad de la interpretación aumenta con la complejidad y la dinámica del sistema bajo estudio. Este aumento en la subjetividad ligado a un aumento en el conocimiento puede ser representado por la "escalera del conocimiento" (Roots,1992). En el primer paso de la escalera (**Figura 7-1**), las observaciones y mediciones de datos deben ser validadas de acuerdo a estándares calificados.

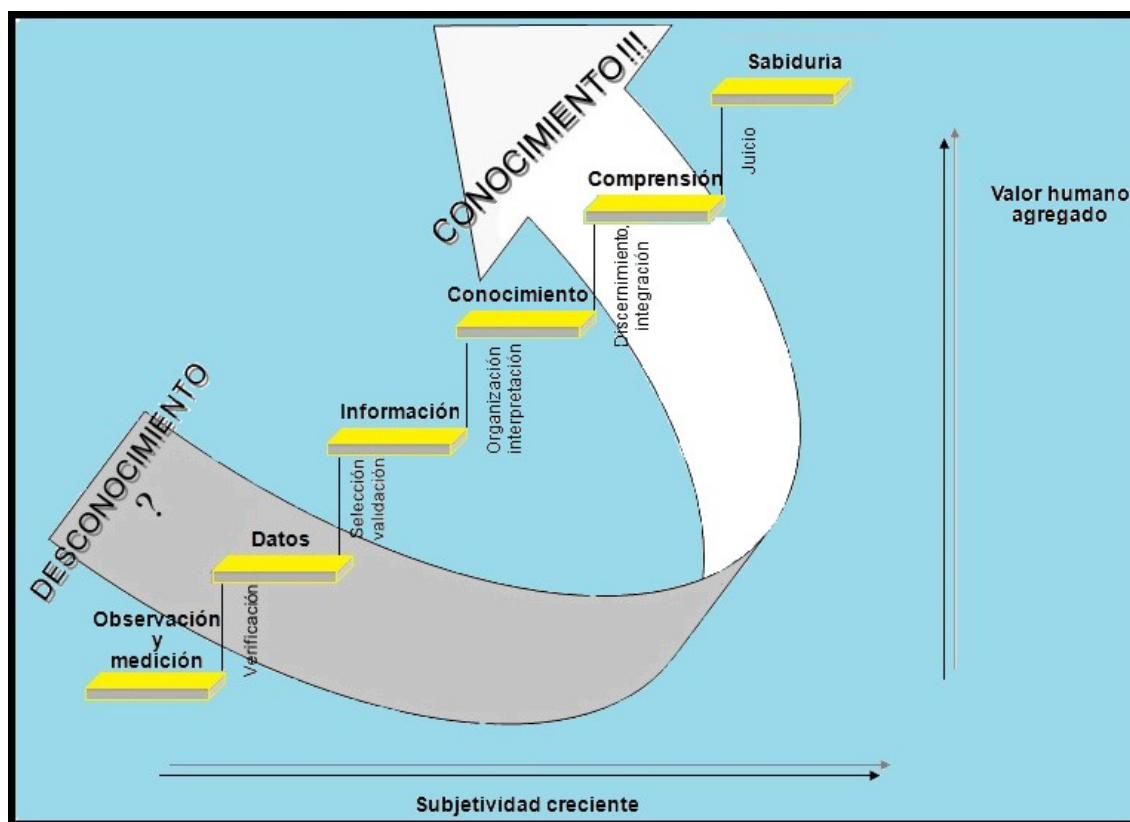


Figura 7-1. La escalera del conocimiento

Cuando los datos están debidamente seleccionados, probados y relacionados con la materia de interés, pueden llegar a ser piezas importantes de información: una vez que se organizan e interpretan, y se aplican a las áreas de preocupación, pueden transformarse en “conocimiento”. Una vez asimilado, mentalmente evaluado y respaldado por información adicional, este conocimiento puede ser discernido e integrado sobre la base de hechos y conceptos previamente asimilados, llevando eventualmente a la “comprensión”. Y ésta, combinada con el juicio de acuerdo a ciertos valores, puede convertirse en “sabiduría”. En términos generales, al ascender en la escalera del conocimiento las ideas se vuelven más subjetivas, con un aumento significativo de valor humano agregado (Roots, 1996).

Información específica del ambiente

La información específica y detallada de los ecosistemas es esencial en el análisis de bioindicación para sacar conclusiones claras, por ejemplo de las relaciones entre un estresante ambiental y el efecto que está produciendo sobre un

organismo (bioindicador). La **Figura 7-2** representa de modo simplificado el complejo conjunto de interrelaciones en un ecosistema ligeramente influenciado por estrés ambiental (en este caso, contaminación), así como de las consecuencias de los cambios según lo revelado por bioindicación y por biomonitoreo (Markert, 1996).

Como regla general se asume que un contaminante afecta a un organismo, el cual posteriormente será utilizado como bioindicador o como biomonitor. Ambos -el organismo y el contaminante- interactúan íntimamente con los otros compartimientos del ecosistema (**Figura 7-2**).

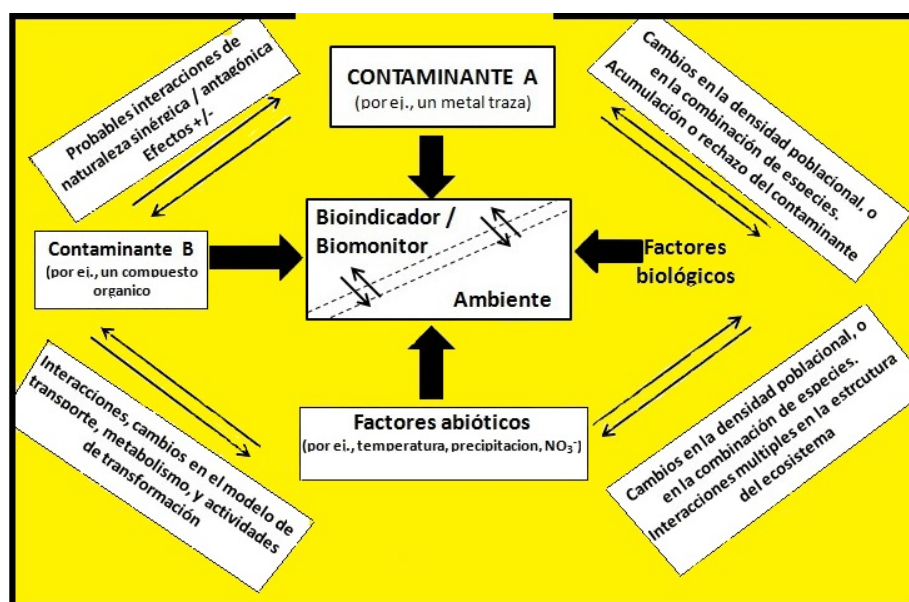


Figura 7-2. Representación simplificada de un ecosistema con interrelaciones complejas con respecto de un contaminante, y de la evaluación de consecuencias a través de bioindicación y biomonitoreo

La actividad vital del organismo está así influenciada por un gran número de factores abióticos y biológicos, y puede estar afectada por la acción conjunta de diferentes estresantes, especialmente bajo condiciones de campo (Wuenschmann *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2011; Markert *et al.*, 2015).

Debido a que los bioindicadores o biomonitores representan la integración de cargas ambientales de estresantes a lo largo del tiempo, su aplicación implica la correspondiente anulación de variaciones a corto plazo. En comparación con los

sistemas de control convencionales para medir las emisiones, realizar una evaluación a través de bioindicación supone un gasto mucho menor, tanto en personal como en utilización de instrumentos costosos. Esto permite la utilización de los bioindicadores para evaluaciones a gran escala espacial (por ej., grandes áreas), siempre que los organismos estén lo suficientemente dispersos y sean abundantes. De esta manera, se pueden hacer investigaciones que cubren terrenos muy amplios (por ej., cuencas hidrográficas, países enteros o incluso continentes) que de otra manera requerirían inversiones de magnitudes inalcanzables (Markert *et al.*, 2020).

El uso de uno o varios organismos con el propósito de estimar las cargas ambientales (**Figura 7-3**) trae consigo otra ventaja: más allá de las observaciones sobre el organismo mismo que está incluido en algún nicho ecológico dentro de un ecosistema, los datos analíticos obtenidos en él pueden ser integrados en un sistema biológico más completo. Así, más allá del propio bioindicador, las condiciones ecológicamente relevantes son entendibles en grandes porciones de la biocenosis debido a las interacciones bióticas que las interconectan, a diferencia de cuando se utilizan métodos físico-químicos directos que se limitan a la matriz analizada.

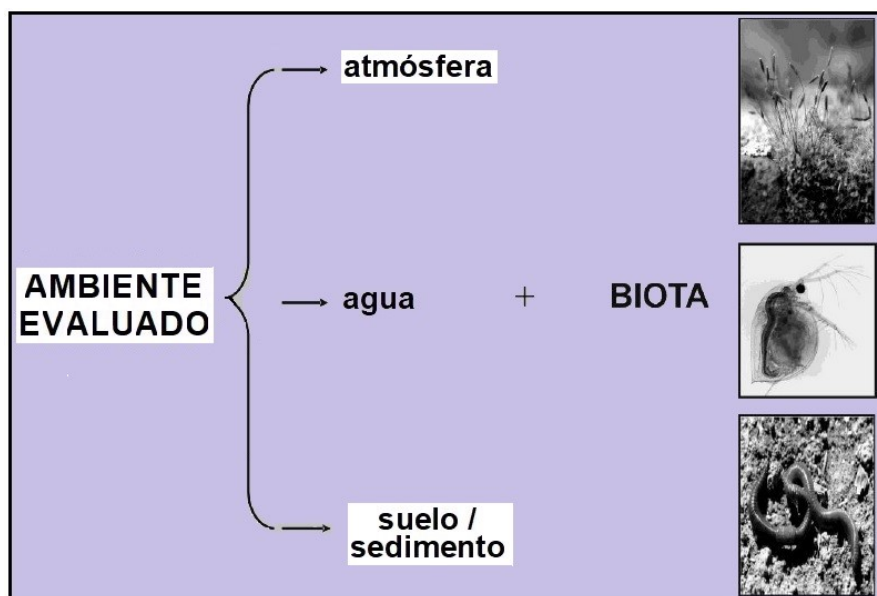


Figura 7-3. Evaluación de un ambiente usando bioindicación con varios organismos (en el ejemplo, musgos, el cladóceros *Daphnia* sp. y lombrices de tierra)

Algunas definiciones

Es importante definir con claridad los conceptos que se están considerando en este capítulo para evitar interpretaciones erróneas o aplicaciones inadecuadas de estas herramientas de evaluación ambiental. En tal sentido, vale la pena destacar las definiciones oportunamente propuestas por Markert *et al.* (2003; 2008) que han sido ampliamente aceptadas por la comunidad científica internacional. Estas definiciones se exponen a continuación.

Los bioindicadores son organismos o comunidades de organismos cuyo contenido de ciertos elementos o compuestos suministra información sobre la calidad de su ambiente o la naturaleza de los cambios ambientales que en él se producen. Estos cambios se pueden registrar a través de variaciones en estructura morfológica, histológica o celular, procesos metabólico-bioquímicos, comportamiento o estructura de la población, entre otros. La bioindicación compara datos relativos de información entre organismos o conjuntos de organismos (Figueiredo *et al.*, 2007; Markert, 2007).

Por su parte, los **biomonitores** son organismos o comunidades de organismos cuyo contenido de ciertos elementos o compuestos proporcionan información sobre los aspectos cuantitativos de la calidad de su ambiente o de la naturaleza de los correspondientes cambios ambientales (Bargagli *et al.*, 2002). El biomonitoreo compara datos absolutos (por ejemplo, sobre presencia de contaminantes) entre sí.

Además, se habla de **bioindicación activa** (o de **biomonitoreo activo**) cuando los bioindicadores (o biomonitores) han sido desarrollados en laboratorio, y están expuestos en forma estandarizada a la acción de un estresante en el campo por un período de tiempo determinado (Seaward, 2006). Al finalizar este tiempo de exposición se registran y analizan las reacciones provocadas por los estresantes incorporados por los organismos. En el caso de la **bioindicación** (o **biomonitoreo**) **pasivos** se examinan las reacciones generadas en los organismos que habitan los ambientes naturales en evaluación (Pignata *et al.*, 2002).

También se puede considerar una clasificación de los organismos (o comunidades de organismos) de acuerdo a su “modo de acción” (Markert *et al.*, 2019):

(i) **Indicadores/monitores de acumulación**, son aquellos organismos capaces de acumular uno o más elementos y/o compuestos desde su ambiente.

(ii) **Indicadores/monitores de efecto o impacto**, son organismos que demuestran efectos específicos o inespecíficos en respuesta a la exposición a determinados elementos, compuestos o sustancias.

Cuando se estudian los procesos de acumulación resulta muy útil distinguir las rutas a través de la cuales los organismos incorporan elementos o compuestos y los almacenan en sus cuerpos. Varios mecanismos contribuyen a la acumulación global (**bioacumulación**), que se da lo largo de la vida del organismo (o al menos de un período prolongado), y que depende de las interacciones entre los indicadores seleccionados y su entorno biótico y abiótico (Chojnaka, 2010; Markert *et al.*, 2019).

La acumulación a través de la dieta alimentaria (o **biomagnificación**) es un mecanismo de bioacumulación adicional que resulta en un aumento de la concentración química de la sustancia evaluada con el aumento del nivel trófico en las tramas alimentarias involucradas (Kelly *et al.*, 2007). Este aparente transporte químico contra el gradiente termodinámico se debe a la digestión y absorción de los alimentos ingeridos (que concentran las sustancias químicas que incluyen) en el tracto gastrointestinal (Gobaset *al.*, 1999). De esta manera, las sustancias hidrófobas escasamente metabolizables (con coeficientes de partición octanol-agua $K_{OW} \geq 10^5$) han demostrado ser particularmente susceptibles a la biomagnificación en los peces, mientras que las sustancias químicas con K_{OW} más bajos generalmente no se biomagnifican en los peces (Morris, 2015; King County, 2018).

Por otro lado, también se debe comentar el concepto de **bioconcentración**, que es el proceso por el cual se captan directamente las sustancias/ elementos desde el medio circundante (entorno físico) a través de los tejidos u órganos (incluyendo las vías respiratorias) (Markert, 2007; Mackay *et al.*, 2018). Además de las plantas, que sólo pueden incorporar sustancias de esta manera (principalmente a

través de las raíces y las hojas) la bioconcentración juega un papel importante en los animales acuáticos. El mismo análisis puede aplicarse a invertebrados del suelo con un bajo grado de insolación cuando toman contacto con el agua contenida en el suelo (agua intersticial).

Finalmente, es necesario incluir también otras dos herramientas de evaluación ambiental aplicadas en estudios de este tipo: son los biomarcadores y los biosensores. Los **biomarcadores** son parámetros biológicos medibles a nivel sub-organísmico (genético, enzimático, fisiológico, morfológico), en los que los cambios estructurales o funcionales indican la influencia del ambiente en general y de los contaminantes en particular, en términos cualitativos, y a veces también en forma cuantitativa (Markert *et al.*, 2003; Strimbu y Tavel, 2010). Por ejemplo, la inducción de Citocromo P-450 u otras enzimas Fase I por acción de varios hidrocarburos halogenados, la incidencia de formas de melanismo industrial como marcadores de contaminación del aire, bronceado de la piel humana por causa de la radiación UV, cambios en la estructura morfológica, histológica o ultraestructura de los órganos evaluados (por ej., hígado, timo, testículos) luego de exposición a contaminantes, entre otros (Adams *et al.*, 2001).

Por su parte los **biosensores** son dispositivos de medición que producen una señal proporcional a la concentración de una sustancia (o grupo de sustancias) definida, a través de una combinación adecuada de un sistema biológico selectivo (por ej., enzimas, anticuerpos, membrana celular, organelas celulares) y un dispositivo de transmisión física (electrodos potenciométricos o amperométricos, receptor óptico u optoelectrónico, etc.) (Markert *et al.*, 2003; Rodríguez-Mozaz *et al.*, 2005). Por ejemplo, toxímetros de vigilancia bacteriana, electrodos Eu/Ciano/bacterianos, Biotest (bioensayo de rutina tóxico-farmacológico para probar los efectos de agentes químicos sobre los organismos), que pueden utilizarse en laboratorio pero eventualmente también en el campo, bajo condiciones estandarizadas (factores bióticos y abióticos) (Justino *et al.*, 2017).

Principios: comparación de instrumental de medición y de métodos de bioindicación / biomonitoreo

Dada la similaridad entre los términos empleados en el análisis químico instrumental (mediciones cualitativas y cuantitativas), en los bioindicadores de campo (como una aproximación cualitativa al control del estrés ambiental) y en los biomonitores (como una aproximación cuantitativa) se hace necesaria la comparación de estas técnicas.

- Instrumentos y bioindicadores

La **Figura 7-4** presenta un esquema detallado del análisis instrumental, que muestra diferentes procedimientos de medición de sustancias químicas, actividad enzimática y otros parámetros relevantes de ecosistemas y con potencialidad estresante, utilizando instrumental específico. Existe una gran cantidad de métodos químicos analíticos (por ej., técnicas y variantes de espectroscopía, cromatografía, espectrometría de masas, fluorimetría, entre otros) que pueden ser aplicados para la determinación de las concentraciones de contaminantes químicos (metales traza, compuestos orgánicos persistentes, radionucleidos, nutrientes inorgánicos, materia orgánica –MO-, entre otros), biológicos (bacterias patógenicas, virus, priones, entre otros) y físicos (radiación, partículas, sonido, entre otros). El control de calidad de la medición de estos instrumentos (*validación*) se realiza mediante el análisis de Materiales de Referencia Certificados, disponibles en todo el mundo, y que dan certidumbre a los resultados obtenidos. Las principales fuentes de error identificadas en estos estudios son los procedimientos de muestreo (hasta 1000%) y los de preparación pre-analítica de las muestras (hasta 300%). Se puede ver una detallada discusión de los errores típicos mencionados en Markert (1994; 1996).

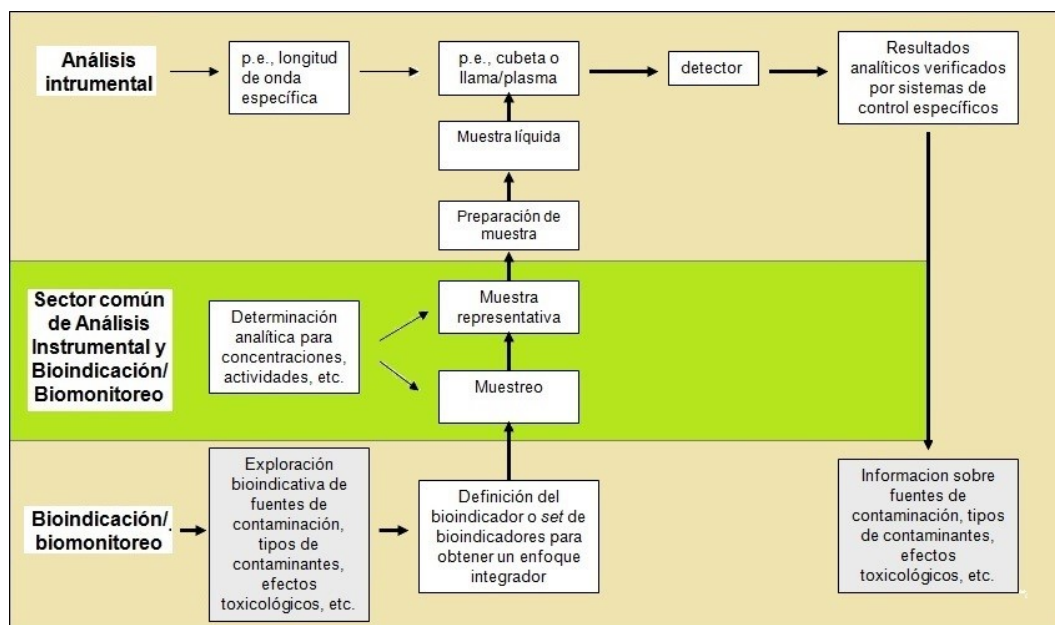


Figura 7-4. Comparación de los procedimientos de medición instrumental y por bioindicación / biomonitoreo

La comparación directa con un sistema biológico de medición (bioindicador) muestra que el proceso completo de medición instrumental está frecuentemente integrado al procedimiento de bioindicación (**Figura 7-4**), al menos cuando las muestras deben ser analizadas para compuestos químicos. Esto significa que el trabajo de laboratorio sobre bioindicadores depende fuertemente del instrumental analítico de medición, que permite obtener información adicional sobre el bioindicador. De esta manera, cuando se plantea la pregunta *¿Bioindicación o medición instrumental directa?*... queda claro que ésta relación debe ser cabalmente comprendida (Markert *et al.*, 2019).

Los resultados analíticos correctos se pueden obtener solamente si el proceso analítico completo ha sido sometido a un proceso de control de calidad, donde cada resultado es evaluado en su precisión y exactitud (Hattori *et al.*, 2008). Básicamente hay dos métodos que se utilizan para evaluar la exactitud de los resultados analíticos: (i) Utilización de un Material de Referencia Certificado (comercialmente disponibles, y con un contenido del compuesto a medir certificado por un Laboratorio de Referencia, en una matriz similar a la que se está estudiando); y (ii) Utilización de procedimientos analíticos independientes.

En el caso de los bioindicadores también se pueden llevar adelante muestreos repetidos para tener una idea de cuán estable es el bioindicador con respecto al sitio así como sus variaciones en el tiempo. Un problema más complicado es la exactitud durante el procedimiento de muestreo, ya que hasta el momento no hay sistemas de referencia certificados que permitan calibrar la representatividad de la muestra (Krüger *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2019). Como regla general, deben compararse sistemas impactados contra no impactados, pero no hay manera de asegurar la exactitud del trabajo (Stancheva y Sheath, 2016; Polechońska y Klink, 2021). La única estrategia posible es la de los “métodos independientes”, cuando diferentes grupos de investigación tienen objetivos en la misma área con los mismos bioindicadores; de esta manera, datos obtenidos independientemente pueden ser comparados. El inconveniente de éste es que resulta muy caro, pero una de sus ventajas es que puede ser utilizado con propósitos muy particulares de bioindicación, permitiendo así el desarrollo de normativas de interés general (por ej., Unión Europea, entre otros) (Markert *et al.*, 2020).

- Calibración

En general hay que considerar un problema que existe con los bioindicadores, que usualmente no surge con las técnicas de medición instrumental: la calibración del sistema biológico como tal (**Figura 7-5**). Los límites dentro de los cuales los organismos pueden indicar exposición a un compuesto se hacen especialmente evidentes en los intentos de cuantificar cualidades del ambiente; por ej., en el biomonitoreo en el sentido estricto del término (Markert *et al.*, 1997). Aunque el número de bioindicadores está creciendo virtualmente por hora, es difícil encontrar en la naturaleza organismos que cumplan con los criterios de un biomonitor activo o pasivo. Por ejemplo, el análisis de los indicadores individuales de acumulación de la carga corporal de ciertas sustancias no necesariamente permite extraer conclusiones acerca de las correspondientes condiciones del ambiente (**Figura 7-5**). Muchas plantas y animales presentan altos factores de acumulación de algunas sustancias aún a bajas concentraciones ambientales, pero esos factores disminuyen considerablemente en los niveles superiores del sistema. El resultado que se obtiene

es del tipo *curva de meseta* de la concentración ambiental/ carga corporal (**Figura 7-5**). Por otra parte, muchos organismos son exitosos en mantener sus niveles de incorporación de sustancias tóxicas muy por debajo de un amplio rango de concentraciones propias del ambiente (Markert *et al.*, 1997). Los correspondientes mecanismos de regulación no colapsan hasta que se superan los niveles de toxicidad aguda, lo que puede resultar en un alto grado de acumulación.

Las excepciones son las sustancias que no son absorbidas activamente, pero que ingresan al cuerpo por procesos de difusión, situación que resulta muy poco frecuente, y que se da, por ejemplo, en el caso de los compuestos inorgánicos de metales (Zhao *et al.*, 2016; Egorova y Ananikov, 2017).

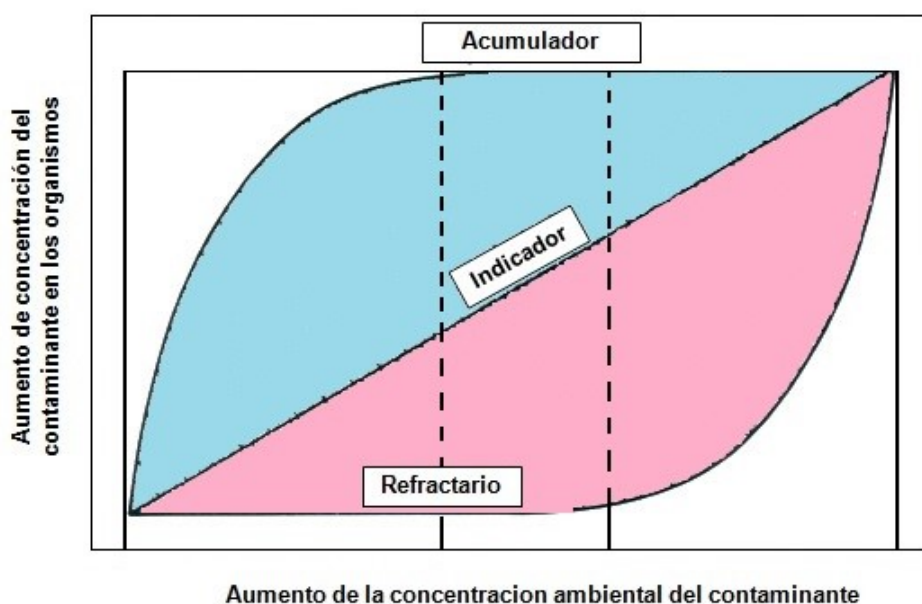


Figura 7-5. Correlación entre la concentración ambiental del contaminante y la del organismo estudiado. Los rangos lineales para calibración son muy limitados tanto para *acumuladores* como para *refractarios*

Frecuentemente, esto significa que la relación entre bioindicador / biomonitor y su ambiente respecto a la concentración del compuesto que se acumula no es lineal sino logarítmica. Aún cuando la linealidad de la función logarítmica se logra mediante la conversión matemática, en la práctica la relación lineal entre las dos

mediciones se limita a un estrecho rango de valores. Pero los organismos sólo pueden proporcionar información inequívoca sobre su ambiente si existe una relación lineal, comparable a la línea de calibración de los instrumentos de medición.

En comparación con los métodos instrumentales de análisis, donde el rango de calibración normalmente cubre varios órdenes de magnitud, es más difícil conseguir un amplio rango lineal en los bioindicadores, ya que los organismos están constantemente cambiando su “*hardware*” mediante procesos biológicos. La estandarización de los bioindicadores parece, hasta el momento, poco realista, lo que significa que la armonización entre los usuarios de los mismos indicadores es de interés específico y real para el futuro.

-Estrategias integradas y aplicaciones de bioindicación / biomonitoreo

A los efectos de desarrollar procesos de bioindicación y/o biomonitoreo para la evaluación de elementos químicos como potenciales estresantes ambientales es necesario dar un enfoque muy específico respecto de cada una de las especies químicas del elemento considerado, así como del tratamiento integral de sus características generales. En este sentido, puede resultar de enorme utilidad la consideración del Sistema Biológico de los Elementos (**Figura 7-6**), siguiendo la descripción de Markert *et al.* (2015).

El Sistema Biológico de los Elementos es una compilación de datos basados en múltiples análisis de correlación entre el papel fisiológico de los elementos en los organismos, el desarrollo evolutivo del ambiente físico y la forma de absorción de esos elementos en los organismos (por ej., como molécula con carga neutra o como ión).

Tal como se ha expresado previamente, tanto la bioindicación como el biomonitoreo son herramientas de evaluación capaces de proporcionar información sobre el grado de impacto (por ej., contaminación o degradación) que afecta a los ecosistemas bajo estudio.

Desde un punto de vista integrativo la bioindicación / biomonitoreo no es una “*máquina de vigilancia ambiental*”; en realidad, se trata de la consideración integrada de diferentes sistemas de evaluaciones bioindicativas (simultáneas o convergentes) que intenta, junto con la inclusión de otros parámetros ambientales, producir una imagen clara de una situación de impacto o estrés ambiental, así como de su influencia en las condiciones futuras de los sistemas evaluados.

Estos modelos de sistemas de evaluación se pueden aplicar en diferentes tipos de ambientes, escalas espaciales, grados de intervención antrópica de cada sistema y tipo de impacto que se estudia. Estas consideraciones son centrales para la elección del o de los bioindicadores / biomonitores que se utilizarán para la evaluación correspondiente, la definición de la escala temporal de estudio, las condiciones de borde que definen la validez del proceso, así como de su proyección al sistema natural (Markert *et al.*, 2020).

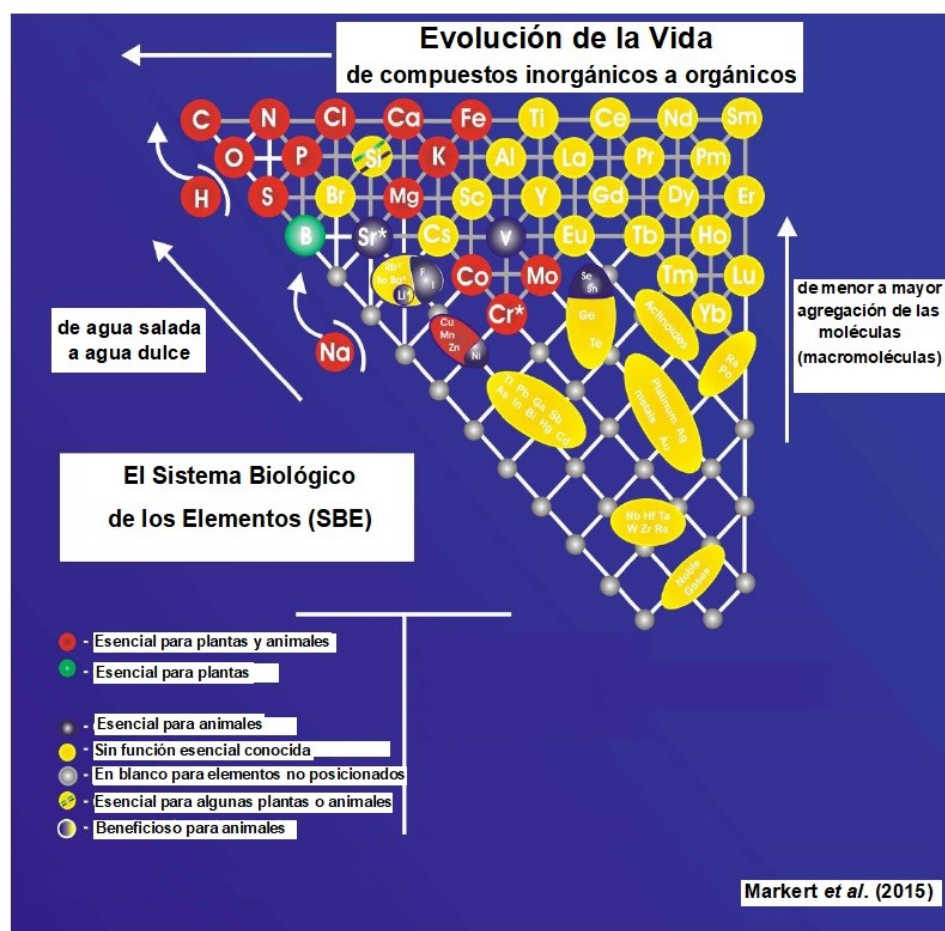


Figura 7-6. El Sistema Biológico de los Elementos (adaptado de Markert *et al.*, 2015)

Para el caso particular de la aplicación de la tecnología de Bioindicación / Biomonitoreo (B&B) a estudios de contaminación, se puede complementar con el uso de otra herramienta de gran valor como son los Bancos de Muestras Ambientales, cuyo propósito es la administración de materiales capaces de brindar información ecotoxicológica y guardarlos sin cambios durante largos períodos, que permiten realizar análisis retrospectivos y evaluaciones de la contaminación por sustancias que no pudieron ser oportunamente analizadas en el momento en que se tomaron las muestras (Karube *et al.*, 2014; Markert *et al.*, 2014; Lermen *et al.*, 2021).

Un último concepto que es importante analizar en este escenario es el de la **Bioindicación de múltiples señales** (MMBC por *multi-markered bioindication concept*), un enfoque integrador que se basa en un aporte multidisciplinario organizado a lo largo de varias “ventanas” integradas y funcionales. MMBC es una de las formas en que las cajas de herramientas bioindicativas pueden organizarse en un marco jerárquico para evaluar procesos complejos de estrés ambiental (Markert *et al.*, 2019). En las cajas de herramientas hay conjuntos de pruebas de combinación funcional que permiten obtener un enfoque integrado de problemas ambientales específicos. Este enfoque integrado no es sólo para vincular todos los resultados, sino para corroborarlos con datos ya disponibles de la investigación de condiciones de los ecosistemas, toxicología, monitoreo ambiental y bancos de muestras, entre otros (Markert *et al.*, 2020).

Casos de estudio

Los estudios de evaluación de calidad ambiental de diferentes tipos de ecosistemas mediante la aplicación de técnicas de Bioindicación / Biomonitoreo (B&B) han sido desarrollados en todo el mundo, y tienen numerosos antecedentes que validan su utilización. Entre otros se puede mencionar los estudios publicados oportunamente por Zhouet *et al.* (2008), quienes monitorearon el río Yangtze y su cuenca tributaria mediante diferentes bioindicadores (por ej., algas, macrófitas, zooplancton, insectos, moluscos gasterópodos, peces). Kholodkevich *et al.* (2008)

aplicaron un sistema de biomonitoreo a tiempo real en el río Neva, cerca de San Petesburgo (Rusia), utilizando un cangrejo de río (*Pontacastus leptodactylus*) como biomonitor. Rotter *et al.* (2011) utilizaron biofilms de perifiton para realizar un biomonitoreo activo *in situ* del río Elba, en el este de Alemania. Por su parte, Fawzy *et al.* (2011) utilizaron seis especies de plantas acuáticas vasculares (*Ceratophyllum demersum*, *Eichhornia crassipes*, *Myriophyllum spicatum*, *Echinochloa pyramidalis*, *Typha domingensis*, y *Phragmites australis*) como biomonitores en su estudio en el área superior del río Nilo, en Egipto.

También se deben destacar algunos trabajos de aplicación de bioindicación / biomonitoreo para la evaluación de ambientes acuáticos desarrollados en Argentina. Entre ellos se mencionan los de Marcovecchio *et al.* (1988; 1991; 1994) quienes utilizaron peces (*Paralichthys* sp., *Mustelus schmitti*, *Halaeulurus bivius*, *Notorhynchus* sp.) y crustáceos (*Artemesia longinaris*, *Pleoticus muelleri*) del estuario de Bahía Blanca, y peces (*Mugil liza*, *Micropogonias furnieri*) como biomonitores de la zona externa del estuario del Río de La Plata (Marcovecchio, 2004). Por su parte, Ronco *et al.* (2000) propusieron el uso de micro-bioensayos como método de biomonitoreo en Argentina, Chile y Colombia. Harguinteguy *et al.* (2013) utilizaron la planta acuática *Myriophyllum aquaticum* como biomonitor en el río Xanaes, en la provincia de Córdoba. Además, Marinho *et al.* (2018) biomonitorearon la Bahía de San Antonio, provincia de Río Negro, mediante el uso de la planta halófila *Spartina* spp. y el cangrejo *Neohelice granulata*. Como último ejemplo, merece mencionarse los trabajos de Hadad *et al.* (2021.a; 2021.b) quienes utilizaron plantas macrófitas como bioindicadores / biomonitores en humedales de la cuenca del río Paraná.

A continuación, y a manera de ejemplo de la aplicación de esta técnica para la evaluación ambiental de arroyos bonaerenses se presentan dos casos de estudio.

Biomonitoreo en ríos pampeanos

Como ya se ha mencionado, la provincia de Buenos Aires se caracteriza por presentar una rica red hidrográfica entorno a la cual se desarrollan múltiples actividades humanas vinculadas a la agricultura, ganadería, industria y urbanización, las cuales impactan en los cursos de agua que la surcan. La diversidad de comunidades acuáticas representadas en estos ríos y arroyos pampeanos ha favorecido la posibilidad de explorar distintos indicadores biológicos, permitiendo así su uso en la evaluación y monitoreo de estos. El empleo de algunos ensambles de especies que integran las comunidades planctónicas y bentónicas es frecuentemente utilizado, como es el caso de los macroinvertebrados asociados a la vegetación y a los sedimentos, de las diatomeas bentónicas y el fitoplancton (**Figura 7-7**); más recientemente también se han comenzado a emplear los ensambles de peces. Las metodologías empleadas en el biomonitoreo de los cursos de agua bonaerenses abarcan desde los niveles supra-organísmicos, tales como índices bióticos, biomasa algal y cambios estructurales de las comunidades, hasta los que implican el nivel celular y subcelular, cambios morfológicos de los individuos, o bien las respuestas fisiológicas y bioquímicas (Rodrigues Capítulo y Gómez, 2020).

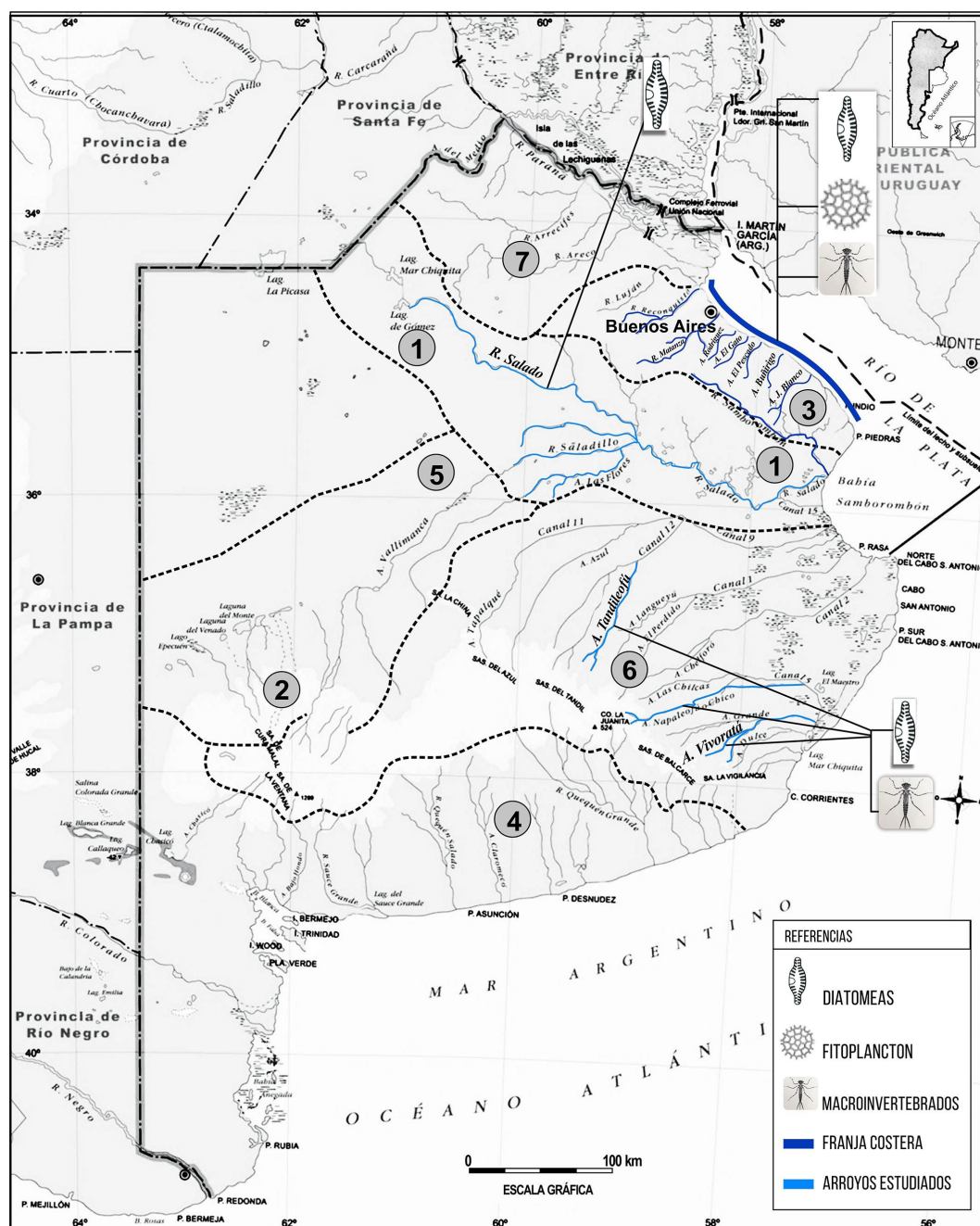


Figura 7-7. Cuentas hidrográficas de la provincia de Buenos Aires (modificada de Frenguelli, 1956; Ringuelet, 1962: (1) Sistema del río Salado; (2) Cuenca endorreica derivada del noroeste de las sierras de la Ventana. (3) Afluentes del estuario del Río de Plata; (4) Cursos de agua con pendiente hacia el océano Atlántico originados en las sierras de la Ventana y las colinas de las sierras de Tandil; (5) Sistema del arroyo Vallimanca que drena hacia el río Salado; (6) Cursos con pendiente atlántica derivados del noreste de las sierras de Tandil y Balcarce; (7) Afluentes del río Paraná. Se indican los cursos de agua en los cuales se emplearon índices bióticos y las comunidades biológicas empleadas en cada caso (tomado de Rodríguez Capítulo y Gómez, 2020).

Cuenca Matanza-Riachuelo

A modo de ejemplo de las distintas metodologías empleadas en cursos de agua de la provincia de Buenos Aires se expondrán los indicadores utilizados en el biomonitoreo de la cuenca Matanza-Riachuelo. Este ecosistema fluvial tiene una superficie de 2240 km² y en su recorrido de 70 km atraviesa 14 municipios y la ciudad Autónoma de Buenos Aires (**Figura 7-8**), antes de desembocar en el estuario del Río de la Plata. De los 8.000.000 de habitantes que viven en la megalópolis de la ciudad de Buenos Aires, la mitad están asentadas en esta cuenca (INDEC, 2010). Aproximadamente 7.200 industrias se encuentran emplazadas en torno a este curso de agua, a lo cual se le suman efluentes cloacales pobremente tratados y basurales, las cuales impactan fuertemente en la calidad del agua. Esta situación conduce a que se hallen concentraciones de oxígeno disuelto bajas, que conllevan a condiciones de anoxia, particularmente en las zonas más densamente pobladas e industrializadas de la cuenca media y baja. El aporte de MO también revela este fuerte impacto antrópico, con valores promedio que superan los 90 mg/L de DQO y los 20 mg/LDBO (ACUMAR, 2018). La presencia de hidrocarburos y metales traza, entre otros contaminantes, imponen condiciones críticas para vida acuática.

Desde hace más de una década este curso de agua se encuentra sometido a un proceso de rehabilitación, como consecuencia de una sentencia judicial que impuso mejorar la calidad de vida de los pobladores que habitan esta cuenca. Para esto se implementaron distintas acciones, entre las que se encuentra el Programa *de Monitoreo Integrado de Calidad de Agua Superficial y Sedimentos de la Cuenca Matanza-Riachuelo y del Río de la Plata y Sistematización de la Información Generada. Cuenca Matanza-Riachuelo*, ejecutado por la Autoridad de Cuenca del Río Matanza-Riachuelo (ACUMAR). Este programa incluye una serie de biomonitores e indicadores del hábitat (**Figura 7-8**) para el seguimiento del proceso de rehabilitación.

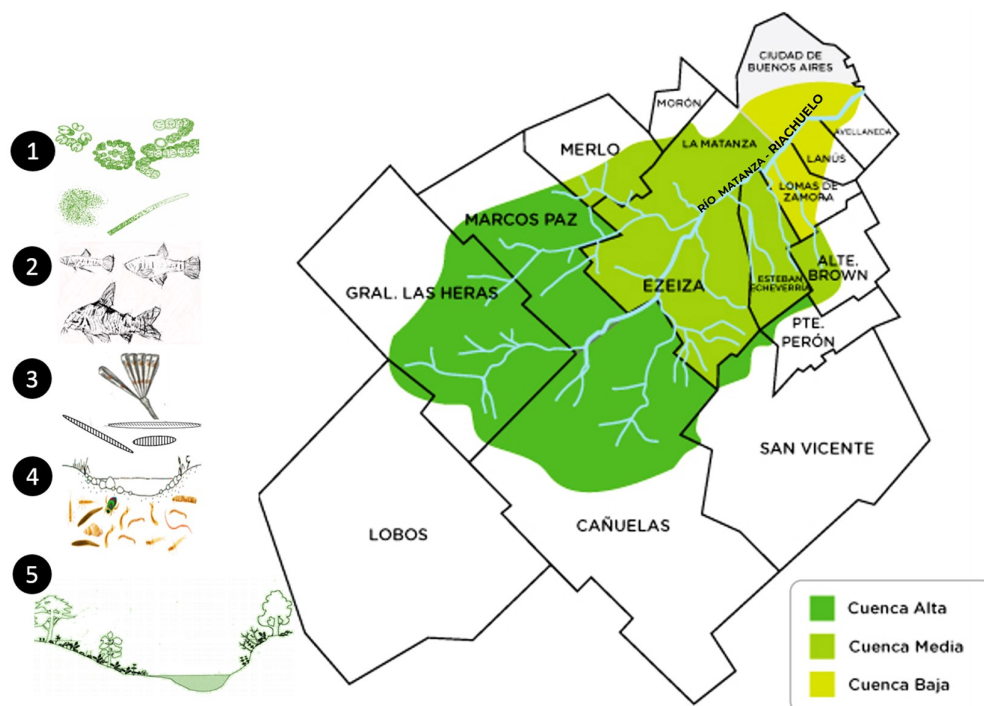


Figura 7-8. Cuenca Matanza-Riachuelo, sectorización en cuenca alta, media y baja. Tipos de biomonitores empleados por Autoridad de Cuenca Matanza-Riachuelo (ACUMAR)

- 1- Fitoplancton: clorofila *a* y feopigmentos. 2-Peces: riqueza taxonómica, abundancia y tolerancia a la contaminación, Índice Ictiológico relativo de calidad ambiental (IIA).
- 3- Diatomeas bentónicas: riqueza, diversidad, porcentaje relativo de especies sensibles, tolerantes y muy tolerantes a la contaminación. Índice de Diatomeas Pampeano (IDP), porcentaje de células con cloroplastos modificados, deformaciones de los frústulos.
- 4-Macroinvertebrados: riqueza, diversidad, porcentaje relativo de especies sensibles, tolerantes y muy tolerantes a la contaminación. Índice Biótico Pampeano (IBPamp).
- 5-Hábitat: índice de calidad del hábitat para arroyos urbanos USHI.

Dentro de las múltiples herramientas que se pueden emplear se recurrió en esta cuenca a los denominados ecológicos y morfológicos. Entre los primeros se hallan aquellos descriptores que tienen la particularidad de combinar la información que proveen los distintos *taxa* a través de un valor indicador sobre algún aspecto de la contaminación y que permite identificar cómo es la calidad ambiental. Entre ellos se encuentran los índices bióticos como el Índice de Diatomeas Pampeano “IDP” (Gómez y Licursi, 2001; Licursi y Gómez, 2004) y el Índice Biótico Pampeano (Rodríguez Capítulo *et al.*, 2001) basado en macroinvertebrados bentónicos, diseñados ambos a partir de una amplia base de datos provenientes de ríos y arroyos pampeanos con distintos grados de contaminación. La particularidad de estos índices bióticos es que combinan propiedades de los *taxa*, tales como la

abundancia y los óptimos y rangos de tolerancia a la contaminación. A modo de ejemplo, en la **Figura 7-9** se observa la distribución de los valores del IDP, que fluctúa entre 0 (muy buena calidad del agua) y 4 (muy mala calidad del agua), durante una campaña de muestreo en la cuenca Matanza-Riachuelo. Este índice permite reconocer los procesos de eutrofización y enriquecimiento de MO en distintos tramos de la cuenca, siendo más marcados en la media y baja y en algunos sitios de la cuenca alta, afectados por la actividad agrícola-ganadera y la manufacturación de los productos derivados de éstas. Estos resultados son complementados por la información suministrada por los macroinvertebrados bentónicos que también revelan resultados similares en distintos tramos de la cuenca (Gómez *et al.*, 2018).

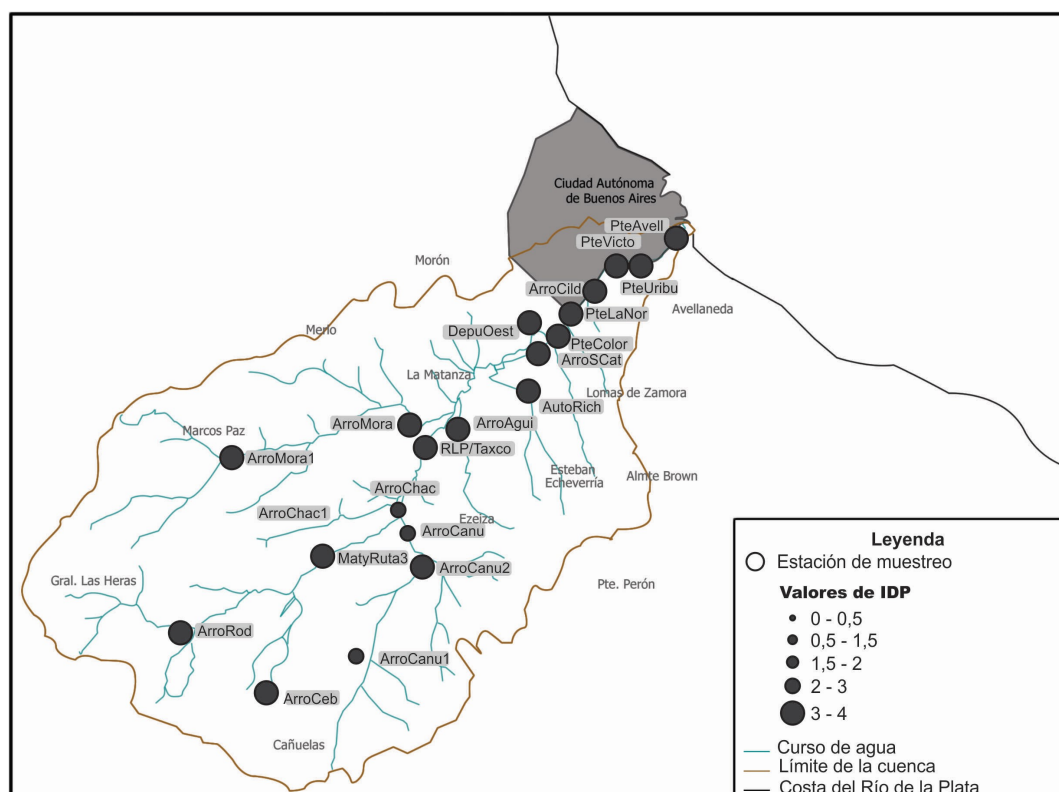


Figura 7-9. Distribución de los valores del IDP durante la campaña de muestreo de marzo de 2018. Valores < 0.5: muy buena calidad del agua; > 3 muy mala calidad del agua (tomado de Gómez *et al.*, 2018)

Por otra parte, la riqueza de especies, abundancia y tolerancia a la contaminación de los peces también permitió advertir el impacto antropogénico en la cuenca. En la **Figura 7-10** se observa la distribución del Índice Ictiológico Relativo

de Calidad Ambiental (IIA), que fluctúa entre 1 (buena condición ambiental) y 0 (muy mala condición ambiental) el cual incluye en su cálculo: a- el porcentaje de lances efectivos promedio, b- la riqueza específica promedio, c- la abundancia de peces por metro cuadrado promedio y d- la cantidad de categorías presentes según tolerancia promedio a la contaminación (Colautti *et al.*, 2015).

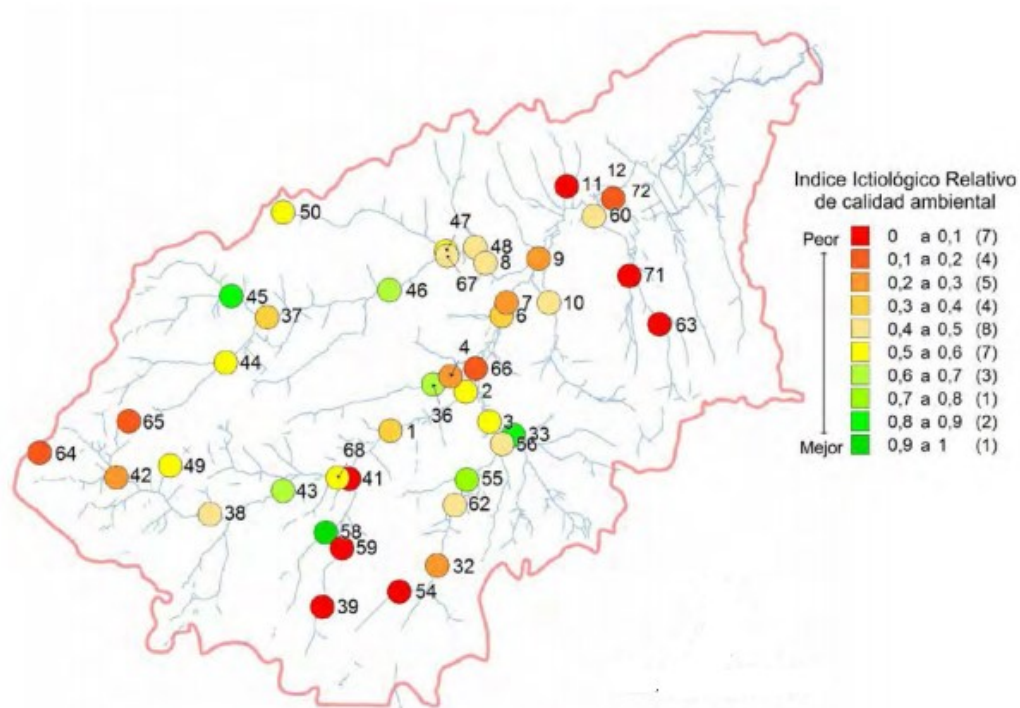


Figura 7-10. Valores del índice Ictiológico Relativo (IIA) de calidad ambiental para los sitios de muestreo relevados en otoño y primavera de 2015 en la cuenca Matanza Riachuelo. Valores cercanos a 1 indican una mejor condición ambiental (tomado de Colautti *et al.*, 2015)

La información provista por los métodos ecológicos fue enriquecida con la ofrecida por los métodos morfológicos, como las alteraciones de la forma, patrones de estriación, contenido citoplasmático (cloroplastos fragmentados, deformados o despigmentados) en diatomeas bentónicas (**Figura 7-11**), la cual provee información vinculada frecuentemente con la contaminación tóxica.

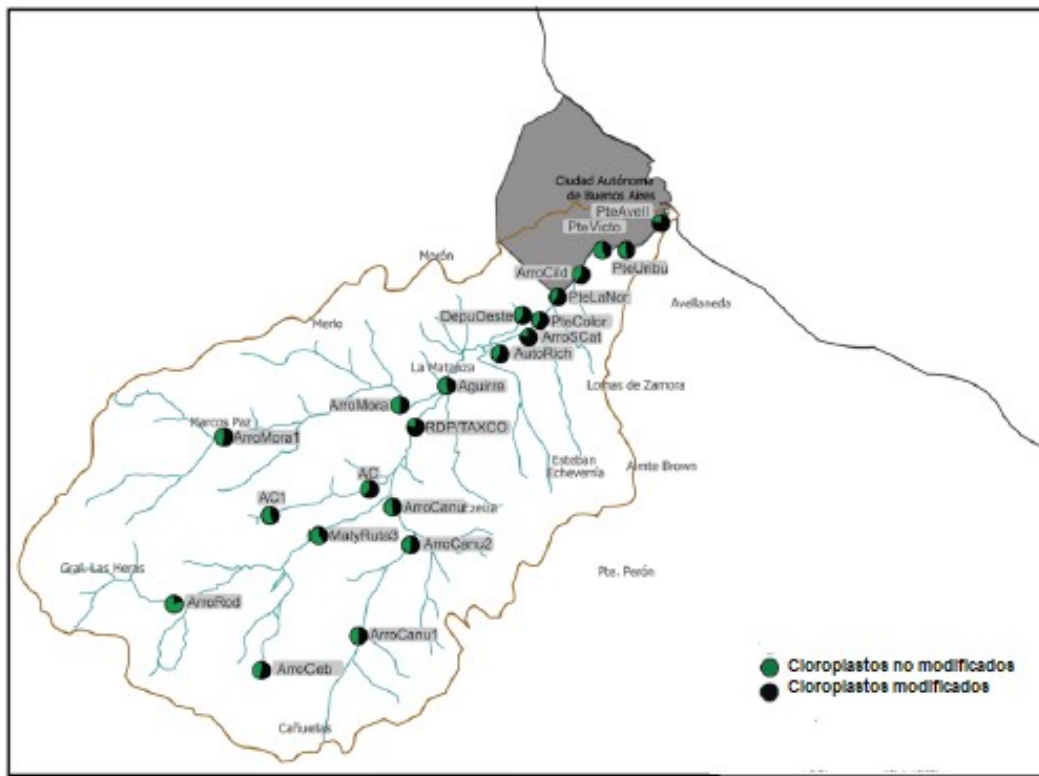


Figura 7-11. Relación porcentual de diatomeas bentónicas con cloroplastos normales y modificados hallados en la campaña de 2018 en la cuenca Matanza-Riachuelo (tomado de Gómez *et al.*, 2018).

Considerando la estrecha relación entre la disponibilidad de nutrientes y el desarrollo de estos microproductores en la columna de agua, se recurrió al análisis de la clorofila a como un biomonitor apropiado para evaluar la eutrofización en los distintos sectores de la cuenca. A modo de ejemplo en la **Figura 7-12** se muestra la distribución de la concentración de clorofila a durante una campaña de muestreo realizada en este curso de agua.

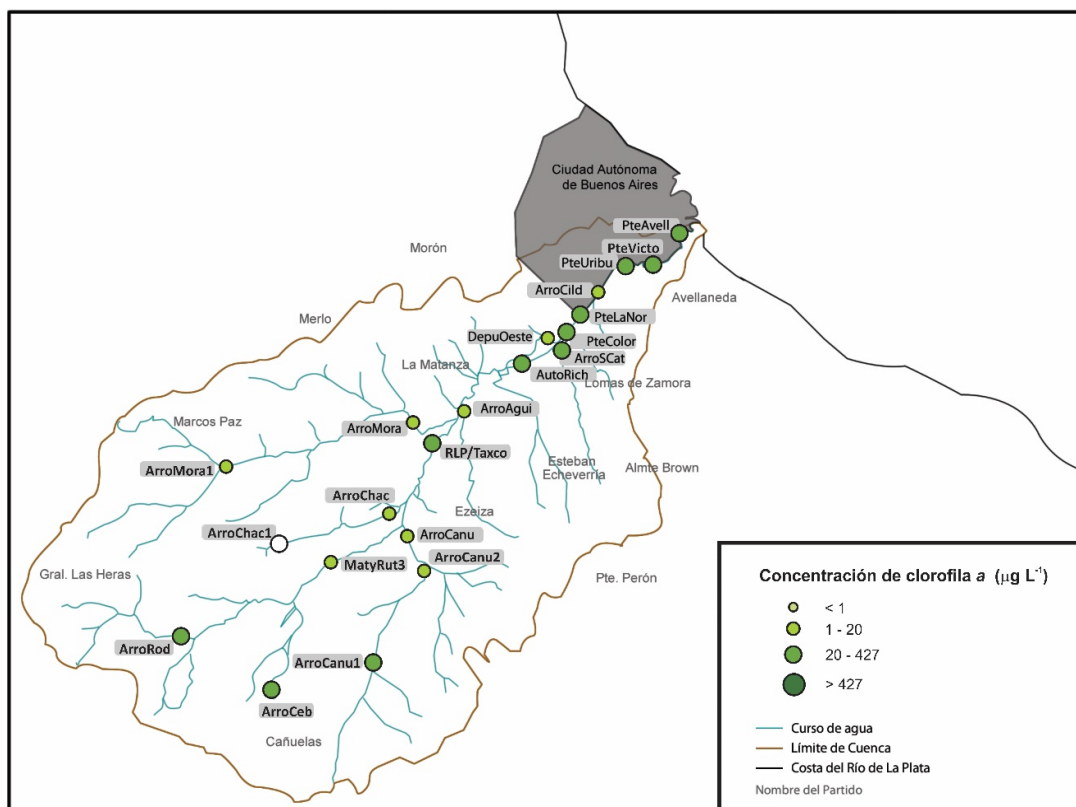


Figura 7-12. Distribución de la clorofila *a* en la cuenca Matanza-Riachuelo durante el muestreo de marzo de 2018, indicando distintos niveles de eutrofización (<1 oligotrófico; > 427 hipereutrofico) (tomado de Gómez *et al.*, 2018).

Para completar el diagnóstico ambiental se emplea el índice de calidad del hábitat de arroyos urbanos USHI (Cochero *et al.*, 2016), el cual incluye características del del lecho, las márgenes, la cobertura y la presencia de distintos hábitos de vida de plantas acuáticas, la presencia de indicadores de contaminación, el grado de conectividad y la naturalidad de los tramos analizados. Este índice, que fluctúa entre 0 (muy mala calidad del hábitat) y 10 (muy buena calidad del hábitat), revela que los valores más bajos (<5) se localizan principalmente en sitios de la cuenca media y baja (Gómez *et al.*, 2018).

De acuerdo a la integración de la información proveniente de los distintos biomonitorios empleados y de indicadores del hábitat es posible reconocer que el cauce principal, desde la cuenca media a la desembocadura, ofrece condiciones que comprometen la vida de la biota, situación que se repite en algunos tributarios de la cuenca alta, con marcados procesos de eutrofización y enriquecimiento con MO.

La integración de la información proveniente de distintos ensambles de organismos empleados en el diagnóstico de este sistema fluvial (algas, macroinvertebrados, peces), con distintos tiempos generacionales (días-meses-años), distintas escalas de bioindicación espacial (tramo-sección-subcuencas) y distintos niveles de observación (métodos ecológicos, morfológicos, organismo, ensambles, etc.) permite, conjuntamente con la valoración del hábitat fluvial, la identificación de las zonas de la cuenca más amenazadas en su integridad ecológica. Esta información facilita al organismo de gestión (ACUMAR) la toma de decisiones para ajustar o implementar nuevas acciones que conducen a mejorar la rehabilitación de este ecosistema.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer a todos los colegas, amigos y “socios” de numerosos campos de estudio en todo el mundo por sus discusiones críticas e intensas sobre nuestro tema en común (bioindicación y biomonitoreo). Muchas de sus ideas han influenciado este capítulo de revisión.

REFERENCIAS

- ACUMAR (2018)** Autoridad de la Cuenca Matanza - Riachuelo. <http://www.acumar.gob.ar>
- Adams, S.M., J.P. Giesy, L.A. Tremblay, C.T. Eason (2001)** The use of biomarkers in ecological risk assessment: recommendations from the Christchurch Conference on Biomarkers in Ecotoxicology. *Biomarkers* **6** (1), 1-6.
- Bargagli, R., F. Monaci, F. Borghini, F. Bravi, C. Agnorelli (2002)** Mosses and lichens as biomonitors of trace metals. A comparison study on *Hypnum cupressiforme* and *Parmelia caperata* in a former mining district in Italy. *Environmental Pollution* **116**, 279-287.
- Chojnacka, K. (2010)** Biosorption and bioaccumulation – the prospects for practical applications. *Environmental International* **36**, 299-307.
- Cochero J., Cortelezzi A., Tarda A.S., Gómez N. (2016)** An index to evaluate the fluvial habitat degradation in lowland urban stream. *Ecological Indicators* **71**: 134-144.
- Colautti D, Brancolini F., García I., García de Souza J., Jensen R., Maiztegui T., Maroñas M, Paracampo A., Paredes del Puerto J. M., Protogino L., Sendra, E. (2015)** Monitoreo de la Ictiofauna en cursos de agua superficial de la cuenca hidrográfica Matanza-Riachuelo. ACUMAR - CEC Nro. 4 – PECES, 96 p.
- Egorova, K.S., V.P. Ananikov (2017)** Toxicity of metal compounds: knowledge and myths. *Organometallics* **36** (21), 4071-4090.

- Fawzy, M.A., N.E.S. Badr, A. El-Khatib, A. Abo-El-Kassem (2012)** Heavy metal biomonitoring and phytoremediation potentialities of aquatic macrophytes in River Nile. *Environmental monitoring and Assessment* **184** (3), 1753-1771.
- Figueiredo, A., C. Nogueira, B. Markert, H. Heidenreich, S. Fraenzle, G. Liepelt, M. Saiki, M. Domingos, F. Millian, U. Herpin (2007)**. The use of an epiphytic (*Tillandsia usneoides* L.) as bioindicator of heavy metal pollution in Sao Paulo, Brazil. In: *Highway and urban environment – Proceedings of the 8th Highway and Urban Symposium*, G. Morrison & S. Rauch (eds), Springer Sci. Publ., Dordrecht (The Netherlands), Ch.III-2, pp 249-257 (581 pp) ISBN 978-1-4020-6010-6
- Gobas, F.P.C., J.B. Wilcockson, R.W. Russell, G.D. Haffner (1999)** Mechanism of Biomagnification in Fish under Laboratory and Field Conditions. *Environmental Science & Technology* **33**, 133-141.
- Gómez N., Licursi M. (2001)** The Pampean Diatom Index (IDP) for assessment of rivers and streams in Argentina. *Aquatic Ecology* **35** (2):173-181.
- Gómez N., Rodrigues Capitulo A., Armendariz L., Altieri P., Ferreira A.C., Rodriguez M., Spaccesi F., Cortese B., Cocherio J., Sathicq, M.B., NicolosiGelis M. M., Pazos R., Tarda S. A., Jensen R. (2018)** Cuenca Matanza-Riachuelo: Programa de Monitoreo Integrado de Calidad de Agua Superficial y Sedimentos de la Cuenca Matanza-Riachuelo y Sistematización de la Información Generada, Aspectos Biológicos y del hábitat. ACUMAR, 73 pp.
- Hadad, H.R., M.A. Maine, M.M. Mufarrege, G.A. Di Luca, G.C. Sánchez, E. Nocetti (2021.a)** Macrophyte importance in contaminant treatment and biomonitoring. In: *Removal of Emerging Contaminants Through Microbial Processes*, M.P. Shah (ed), Springer Nature, Singapore. pp. 435-452 (535 pp). ISBN: 978-981-15-5900-6
- Hadad, H.R., M.A. Maine, M.M. Mufarrege, G.A. Di Luca, G.C. Sánchez, E. Nocetti (2021.b)** Plant metal accumulation in wetland systems. In: *Bioremediation for Environmental Sustainability*, V. Kumar, G. Saxena, M.P. Shah (eds), Elsevier, Amsterdam (The Netherlands). Ch.20, 445-465 (540 pp). ISBN: 978-0-12-820318-7
- Harguinteguy, C.A., R. Schreiber, M.L. Pignata (2013)** *Myriophyllum aquaticum* as a biomonitor of water heavy metal in putrelated to agricultural activities in the Xanaes River (Córdoba, Argentina). *Ecological indicators* **27**, 8-16.
- Hattori, L., D. Guerrero, J. Figueiredo, J. Brunet, J. Damásio (2008)** On the precision and accuracy of impact analysis techniques. In: *7th IEEE/ACIS International Conference on Computer and Information Science (ICIS 2008)*, Portland (Oregon, USA), pp. 513-518. IEEE Computer Society - International Association for Computer & Information (ACIS). ISBN-13 978-1-4244-3052-9
- INDEC (2010)** Instituto Nacional de Estadística y Censos. <https://www.indec.gob.ar/indec/web/Nivel4-Tema-2> : 41- 135.
- Justino, C.I., A.C. Duarte, T.A. Rocha-Santos (2017)** Recent progress in biosensors for environmental monitoring: a review. *Sensors* **17**(12), 2918-2943.
- Karube, Z.I., A. Tanaka, A. Takeuchi, Y. Takazawa, M. Takagi, A. Kinoshita, H. Seyama, Y. Shibata (2015)** Three decades of environmental specimen banking at the National Institute for Environmental Studies, Japan. *Environmental Science and Pollution Research* **22**(3), 1587-1596.
- Kelly, B.C., M.G. Ikonomou, J.D. Blair, A.E. Morin, F.P.C. Gobas (2007)** Food Web-Specific Biomagnification of Persistent Organic Pollutants. *Science* **317**, 236-239.
- Kholodkevich, S.V., A.V. Ivanov, A.S. Kurakin, E.L. Kornienko, V.P. Fedotov (2008)** Real time biomonitoring of surface water toxicity level at water supply stations. *Environmental Bioindicators* **3**(1), 23-34.
- King County (2018)** An Evaluation of Potential Impacts of Chemical Contaminants to Chinook Salmon in the Green-Duwamish Watershed. Prepared by Jenée Colton, *Water and Land Resources Division*. Seattle, Washington (USA) for the WRIA 9 Watershed Ecosystem Forum. 69 pp.

- Krüger, I., C. Chartin, B. van Wesemael, M.Carnol (2018)** Defining a reference system for biological indicators of agricultural soil quality in Wallonia, Belgium. *Ecological Indicators* **95**, 568-578.
- Lermen, D., T. Weber, T. Göen, M. Bartel-Steinbach, F. Gwinner, S.C. Mueller, A. Conrad, M. Rütther, H. Von Briesen, M.Kolossa-Gehring (2021)** Long-term time trend of lead exposure in young German adults -Evaluation of more than 35 years of data of the German Environmental Specimen Bank. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* **231**, 113665.
- Li, J., A.L. Lusher, J.M. Rotchell, S. Deudero, A. Turra, I.L.N. Bråte, C. Sun, M.S. Hossain, Q. Li, P. Kolandhasamy, H. Shi (2019)** Using mussel as a global bioindicator of coastal microplastic pollution. *Environmental Pollution* **244**, 522-533.
- Licursi M., Gómez N. (2004)** Aplicación de Índices bióticos en la evaluación de la calidad del agua en sistemas lóticos de la llanura pampeana a partir del empleo de diatomeas. *Biología Acuática* **21**: 31-49 (versión electrónica).
- Mackay, D., A.K. Celsie, D.E. Powell, J.M. Parnis (2018)** Bioconcentration, bioaccumulation, biomagnification and trophic magnification: a modelling perspective. *Environmental Science: Processes & Impacts* **20(1)**, 72-85.
- Marcovecchio, J.E.(2004)** The use of *Micropogonias furnieri* and *Mugil liza* as biological indicators of heavy metals pollution in La Plata River estuary (Argentina). *The Science of the Total Environment* **323 (1-3)**, 219-226.
- Marcovecchio, J.E., V.J. Moreno, A. Pérez (1988)** The sole, *Paralichthys sp.* as an indicator species of heavy metal pollution in the Bahía Blanca estuary, Argentina. *The Science of the Total Environment* **75**, 191-200.
- Marcovecchio, J.E., V.J. Moreno, A. Pérez (1991)** Heavy metals accumulation in tissues of sharks from the Bahía Blanca estuary, Argentina. *Marine Environmental Research* **31 (4)**, 263-274.
- Marcovecchio, J.E.(1994)** Trace metals residues in several tissues of two crustacean species from the Bahía Blanca estuary, in Argentina. *Environmental Monitoring & Assessment* **29**, 65-73.
- Marinho, C.H., E. Giarratano, M.N. Gil (2018)** Metal biomonitoring in a Patagonian saltmarsh. *Environmental monitoring and assessment* **190 (10)**, 1-14.
- Markert, B. (1994)** *Environmental sampling for trace analysis*, VCH Publ., Weinheim (Germany), 533 pp. ISBN 3-527-30051-1
- Markert, B. (1996)** *Instrumental Element and Multi-Element Analysis of Plant Samples*. Wiley-John Wiley & Sons, Chichester (UK), 296 pp. ISBN 0-04-719586-4
- Markert,B., A.M. Breure, H.G. Zechmeister (2003)** Definitions, Strategies and Principles for Bioindication / Biomonitoring of the Environment. *En: Bioindicators and Biomonitoring. Principles, Concepts and Applications*. B. Markert, A.M. Breure, H.G. Zechmeister (Eds.), Elsevier, Amsterdam (The Netherlands), Ch.I-1, 3-39 (1017 pp). ISBN: 0-08-044177-7
- Markert,B.(2007)** Definitions and principles for bioindication and biomonitoring of trace metals in the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **21**, 77-82.
- Markert,B., S. Wünschmann, S. Fränzle, O. Wappelhorst, V. Weckert, G. Breulmann, R. Djingova, U. Hrpín, H. Lieth, W. Schroeder, U. Siewers, E. Steiness, B. Wolterbeek, H. Zechmeister (2008)** On the road from environmental biomonitoring to human health aspects: Monitoring atmospheric heavy metal deposition by epiphytic/ epigeic plants: Present status and future needs. *International Journal for Environment and Pollution* **32**,486-498.
- Markert, B., S. Fränzle, S. Wünschmann (2015)** The Biological System of the Elements. In: Markert, B., S. Fränzle, S. Wünschmann (eds), *Chemical Evolution*, Springer Sci.Publ., Heidelberg (Germany), Ch. 2, 63-104 (295 pp). ISBN: 978-3-319-14355-2
- Markert, B., E-S. Kim, S. Fränzle, S. Wünschmann, M. Wang, R. Djingova, M.A. Urošević, S. Liu, J. Hillman, J-B. Diatta, S. Lahiri, I. Suchara, P. Szefer, G. Tabors, J. Rinklebe, S. Loppi, H. Harmens, P. Hooda, M. Waclawek, F. Tack, S. Gorelova, A.**

- Knox, J. Pacyna, E. Baydoun, M. Frontasyeva, A. Badran, A. Lux, S. De Marco, E. Meers, A. Kłos, J. Nriagu (2019)** Teaching green analytical chemistry on the example of bioindication and biomonitoring (B & B) technologies. In: *Green Analytical Chemistry: Past, Present and Perspectives*, J. Płotka-Wasyłka, J. Namieśnik (eds), Springer Nature, Singapore. Ch.2, 19-44 (460 pp). ISBN: 978-981-13-9105-7
- Markert B., N. Abdallah, A. Aksoy, T. Ammari, A.H. Arias, H. Azaizah, A. Badran, E. Baltrėnaitė, E. Baydoun, M. Broadley, N. Canha, E. Chudzinska, A. Covich, B. Delakowitz, J. Diatta, R. Djingova, O. El-Sheik, A. Fargasova, A.M. Figueiredo, S. Fränzle, M. Frontasyeva, Z. Ghafari, A. Golan, S. Gorelova, J. Grace, M. Greger, H. Harmens, J. Hillman, P. Hooda, R. Jayasekera, P. Kidd, E-S. Kim, S. Loppi, S. Lahiri, S. Liu, A. Lux, L. Ma, J.E. Marcovecchio, M. Mench, B. Michalke, M. Mowafaq, J. Namiesnik, J.O. Nriagu, M. Öztürk, J. Pacyna, S. Pehkonen, C. Poschenrieder, J. Rinklebe, B. Robinson, M. Saiki, P. Szefer, G. Tabors, F. Tack, S. Trapp, I. Suchara, J. Vangronsveld, M. Vasconcellos, M. Wang, M. Wacławek, B. Wolterbeek, S. Wünschmann, H. Zechmeister (2020)** Information gain in environmental monitoring through bioindicative respectively biomonitoring methods ("B & B technologies") and through phytoremediation processes – with special reference to the Biological System of Chemical Elements (BSCE) under specific consideration of Lithium. *Bioactive Compounds in Health and Disease* **3 (11)**, 214-250. DOI: 10.31989/bchd.v3i11.760
- Morris, A.D. (2015)** Current Use Organohalogen Contaminant Distributions in Seawater and Trophodynamics in Marine and Terrestrial Food Chains of the Canadian Arctic. *PhD Thesis*, University of Guelph, Guelph, Ontario (Canada), 450 pp.
- Müller P. (1974)** Beiträge der Biogeographie zur Geomedizin und Ökologie des Menschen. *Fortschritte der geomedizinischen Forschung, Geographische Zeitschrift, Beihefte*, 88-109.
- Müller P. (1980)** *Biogeographie*. UTB, Ulmer-Verlag, Stuttgart (Germany).
- Pignata, M.L., G. Gudifio, E. Wannaz, R. Pla, C. González, H. Carreras, L. Orellana (2002)** Atmospheric quality and distribution of heavy metals in Argentina employing *Tillandsia capillaries* as a biomonitor. *Environmental Pollution* **120**, 59-68.
- Polechońska, L., A. Klink (2021)** Validation of *Hydrocharis morsus-ranae* as a possible bioindicator of trace element pollution in freshwaters using *Ceratophyllum demersum* as a reference species. *Environmental Pollution* **269**, 116-145.
- Rodrigues Capítulo A., Gómez N. (2020)** Aplicación de indicadores biológicos en cursos de agua de la Ecoregión Pampa. En: *La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de la Argentina: bases para el análisis de la integridad ecológica*, E. Domínguez, A. Giorgi & N. Gómez (eds), 1ª ed., EUDEBA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
- Rodrigues Capítulo A., Tangorra M., Ocón C. (2001)** Use of benthic macroinvertebrates to assess the biologist status of pampean streams in Argentina. *Aquatic Ecology* **35**:109-119.
- Rodríguez-Mozaz, S., M.J.L. de Alda, M.P. Marco, D. Barceló (2005)** Biosensors for environmental monitoring: A global perspective. *Talanta* **65 (2)**, 291-297.
- Ronco, A.E., G. Castillo, M.C. Diaz-Baez (2000)** Development and application of microbioassays for routine testing and biomonitoring in Argentina, Chile and Colombia. In: *New Microbiotests for Routine Toxicity Screening and Biomonitoring*, G. Persoone, C. Janssen, W. De Coen (eds), Springer Sci. Publ., Boston (MA, USA). Ch.5, 49-61 (523 pp). ISBN: 978-1-4613-6924-0
- Roots, E.F. (1992)** Environmental Information - A step to knowledge and understanding. *Environmental Monitoring & Assessment* **50**, 87-94.
- Roots, E.F. (1996)** Environmental Information-Autobahn or maze? En: *Global monitoring of terrestrial ecosystem*, W. Schroeder, O. Fränzle, H. Keune, P. Mandry (eds), Ernst & Sohn GmbH, Berlin (Germany), 3-31 (294 pp). ISBN: 3-433-01533-3

- Rotter, S., F. Sans-Piché, G. Streck, R. Altenburger, M. Schmitt-Jansen (2011)** Active bio-monitoring of contamination in aquatic systems - An *in situ* translocation experiment applying the PICT concept. *Aquatic Toxicology* **101**(1), 228-236.
- Seaward, M. (2006)** Biomonitoring of environmental pollution: an appraisal of their effectiveness. *Ecological Chemistry and Engineering* **13** (3-4), 193-199.
- Stancheva, R., R.G. Sheath (2016)** Benthic soft-bodied algae as bioindicators of stream water quality. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* **417**, 15-31.
- Strimbu, K., J.A. Tavel (2010)** What are biomarkers?. *Current Opinion in HIV and AIDS* **5** (6), 463-466.
- Wang, M., B. Markert, W. Chen, C. Peng, Z. Ouyang (2012)** Identification of heavy metal pollutants using multivariate analysis and effects of land uses on their accumulation in urban soils in Beijing, China. *Environmental monitoring and assessment* **184** (10), 5889-5897.
- Wünschmann S., S. Fränze, B. Markert, H. Zechmeister (2008)** Input and transfer of trace metals from food via mothermilk to the child: Bioindicative aspects to human health. In: *Trace elements as contaminants and nutrients – Consequences in ecosystems and human health*, M.N.V. Prasad (Ed.), Wiley – John Wiley & Sons Publ., Hoboken (New Jersey, USA). Ch.22, 555-592 (789 pp). ISBN: 978-0-470-18095-2
- Zhao, C.M., P.G. Campbell, K.J. Wilkinson (2016)** When are metal complexes bioavailable?. *Environmental Chemistry* **13**(3), 425-433.
- Zhou, Q., J. Zhang, J. Fu, J. Shi, G. Jiang (2008)** Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica chimica acta* **606** (2), 135-150.