

**INNOTEC ISSN 1688-6593 [en línea]**

es una revista científica arbitrada editada por el Laboratorio Tecnológico del Uruguay.

## EQUIPO EDITORIAL

### Dirección

Dr. Jorge Silveira  
Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU), Uruguay

### Consejo editorial

Dra. Sofía Barrios  
Universidad de la República (UdelaR), Facultad de Ingeniería,  
Instituto de Ingeniería Química, Uruguay

### MBA. Ing Mariela De Giuda

Gerente de Tecnología y Gestión, Laboratorio Tecnológico  
del Uruguay (LATU), Uruguay

### Dr. Andrés Dieste

Universidad de la República (UdelaR), Facultad de  
Ingeniería, Instituto de Ingeniería Química, Uruguay

### Dr. Gustavo Domínguez

Gerente de Latitud - Fundación LATU, Uruguay

### Dra. Gabriela Eguren

Universidad de la República (UdelaR), Facultad de Ciencias,  
Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Uruguay

### PhD. Federico Harte

Profesor adjunto de Food Science, Penn State University,  
Estados Unidos

### MSc. Rosa Márquez

Latitud - Fundación LATU, Uruguay

### Dr. Eduardo Méndez

Universidad de la República (UdelaR), Facultad de Ciencias,  
Instituto de Química Biológica, Uruguay

### PhD. Laura Moya Silva

Universidad ORT Uruguay, Facultad de Arquitectura, Uruguay

### Dr. Daniel Vázquez

INIA La Estanzuela, Plataforma de Agroalimentos, Uruguay

### MSc. Daniel Volpe

Gerente de Análisis, Ensayo y Metrología, Laboratorio  
Tecnológico del Uruguay (LATU), Uruguay

## EDICIÓN

### Lic. Marina Barrientos

Edición revistas INNOTEC, Centro de Información Técnica,  
Laboratorio Tecnológico del Uruguay-LATU, Uruguay

## ACERCA DE INNOTEC

INNOTEC es una publicación arbitrada en modalidad doble ciego por un comité independiente de revisores externos a su entidad editora, el Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU). Editada en Montevideo, Uruguay, contiene artículos originales inéditos y su periodicidad es semestral (enero-junio y julio-diciembre).

El objetivo de la revista es la divulgación y transferencia del conocimiento en las áreas de Forestales, Medio Ambiente, Metrología y Tecnología Alimentaria. INNOTEC está dirigida a académicos, investigadores y técnicos de la comunidad científica uruguaya e internacional.

INNOTEC se encuentra indexada en las siguientes bases de datos: Latindex, Google Académico, Fuente Académica Premier de EBSCOhost y DOAJ.



La colección completa se puede consultar en línea en <http://ojs.latu.org.uy/index.php/INNOTEC/index>

Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional.

Los conceptos y opiniones vertidas en los artículos aquí publicados, así como el uso que otros puedan hacer de ellos, son de responsabilidad exclusiva de los autores y no reflejan el punto de vista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay.

## INNOTEC - NÚMERO 18

### Julio-diciembre de 2019

ISSN electrónico: 1688-6593

Título clave: INNOTEC (En línea)

Título clave abreviado: Innotec (En línea)

Centro de Información Técnica, LATU

Av. Italia 6201. Tel. (598) 2601 3724,

internos 1314 y 1350

[ditec@latu.org.uy](mailto:ditec@latu.org.uy)

<http://www.latu.org.uy>

<http://ojs.latu.org.uy>

## Administración de OJS y gestión de información

Lic. Lorena Fiori,

Centro de Información Técnica. Laboratorio

Tecnológico del Uruguay-LATU, Uruguay

## DISEÑO Y ARMADO

Manosanta Desarrollo Editorial

[contacto.manosanta@gmail.com](mailto:contacto.manosanta@gmail.com)

<http://manosanta.com.uy>

# SUMARIO

---

## Artículos

### AGUAS

- 10 Calidad de agua de los tributarios de la Laguna del Sauce, Maldonado, Uruguay, en base al Índice Diatomológico Pampeano (IDP)**  
Water quality of the tributaries of the Sauce Lagoon, Maldonado-Uruguay, based on the Pampean Diatom Index (PDI)  
Ferrari, Graciela; Kröger, Alejandra; Torrendell, María
- 36 Floración excepcional de cianobacterias tóxicas en la costa de Uruguay, verano 2019**  
Exceptional bloom of toxic cyanobacteria on the Uruguayan coast, summer 2019  
Kruk, Carla; Martínez, Ana; Martínez de la Escalera, Gabriela; Trinchin, Romina; Manta, Gastón; Segura, Angel M.; Piccini, Claudia; Brena, Beatriz; Fabiano, Graciela; Pirez, Macarena; Gabito, Lourdes; Alcántara, Ignacio; Yannicelli, Beatriz
- 69 Estudio preliminar de ecotoxicidad y contaminación no puntual por nitrógeno y fósforo en cursos de agua superficial cercanos a feedlots**  
Preliminary study of Ecotoxicity and non-point source pollution by nitrogen and phosphorus in watercourses in the vicinity of feedlots  
Míguez, Diana; Baruch, Daniel; Suárez, Gonzalo.
- 88 Variación en pequeña escala de la estructura horizontal y vertical de comunidades macrobentónicas en una laguna costera del Atlántico Sudoccidental**  
Small-scale variation of the horizontal and vertical structure of macrobenthic communities in a coastal lagoon of the southwestern Atlantic  
Pereira, Jennifer; Rodríguez, Matilde; Santos, Sofia; Kandratavicius, Noelia; Bueno, Carolina; Rodríguez, Marcel; Pérez, Laura; Tudurí, Adriana; Venturini, Natalia; Brugnoli, Ernesto; Muniz, Pablo

### HIDROGEOLOGÍA

- 111 Evaluación del impacto de nuevas perforaciones en el Sistema Acuífero Guaraní sobre el conjunto de pozos operando en las ciudades de Concordia y Salto**  
Impact evaluation of new drillings in the Guaraní Aquifer System on the set of operating wells in the cities of Concordia and Salto  
Banega, Pablo Rafael; Gamazo, Pablo; Ramos, Julián Andrés; Erasun, Vanessa; Sapriza, Gonzalo; Bessone, Lucas.

### BIOLOGÍA MARINA

- 124 Herramientas para el mantenimiento de la almeja amarilla *Mesodesma mactroides* en condiciones experimentales de cautiverio**  
Tools for handling the Yellow clam *Mesodesma mactroides* under experimental captivity conditions  
Proverbio, Carlos; Carnevia, Daniel; Jorge-Romero, Gabriela; Lercari, Diego

### QUÍMICA ANALÍTICA

- 142 Desarrollo y optimización de una metodología para la determinación de metales y semimetales en cabello**  
Development and optimization of a methodology to determinate metals and semimetals in hair  
Iaquinta, Fiorella; Álvarez, Cristina; Cousillas, Adriana; Mañay, Nelly

## POLÍTICA EDITORIAL DEL LATU

La actividad editorial del Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU) tiene como finalidad la difusión en la comunidad académica y profesional uruguaya de las investigaciones que apoyen el desarrollo de tecnologías y modelos de gestión que aporten valor a los procesos de innovación.

### Misión

Nuestra misión es la publicación de trabajos originales, con un enfoque de rigor y calidad teórica y metodológica, que contribuyan a la producción sistemática de nuevo conocimiento científico tecnológico y al fortalecimiento de la presencia uruguaya en redes regionales e internacionales. Es de interés del LATU consolidar el campo de la documentación científica a nivel local mediante la creación e innovación de productos editoriales.

### Los objetivos específicos son:

- Promover la publicación de investigaciones de excelencia en las áreas de conocimiento estratégicas del LATU, alineadas a su misión como impulsor del desarrollo sustentable del país y su inserción internacional a través de la innovación.
- Posicionar a los autores, técnicos y colaboradores en las plataformas electrónicas internacionales, estimulando su participación en el marco de un proceso de edición arbitrado por especialistas.
- Contribuir al desarrollo y transferencia de tecnologías de innovación orientadas a la mejora de procesos industriales, empresariales y sociales.
- Aportar y divulgar conocimiento científico de calidad a los técnicos, académicos, investigadores y a la sociedad en su conjunto, tanto para la efectiva transmisión de las experiencias como para el crecimiento profesional.
- Facilitar el intercambio y la creación de nuevo conocimiento entre instituciones.

Invitamos a los autores interesados en publicar en INNOTEC a ingresar a nuestra página en la plataforma Open Journal Systems (<http://ojs.latu.org.uy>) o a contactarse con el Centro de Información Técnica del LATU a través del correo electrónico [ditec@latu.org.uy](mailto:ditec@latu.org.uy) para recibir instrucciones para el envío de artículos a nuestro proyecto editorial.

# CÓDIGO ÉTICO DE INNOTEC

La revista INNOTEC adhiere a los principios publicados por COPE (Committee on Publication Ethics) en <https://publicationethics.org/resources/code-conduct> y promueve así la conducta ética de todos los participantes del proceso editorial: autores, revisores y equipo editorial.

## Los autores se comprometen a:

- Enviar artículos originales, de su autoría y que no infrinjan derechos de propiedad intelectual y/o derecho de imagen y/o de datos personales de terceros, e inéditos, que no hayan sido presentados simultáneamente a otra publicación.
- Asegurar la veracidad de los datos presentados en su investigación.
- Asegurar la integridad de su investigación, evitando la publicación de resultados parciales.
- Consignar a los autores de acuerdo al nivel de responsabilidad intelectual que han tenido en la elaboración del artículo, en orden decreciente, sin que medien otros criterios jerárquicos.
- Designar un autor de correspondencia, que asume la responsabilidad de difundir entre todos los autores los avances y resultados del proceso editorial.
- Identificar debidamente las fuentes originales de los trabajos que cita en su artículo.
- Revisar los antecedentes de otras investigaciones del ámbito teórico inmediato de su trabajo para dar cuenta de la información más actualizada y relevante.
- Reconocer los apoyos académicos, financieros y logísticos que hicieron posible la investigación y/o la elaboración del artículo.

## Los revisores se comprometen a:

- Declarar que no existe conflictos de interés para la evaluación de un artículo.
- Realizar su evaluación respondiendo a criterios objetivos y respetando su independencia académica.
- Asegurar la confidencialidad tanto del contenido del artículo como del resultado de su evaluación.
- Preservar el anonimato en todo el proceso, apelando al editor como intermediario de cualquier comunicación con los autores.
- Respetar los tiempos acordados con los editores de la revista para la realización de su trabajo.

## El equipo editorial se compromete a:

- Asegurar la honestidad y transparencia de todo el proceso editorial, desde la presentación del artículo, evaluación por pares y publicación en las condiciones pautadas.
- Seleccionar los revisores idóneos para cada trabajo.
- Garantizar la independencia de criterio de los revisores en el ejercicio de su rol.
- Asegurar el anonimato de todas las partes involucradas en el proceso de arbitraje por pares.
- Mediar en posibles conflictos de interés con el apoyo del consejo editorial.
- Velar por el cumplimiento de los plazos acordados en cada fase del proceso.
- Difundir los números publicados en las redes académicas y bases bibliográficas de su entorno local y regional.
- Controlar el cumplimiento de los requisitos por parte de los autores y la actuación acorde de los árbitros.
- Identificar casos de incumplimiento de los compromisos éticos enumerados en este código y penalizar a sus responsables con sanciones que van de la suspensión del infractor en su rol en el proceso editorial a la difusión de una rectificación pública y la remoción del artículo.

# INSTRUCCIONES A LOS AUTORES PARA PUBLICAR EN INNOTEC

## Ámbito de los artículos y proceso de revisión

INNOTEC publica artículos originales inéditos en español e inglés. Los campos temáticos que aborda responden a las áreas estratégicas de investigación del LATU: Forestales, Medio Ambiente, Metrología y Tecnología Alimentaria.

Esta publicación semestral arbitrada por un comité de revisores externos, recopila las investigaciones realizadas en el marco de distintos proyectos y procesos de transferencia de conocimiento para el desarrollo de sistemas innovadores, productivos y de investigación.

Las publicaciones editadas por el Centro de Información Técnica son gestionadas en Open Journal Systems, software para la gestión del proceso editorial, desarrollado, soportado y libremente distribuido por el Public Knowledge Project bajo licencia pública general GNU.

INNOTEC no cobra cargos de ningún tipo por el envío de originales ni por su procesamiento. El tiempo estimado para los procesos de evaluación y publicación es de 8 a 12 semanas.

El proceso de envío de artículos para la revista incluye los siguientes pasos:

- (a) Ingreso por parte del autor del artículo completo en el sistema utilizado por el Centro de Información Técnica para la edición de sus publicaciones en la web: <http://ojs.latu.org.uy>.
- (b) Por medio del sistema se notifica al autor la recepción del artículo y su eventual publicación. En este paso se considera la originalidad del trabajo y se priorizan aquellos de áreas estratégicas y temáticas nacionales.
- (c) Una vez aprobado por el Consejo editorial de la revista, el artículo es enviado a proceso de arbitraje.
- (d) Se asignan los árbitros, independientes y externos, quienes evaluarán el desarrollo específico del manuscrito, tanto en sus aspectos temáticos como metodológicos.
- (e) Devuelto el informe de arbitraje, el editor se comunica con el/los autor/es en respuesta de los comentarios que hace el evaluador del artículo. En caso de ser necesario habrá otras rondas de evaluación.
- (f) Se edita el artículo aplicando en el texto las normas del Manual de estilo del LATU y se envía la última versión diseñada al/los autor/es para su aprobación final.

Para poder incluir artículos completos, se debe considerar que estos no tengan derechos de autor otorgados a terceros a la fecha de envío y que no se hayan presentado a otras publicaciones simultáneamente. Los artículos son publicados en OJS y se distribuyen bajo la modalidad de acceso abierto. Los derechos autorales son protegidos por Creative Commons (CC) Atribución-NoComercial 4.0 Unported. Al ingresar al sistema <http://ojs.latu.org.uy> los autores deberán aceptar la nota de copyright en la que se asumen los términos de responsabilidad, se reconoce la licencia CC y se establece el compromiso a realizar la cita completa de la edición institucional de esta primera publicación del artículo en sus siguientes publicaciones –completas o parciales– efectuadas en cualquier otro medio de divulgación, impreso o electrónico.

Los autores están autorizados a realizar una publicación simultánea en sistemas de autoarchivo o repositorios institucionales.

Los conceptos y opiniones vertidos en los artículos publicados y el uso que otros puedan hacer de ellos son de responsabilidad de sus autores. Esta responsabilidad se asume con la sola publicación del artículo enviado. El LATU se reserva el derecho de publicar aquellos artículos que responden a las áreas estratégicas fijadas por la organización para cada edición y de realizar modificaciones que considere favorables a la óptima presentación de los contenidos en la revista.

## PROCESO DE REVISIÓN

El arbitraje de esta revista se realiza por pares y bajo modalidad doble ciego, por lo que autores y árbitros permanecen anónimos a lo largo de todo el proceso. El arbitraje es el proceso de evaluación crítica especializada de un manuscrito por parte de pares idóneos que operan en el área temática que dicho texto desarrolla. Cada artículo es revisado por un mínimo de dos árbitros. Los comentarios y recomendaciones de los evaluadores son un insumo determinante para la aceptación o rechazo de un manuscrito en el proceso editorial de publicaciones técnicas del LATU, no obstante el equipo editor es responsable de la decisión final de publicación o rechazo de un artículo y de la notificación al autor de contacto.

El comité técnico de arbitraje de INNOTEC es un cuerpo de especialistas técnicos seleccionados por su grado de especialización, prestigio académico y experiencia profesional y editorial. Nuestros árbitros cumplen la vital función de evaluar el desarrollo específico del contenido de las publicaciones, tanto en sus aspectos temáticos como metodológicos, guiados por un formulario de revisión que una vez completo es presentado a los autores del artículo.

Los autores cuentan con un plazo de siete días para la devolución del artículo corregido según las recomendaciones de los árbitros.

#### **NORMAS DE PRESENTACIÓN Y ENVÍO DE LOS TEXTOS**

Para que el artículo sea considerado para su publicación, debe cumplir con las siguientes normas de presentación. Ante cualquier consulta diríjase al correo electrónico de referencia [ditec@latu.org.uy](mailto:ditec@latu.org.uy).

Para el correcto envío de su artículo, siga las instrucciones que se indican en OJS. Recuerde completar todos los datos del artículo, entre ellos: título, autores, filiación, resumen y palabras clave.

Nota: Los nombres completos de los autores deberán ser incluidos en los metadatos en la forma en la que se solicitan en OJS pero omitidos en el documento Word del artículo, primera medida para asegurar la integridad de la revisión ciega.

#### **DEFINICIONES:**

**Autor.** Persona o colectividad responsable del contenido intelectual del documento.

**Título.** Refleja el contenido del texto con precisión, es neutro e informativo.

**Resumen.** Provee información específica. Sintetiza, anuncia y jerarquiza contenidos.

**Introducción.** Incluye antecedentes concretos y datos del proceso, enumeración de objetivos e importancia del tema.

**Materiales y métodos.** Relato de los métodos y procedimientos que permitieron obtener los resultados presentados. Obtención del material, condiciones y metodología. Análisis estadísticos, programas.

**Resultados.** Presentación y expresión de los hallazgos en tablas, gráficos y/o figuras.

**Discusión y conclusiones.** Síntesis de los avances y las contribuciones más relevantes de la investigación. En esta sección se discuten los resultados en el orden en el que fueron presentados. Asimismo, se define y diferencia claramente el aporte del trabajo en relación al conocimiento previo. Si procede, se mencionan posibles líneas futuras de investigación y de aplicación de los resultados.

**Reconocimientos.** Breve agradecimiento a quienes colaboraron en la producción del artículo y/o que permitieron el desarrollo de la investigación.

**Referencias.** Referencias al material bibliográfico consultado para la elaboración del artículo.

#### **LOS ARTÍCULOS DEBEN PRESENTAR:**

**Título del artículo** en mayúsculas y minúsculas, en inglés y español.

**Nombre completo de todos los autores** (solo en metadatos de OJS), ingresados en orden decreciente según el grado de responsabilidad en el desarrollo del artículo, sin que medien jerarquías funcionales. Indicar la sección o departamento al que pertenecen y empresa de la que forman parte. Se debe señalar además el autor de contacto para las comunicaciones electrónicas subsiguientes. Los autores deberán contar con un número de registro en ORCID, que se consigna en OJS al ingresar los autores en metadatos. Para más información sobre ORCID y su relevancia para los autores puede consultar esta página: <https://orcid.org/>.

**Resumen en inglés y español**, de 200 palabras máximo en su versión castellana.

**Palabras clave**, de dos a cinco, las cuales no deben repetir los términos ya utilizados en el título.

**Texto** de tres (3) a veinticinco (25) páginas de desarrollo (introducción, métodos, descripción de equipos, descripción de programas, desarrollo de teorías, resultados y discusión, conclusiones, referencias, tablas, figuras, gráficos e imágenes, (ver sección Estilo y formato de citas y referencias en este documento). El texto deberá ser presentado en fuente Arial 11, a espacio doble y con numeración de líneas, con títulos en mayúsculas y minúsculas y en formato .doc, de cualquier versión de Microsoft Word.

**Secciones.** Los títulos de sección (que señalan Introducción, Materiales y Métodos, Discusión, etc.) deben ser escritos en mayúscula y minúsculas, estilo de fuente bold y centrados en el texto. Los

subtítulos serán justificados a la izquierda, escritos en mayúscula y minúsculas, también en bold. Tanto la primera letra del título y la primera letra de los nombres propios deben ser escritas en mayúscula. Se debe dejar un espacio entre líneas antes y después de cada subtítulo.

**Fórmulas, figuras, tablas y gráficos.** Las figuras deben numerarse correlativamente en orden de aparición en el texto, y deben incluir un breve título explicativo en el margen inferior. Si es necesario incluir fotos o imágenes, estas se deben designar como figuras, deben ser nítidas y enviadas en formato jpg (mínimo 300 px aseguran una buena calidad de visualización). Las tablas deben ser numeradas correlativamente y en forma independiente de las figuras, y cada entrada debe ocupar su propia celda. Las tablas se numeran según el orden de aparición en el texto, y su título explicativo debe ubicarse en el margen inferior. Evite utilizar líneas verticales, incluir más de dos tablas por carilla y dividir tablas en más de un folio o en forma perpendicular al texto. Recuerde que el texto presenta las tablas, no desarrolla su contenido, estas deben explicarse en sí mismas.

Los gráficos deben ser enviados en formato xls o doc, con los datos editables, para su eventual utilización en la etapa de diseño. No se consideran válidos los gráficos enviados en formato jpg, salvo en los casos en los que hayan sido creados en programas que no habilitan la exportación a Excel.

Además de estar insertadas en el artículo, cada figura, gráfico y tabla debe ser remitida en su propio archivo como fichero complementario en OJS, con la referencia numérica correspondiente. Los números y símbolos empleados no deben ser menores al tamaño usado en el resto del texto (Arial 11).

Evite las notas al pie en el desarrollo del artículo.

Denominaciones en latín: deben ir en cursiva.

#### **ESTILO DE CITAS Y REFERENCIAS SEGÚN EL SISTEMA HARVARD**

Si el texto está en inglés utilizar «and» en lugar de «y», «In:» en lugar de «En:», «[Accessed: day month year]» en lugar de «[Consulta: día mes año]» y «Available at:» en lugar de «Disponible en:»

#### **Ejemplos usuales de citas**

*Registro de citas textuales*

(López, 1985, p.93)

(González y Rubio, 1990, pp.110-111)

(Johnson, et al., 1970, pp.25-26)

*Para más de una obra del mismo autor y año en citas textuales*

(Alonso, 1988a, p.126-128)

(Alonso, 1988b, p.84)

*Registro de cita ideológica o paráfrasis*

Amor (2000) analiza los motivos para comenzar un negocio en línea...

Si el motivo para comenzar un negocio en línea es sólo para imitar a la competencia, se puede considerar que dicha razón no es la estrategia adecuada (Amor, 2000).

(Pérez y González, 2005)

(Rodríguez, et al., 2011).

(Pérez, 2014a)

(Pérez, 2014b)

#### **EJEMPLOS USUALES DE REFERENCIAS MONOGRAFÍAS (LIBROS)**

Apellidos(s), Nombre o Inicial, año de edición. Título del libro en cursiva. N<sup>o</sup> de edición. Lugar de edición: editorial.

(Serie; N<sup>o</sup>). ISBN (Este último si se posee)

Bobbio, Norberto, 1958. Autobiografía. Madrid: Taurus. ISBN: 84-306-0267-4.

Newman, R., Walter, C., 2008. Barley for food and health: science, technology, and products. Nueva York: John Wiley & Sons

#### **REVISTAS COMO UN TODO**

Título de la publicación en cursiva. Responsabilidad. Edición. Identificación del fascículo. Lugar de edición: editorial, fecha del primer volumen-fecha del último volumen. ISSN

Boletín Económico. Banco de España. 1998, (1). Madrid: Banco de España, Servicio de Publicaciones, 1979- . ISSN: 0210-3737

#### **ARTÍCULOS DE REVISTAS**

Apellido(s), Nombre o Inicial, año. Título del artículo. En: Título de la publicación seriada, Volumen(Número), páginas.

Llosa, J., Smith, M., Moore, A. y Cave, K., 1998. Modulo scheduling with reduced register pressure. En: IEEE Transactions on computers, 47(6), pp.625-638.

Álvarez, Begoña, Ballina, F. Javier de la y Vázquez, Rodolfo, 2000. La reacción del consumidor ante las promociones. En: MK Marketing + Ventas, (143), pp.33-37.

#### **NORMAS**

Entidad responsable de la norma (País de la entidad), año de publicación. No. o código de la norma: Título. Lugar de publicación: editorial abreviada.

Asociación Española de Normalización y Certificación (España), 2010. UNE 166000 EX, UNE 166001 EX, UNE 166002 EX: Gestión de la I+D+I. Madrid: AENOR.

Instituto Uruguayo de Normas Técnicas (Uruguay), 2000. UNIT-ISO 9001: Sistemas de gestión de calidad - requisitos. Montevideo: UNIT.

#### **TEXTOS ELECTRÓNICOS, BASES DE DATOS Y PROGRAMAS INFORMÁTICOS**

Responsabilidad principal, año. Título [tipo de soporte]. Edición. Lugar de publicación: editor, [fecha de consulta]. Descripción física. (Colección). Notas. Disponibilidad y acceso. Número normalizado

Rapp, A. O., Augusta, U. y Peek, R. D., 2001 Facts and ideas of testing wood durability above ground [En línea]. Hamburgo: BFH. [Consulta: 25 de setiembre de 2008]. Disponible en:

<http://www.bfah.de/inst4/43/pdf/3doublay.pdf>

#### **PATENTES**

Mención de responsabilidad principal, Año de publicación del documento. Denominación del elemento patentado. Identificador del documento (país u oficina que lo registra). Clase internacional de documento de patente. Número.

Green, Daniel R., 2008. Cereal flake with topical pieces. United State Patent. 0101. D572,427.

Crosa, M. J., Harispe, R., Repiso, L., Silvera, C. y Wurtz, P., 2009. Sistema que acelera el ingreso de solutos en alimentos porosos. Uruguay. Dirección Nacional de la Propiedad Industrial. 31620.

# Calidad de agua de los tributarios de la Laguna del Sauce, Maldonado, Uruguay, en base al Índice Diatomológico Pampeano (IDP)

## Water quality of the tributaries of the Sauce Lagoon, Maldonado-Uruguay, based on the Pampean Diatom Index (PDI)

Recibido: 22/4/2019 → Aprobado: 29/5/2019 ✉ [gferrari@latu.org.uy](mailto:gferrari@latu.org.uy)

✉ FERRARI, GRACIELA (1); KRÖGER, ALEJANDRA (1); TORRENDELL, MARÍA (2)

(1) DEPARTAMENTO DE CALIDAD DE AGUA Y EVALUACIÓN AMBIENTAL, LATU, MONTEVIDEO, URUGUAY.

(2) DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, LATU, MONTEVIDEO, URUGUAY.

---

### RESUMEN

Se aplica por primera vez en Uruguay un bioindicador bentónico en monitoreos de calidad de agua en arroyos utilizando a las diatomeas. Estas microalgas son el grupo más diverso y suelen constituir el 80-90% del perifiton. Son reconocidas en todo el mundo por su valor como indicadoras de eutrofización y polución orgánica, ya que responden rápidamente a los cambios ambientales y proveen de información sobre la integridad biótica de los ecosistemas acuáticos. En virtud de estas características se han desarrollado índices de calidad de agua con base en la presencia de determinadas especies en un sitio. El objetivo del trabajo fue determinar la calidad del agua que presentaban los afluentes de la cuenca de la Laguna del Sauce (Maldonado, Uruguay) en base a la aplicación del Índice Diatomológico Pampeano (IDP). Para ello se analizó el perifiton en 11 sitios de cinco tributarios del Sistema Laguna del Sauce cada dos meses, desde julio de 2015 a diciembre de 2016. De las 238 especies determinadas, 44 tuvieron una abundancia relativa mayor del 4%, y de 26 se contaba con el valor indicador para el Índice Pampeano de Diatomeas (Idpi). Según el análisis de correspondencia, las especies se ordenaron en función de su relación con el nitrógeno total, el fósforo total y el fosfato. Se observó que los tributarios presentaron mala calidad del agua y que hacia la salida de la Laguna, en Represa y arroyo Potrero, la calidad fue aceptable. Los programas de monitoreo de calidad de agua podrían complementarse con la incorporación de esta herramienta y sería de gran utilidad en el asesoramiento del estado trófico de los cuerpos de aguas lóxicos.

**PALABRAS CLAVE:** diatomeas perifíticas, eutrofización, bioindicador.

## ABSTRACT

A benthic bioindicator is applied for the first time in water quality monitoring in streams in Uruguay using diatoms. These microalgae are the most diverse group and usually constitute 80-90% of periphyton. They are recognized throughout the world for their value as indicators of eutrophication and organic pollution because they respond quickly to environmental changes and provide information on the biotic integrity of aquatic ecosystems. Thanks to these characteristics, water quality indexes have been developed based on the presence of certain species in a site. The purpose of this work was to determine which water quality is present in the tributaries of the Sauce Lagoon basin (Maldonado, Uruguay) based on the application of the Pampean Diatom index (IDP). To achieve this, the periphyton in 11 sites of five tributaries of the Sauce Lagoon System was analyzed every two months from July 2015 to December 2016. Within the 238 species determined, 44 had a relative abundance greater than 4%, and of 26 of them, information on the indicator value for the Pampean Diatom Index (Idpi) was available. According to the correspondence analysis, the species were ordered by total nitrogen, total phosphorus and phosphate. The tributaries presented poor quality of water. However, towards the lagoon drain in Represa site and Potrero stream, water quality improved and was considered as acceptable. The water quality monitoring programs could be complemented with the incorporation of this tool and it would be very useful in the assessment of the trophic state of the lotic waters.

**KEYWORDS:** periphytic diatoms, eutrophication, biological indicators.

## INTRODUCCIÓN

La influencia del hombre en el medioambiente por el aumento de la densidad poblacional y la actividad industrial y agrícola impacta los ecosistemas acuáticos (Duarte, et al., 2006). El aumento progresivo del proceso de eutrofización a causa del enriquecimiento orgánico, fertilizantes y residuos de metales pesados y agroquímicos afecta la calidad de los cuerpos de agua, generando interferencias negativas en el suministro de agua potable y en los múltiples servicios ecosistémicos acuáticos (Carpenter, 2011). Con el fin de realizar evaluaciones ambientales, se han desarrollado métodos fisicoquímicos y biológicos que determinan el grado de impacto en los ecosistemas acuáticos (Unión Europea, 2000; Lobo y Callegaro, 2000; Springer, 2010). Para ello, se establecieron metodologías básicas para el establecimiento del estado ecológico de lagos y ríos y se realizaron los protocolos de muestreo y análisis de las comunidades biológicas a monitorear (Barbour, et al., 1999; Asociación Española de Normalización y Certificación, 2004; Cambra, et al., 2005; Confederación Hidrográfica del Ebro, 2007; Blanco, et al., 2010).

Los organismos indicadores más utilizados para el biomonitoreo son los organismos sésiles de un ecosistema. Por ello, los macroinvertebrados y las diatomeas bentónicas han sido las comunidades más estudiadas. Las comunidades de diatomeas responden rápidamente a los cambios ambientales y pueden proveer información sobre la integridad biótica de los ecosistemas acuáticos, definida como la capacidad que tiene un sistema

acuático para soportar y sostener una comunidad de organismos adaptada, integrada y equilibrada, teniendo una diversidad de especies comparable a la del hábitat natural de una región (Prygiel, et al., 1999; Prygiel y Coste, 2000; Li, et al., 2010).

Las diatomeas son un grupo de microalgas muy diverso y suelen constituir el 80-90% del perifiton o biofilm, es decir, del total de organismo que crece adherido en un sustrato fijo, ya sea una planta, piedra o arena, en un ecosistema acuático. Son reconocidas en todo el mundo por su valor como indicadoras de eutrofización y polución orgánica (Kelly y Whitton, 1995; Gómez y Licursi, 2001; Lobo, et al., 2004a; Lobo, et al., 2004b; Ector y Rimet, 2005). En virtud de estas características se han desarrollado, en distintas regiones del mundo, índices de calidad de agua basados en diatomeas, como el índice biológico de diatomeas (IBD) (Descy y Coste, 1991; Coste, et al., 2008), el índice de sensibilidad a la contaminación específica (ISP) (Cemagref, 1982), el índice sapróbico (SI) (Sládecék, 1986), el índice de diatomeas genérico (GDI) (Coste y Ayplassorho, 1991; Lenoir y Coste, 1996), el índice de asociación de diatomeas de la contaminación orgánica (DAIPO) (Watanabe, et al., 1986) y el índice trófico de diatomeas (Kelly y Whitton, 1995). Incluso se desarrolló un software, OMNIDIA, que genera un total de 18 índices diatomológicos (LeCointe, et al., 1993).

El Índice Biológico de Diatomeas (IBD) es un método de uso habitual en Francia para la vigilancia de la calidad de los cursos de agua. Este índice se basa en una lista de 209 especies clave con diferentes sensibilidades a diferentes tipos de contaminación (Coste, et al., 2008). Desde 1997 se ha demostrado que estos índices son una herramienta en la evaluación de las condiciones de los ríos (Hill, et al., 2000; Hill, et al., 2001). En Estados Unidos, la Agencia de Protección Ambiental (EPA por su sigla en inglés) estableció protocolos que utilizan a las especies de diatomeas pertenecientes al perifiton como bioindicadoras en los monitoreos ambientales (Barbour, et al., 1999).

Hay relativamente pocos antecedentes del uso de las diatomeas como indicadores de cambios en la calidad del agua en América del Sur, en comparación con América del Norte y Europa. En Argentina, Gómez y Licursi (2001) desarrollaron el Índice Diatomológico Pampeano (IDP) para evaluar la calidad del agua de los ríos y arroyos en la región pampeana de Argentina, sobre la base de la sensibilidad de las diatomeas epipélicas al enriquecimiento orgánico y la eutrofización (Licursi y Gómez, 2003). Por otra parte, la validación de estos índices ha permitido su empleo en otras áreas, como la cuenca del río Monjolinho, que atraviesa la ciudad de São Carlos, en el estado de São Paulo, Brasil (Bere y Tundisi, 2012), y en ríos subtropicales de Río Grande do Sul, Brasil (Lobo, et al., 2010). A pesar de que la taxonomía de las diatomeas uruguayas se conoce bien y existe un relevamiento taxonómico exhaustivo de diatomeas bentónicas realizado en sistemas acuáticos nacionales, que incluye ríos grandes (Río Uruguay), medianos, pequeñas cañadas y arroyos, lagos, lagunas y el estuario del Río de la Plata (Metzeltin, et al., 2005), no se han utilizado los índices diatomológicos para evaluar la calidad de agua en los sistemas lóticos de Uruguay.

Laguna del Sauce (Maldonado, Uruguay) es uno de los principales reservorios costeros que abastece de agua potable a más del 95% de la población fija y flotante del departamento de Maldonado. Este cuerpo de agua ha sido declarado como clase 1: aguas destinadas al abastecimiento de agua, según el Decreto 253/79 (Uruguay, 1979).

El sistema Laguna del Sauce presenta un grado de eutrofización elevado, evidenciado por la recurrencia y persistencia de floraciones de cianobacterias (Rodríguez, et al., 2010; Mazzeo, et al., 2010; González-Madina, 2017). Para mitigar la eutrofización se generó un plan de acción y medidas de control de la degradación ambiental (MVOTMA, 2015).

El objetivo de este trabajo fue aplicar el IDP en los afluentes de la cuenca de una fuente de agua potable como Laguna del Sauce, contemplando la necesidad de contar con bioindicadores de la calidad de agua que muestren de manera rápida e integrada el estado trófico de un sitio y que permitan visualizar las principales entradas de nutrientes al sistema. La aplicación del IDP permite, además, contribuir a dar seguimiento al plan de acción y a las medidas de control en la gestión de este recurso hídrico. Este índice determina cinco niveles en la calidad del agua de los afluentes, lo que redundará en la gestión y la toma de medidas para el control de los vertidos puntuales y difusos, así como también en la evaluación de los efectos de la eutrofización en el sistema. En este trabajo también se analizaron las variables ambientales con las cuales fue construido y desarrollado el IDP para dar una mayor interpretación y validar su aplicación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la Laguna del Sauce ( $34^{\circ} 43' S$ ,  $55^{\circ} 13' W$ ; Figura 1) y sus tributarios (departamento de Maldonado, Uruguay). El sistema Laguna del Sauce está integrado por tres cuerpos de agua someros conectados, Laguna del Potrero (441 ha), Laguna de los Cisnes (205 ha) y Laguna del Sauce (4050 ha), que forman en su totalidad un espejo de agua de 4.666 ha. Este sistema presenta una profundidad media de 2,5 m y máxima de 5 m (Mazzeo, et al., 2010).

Los principales tributarios que desembocan en Laguna del Sauce son el arroyo Pan de Azúcar, que nace en la Sierra de las Ánimas y atraviesa la ciudad de Pan de Azúcar recorriendo aproximadamente 22 km, y el arroyo Sauce, que nace en la Sierra Catedral y recorre aproximadamente 16 km. Otros tributarios son las cañadas Pedregosa y Mallorquina y los arroyos Salto de Agua y Enjoy (Figura 1). Al sur, la Laguna tiene un desagüe natural en el Río de la Plata constituido por el arroyo del Potrero (Rodríguez, et al., 2010).

Los 426 km<sup>2</sup> que comprenden la cuenca de Laguna del Sauce se distribuyen de la siguiente manera, según el uso del suelo: el 61,1% corresponde a ganadería sustentada en campo natural, el 11,1% a plantaciones forestales, el 9,6% a monte nativo, el 6% al espejo de agua de la laguna, el 5,1% a área agrícola, el 4,8% a suelos pobres, mientras que el 2,2% restante se distribuye en bañados y humedales, parques, centros poblados y área turística (Amorín y Larghero, 2017; Rodríguez, et al., 2010). Como se mencionó anteriormente, la Laguna del Sauce abastece a la gran mayoría de la población fija y flotante del departamento de Maldonado, constituyendo la segunda fuente de agua potable de Uruguay para un total de 140.000 habitantes, que aumentan a 400.000 en época estival (Méndez, et al., 2010).

Desde el punto de vista histórico, cabe mencionar algunos hechos clave que pueden ayudar a explicar el estado actual de la calidad del agua de Laguna del Sauce. En 1947 la laguna fue represada para mantener el nivel del agua con fines aeronáuticos, lo que aumentó el espejo de agua y el tiempo de residencia, incrementando las tasas de retención de nutrientes y disminuyendo las tasas de pérdidas de biomasa algal fuera del sistema (Rodríguez, et al., 2010). Además, aumentaron los aportes de nutrientes desde la cuenca de drenaje, producto de un mayor desarrollo agrícola-ganadero, urbano y turístico. En consecuencia, esto determinaría una elevada carga externa y reserva interna de nutrientes (principalmente asociada al sedimento) capaz de sostener el crecimiento excesivo de productores primarios (microalgas o plantas acuáticas). Las floraciones microalgales, y en particular de cianobacterias, presentan importantes inconvenientes, ya que la presencia de estos organismos supone riesgo sanitario por su capacidad de producir toxinas, lo cual puede provocar trastornos en el suministro de agua potable, así como en las actividades productivas y/o recreativas. Por este motivo, el manejo adecuado de este fenómeno es un factor crítico (Rodríguez, et al., 2010).

## COLECTA DE MUESTRAS

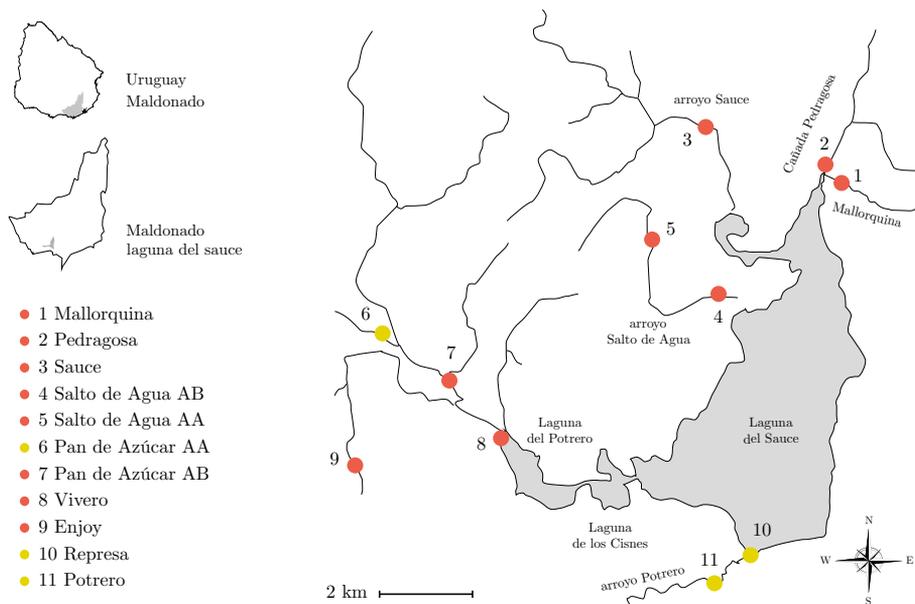
Los sitios de muestreo fueron seleccionados de acuerdo al monitoreo mensual de la red de tributarios que realiza la Unidad de Gestión Desconcentrada (OSE-UGD) en 11 sitios ubicados en afluentes de la laguna: (1) Mallorquina, (2) Pedregosa, (3) Sauce, (4) Salto de Agua AB, (5) Salto de Agua AA, (6) Pan de Azúcar AA, en puente de la Ruta 9, (7) Pan de Azúcar AB, (8) Vivero, (9) Enjoy (arroyo sin nombre oficial, pero tiene una propaganda del Hotel Enjoy), (10) Represa y (11) Potrero, que conecta con el Río de la Plata (Figura 1). Los muestreos se realizaron bimestralmente desde octubre de 2015 a setiembre de 2016 (octubre y diciembre en 2015 y febrero, abril y setiembre en 2016).

En cada sitio se tomaron medidas *in situ* con la sonda multiparámetro YSI 6920 V2, que incluye sensores de temperatura (°C), conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), oxígeno disuelto ( $\text{mg}/\text{l}$ ), pH y turbiedad (UNT). Las variables analizadas fueron las mismas que sirvieron para construir el IDP, realizadas en los trabajos de Gómez y Licursi (2001). Se tomaron muestras de agua en forma directa para análisis de nitrógeno total (NT) basado en ISO 11905-2 (International Organization for Standardization, 1997) y fósforo total (PT) según APHA 4500P (American Public Health Association, et al., 2017), QuikChem method 31-115-01-3-D (Lachat Instruments, 2007), y Clorofila *a* según ISO 10260 (International Organization for Standardization, 1992). En el muestreo de setiembre de 2016 se agregaron análisis de amonio ( $\text{NH}_4$ ), basados en APHA 4500  $\text{NH}_3$ -D (American Public Health Association, et al., 2017), demanda biológica de oxígeno (DBO), basado en ISO 5815-2 (International Organization for Standardization, 2003), demanda química de oxígeno (DQO), según ISO 15705 (International Organization for Standardization, 2002), nitritos, basado en ISO 10304-1 (International Organization for Standardization, 2007), y nitratos, según ISO 10304-1 (International Organization for Standardization, 2007), sólidos suspendidos totales, basado en APHA 2540 D (American Public Health Association,

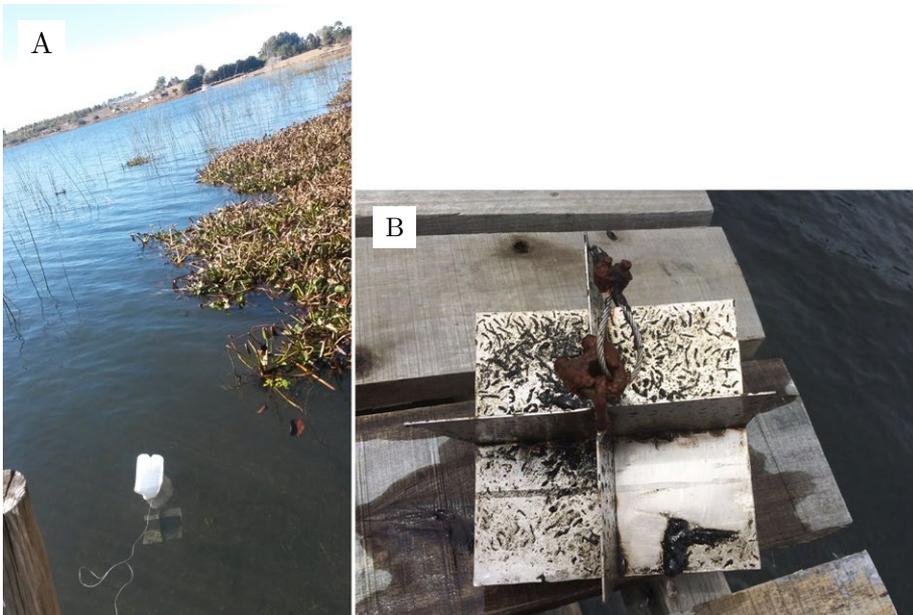
et al., 2017), y carbono orgánico total, según ISO 8245 (International Organization for Standardization, 1999). Los datos de fosfato fueron proporcionados por OSE-UGD para cada sitio y fecha de muestreo.

Las diatomeas epilíticas crecen unidas a rocas en la zona fótica de arroyo, por lo que el muestreo consistió en el raspado de rocas sumergidas hasta 20 cm de profundidad siguiendo la metodología sugerida por Kelly et al. (1998) y Nora Gómez (Comunicación personal), además de los protocolos de la comunidad europea (Asociación Española de Normalización y Certificación, 2004) y de la EPA (Barbour, et al., 1999). En cada sitio se obtuvo una muestra de perifiton raspando con un cepillo dental y utilizando un cuadrante de goma eva de 3×3 cm de unas 10 rocas elegidas al azar situadas en diferentes posibles microhábitats (con/sin vegetación, ambas riberas).

Las muestras para análisis taxonómico fueron obtenidas por duplicado; una réplica se transportó fresca y en oscuridad para ser procesada al otro día, y la otra fue fijada *in situ* con formol neutro al 4%. Para los análisis de clorofila del perifiton se extrajo otra muestra raspando una superficie de 9×9 cm que se filtró en campo. El filtro obtenido se congeló hasta su análisis en laboratorio. En los sitios donde no se encontraron rocas, tales como A<sup>0</sup> Mallorca, Pan de Azúcar AB y Vivero, se utilizaron sustratos artificiales de acero inoxidable construidos con 24 caras de 9x9 cm cada una, colocados en un muestreo previo, en julio de 2015 (Figura 2).



**Figura 1.** Sistema de lagunas de la cuenca de Laguna del Sauce: Laguna de Potrero, Laguna del Cisne y Laguna del Sauce. Localización de los sitios de muestreo: (1) Mallorca, (2) Pedregosa, (3) Sauce, (4) Salto de Agua AB, (5) Salto de Agua AA, (6) Pan de Azúcar AA, en un puente de la Ruta 9, (7) Pan de Azúcar AB, (8) Vivero, (9) Enjoy, (10) Represa y (11) Potrero. Índice de colores de acuerdo a calidad de agua inferida a partir del IDP (promedio de los cinco muestreos, ver Figura 6).



**Figura 2.** A) Sustrato puesto en la laguna y B) raspado de sustrato artificial.



**Figura 3.** 3.1: Pan de Azúcar (sitio 6- PA AA), 3.2: Pan de Azúcar (sitio 7-AB), 3.3: Salto de agua (sitio 4-AB), 3.4: Pedragosa, 3.5: Represa (setiembre 2016), 3.6: raspado de rocas. Análisis cualitativo y cuantitativo de las poblaciones de diatomeas

En el laboratorio las muestras se oxidaron con peróxido de hidrógeno al 30% siguiendo metodología sugerida por Battarbee (1986). Se transfirió 5 mL de cada muestra a un tubo de ensayo, se le agregó 5 mL de peróxido para tener una proporción 1:1, y se calentó en una placa calefactora durante 10 minutos o hasta observar el cambio de color del líquido. Luego se lavó con agua destilada mediante tres a cinco centrifugaciones sucesivas. Se preservó cada muestra con formaldehído al 4% y se realizaron preparados permanentes con la resina sintética Naphrax®. Para la identificación taxonómica se utilizó un microscopio óptico Olympus BX53, equipado con óptica DIC, que tiene incorporada una cámara Infnitive I con Image Pro Plus software para análisis de imagen. Las observaciones se realizaron bajo una magnificación de 1000x. Asimismo, se realizaron observaciones con un microscopio electrónico de barrido Zeiss Supra 40, del Centro de Microscopías Avanzadas de la Universidad de Buenos Aires. Para la identificación de las especies de diatomeas se utilizó bibliografía de referencia taxonómica como la colección de diatomeas de Europa (Krammer, 2000, 2002 y 2003; Lange-Bertalot, 2001 y 2011; Levkov, 2009, 2013 y 2016) y de Estados Unidos (EPA, [s.d.]), y regionales, como Sar et al. (2009) y Metzeltin et al. (2005), entre otros. Los análisis cuantitativos fueron realizados en los preparados permanentes y los conteos fluctuaron en el entorno de 400 valvas, número suficiente para obtener una buena representación de las especies que tienen al menos abundancia relativa superior al 5% (Licursi y Gómez, 2003).

## Análisis de datos

Para determinar el conjunto de variables ambientales que contribuyen a explicar la variabilidad de la abundancia de diatomeas, se realizó un Análisis de Correspondencia Canónica (CCA por su sigla en inglés) con el método unimodal de ordenación, dado que este análisis es válido para cualquier tamaño del gradiente ambiental (Legendre y Legendre, 2012). Se utilizó la matriz de especies con abundancia relativa mayor al 4% transformada ( $\log(x+1)$ ). Para la matriz ambiental se utilizaron los datos medidos *in situ* y los obtenidos de los análisis químicos (NT, PT, PO<sub>4</sub>, clorofila) como variables explicativas que fueron normalizadas. La significancia de las contribuciones de las variables ambientales en la ordenación de las especies se probó mediante la prueba de permutaciones de Monte Carlo ( $p < 0,05$ ). La significancia de los coeficientes de correlación canónica de cada variable ambiental para los ejes 1 y 2 se evaluó mediante una aproximación del estadístico t-Student (ter Braak, 1986) siguiendo las rutinas del software libre MVSP (Multivariate Statistical Package). El nitrito, la DQO y el amonio fueron eliminados del análisis debido a que su concentración en todos los sitios fue menor al límite de detección, así como la temperatura (para no considerar la variación estacional). Para evaluar el rol de cada especie y su contribución al sitio se calcularon los coeficientes de similitud entre muestras y la similitud/disimilitud promedio entre todos los pares de muestras de cada grupo, aplicando el análisis de porcentajes de similaridad mediante la rutina SIMPER del PRIMER. A las

especies que más contribuyen a la similitud promedio dentro de un sitio se las consideró como típicas (Clarke y Warwick, 2001). Con esta matriz de especies/sitio también se realizó un análisis de varianza ANOSIM para comparar sitios mediante matrices de similitud de Bray-Curtis. Estos análisis fueron realizados con el software PRIMER v6 (Clarke y Gorley, 2006).

El IDP de cada sitio fue calculado siguiendo a Gómez y Licursi (2001) y Licursi y Gómez (2003). La abundancia relativa de cada taxón fue multiplicada por el valor de ponderación de la especie: «índice específico» (Iidp). La sumatoria del valor de todas las especies ponderadas para cada muestra determinó el IDP del sitio, tal como indican las autoras. El IDP genera cinco clases de calidad de agua (0-4) que siguen la clasificación de la Tabla 1. Para la coloración de los sitios de la Figura 1, el IDP del sitio se tomó como el promedio de los valores del IDP de los cinco muestreos realizados.

**TABLA 1.** Valor del IDP, categoría de calidad de agua y su correspondiente código en color. Tomado de Licursi y Gómez (2003).

Valor IDP	Calidad de agua	Código de color
0-0,5	Muy buena	
>0,5-1,5	Buena	
>1,5-2	Aceptable	
>2-3	Mala	
>3-4	Muy mala	

## RESULTADOS

### Variables ambientales

En la Tabla 2 se muestran los promedios de las variables ambientales en cada sitio de todos los muestreos realizados (n=5) y los datos puntuales tomados en el muestreo de setiembre de 2016.

Se observó que los mayores aportes de nutrientes al Sistema Laguna del Sauce provienen del norte (Mallorquina y Pedragosa) y del arroyo Enjoy, donde se registraron las mayores concentraciones de nitrógeno total, fósforo total y fosfato. El arroyo Mallorquina presentó un pico de PT de 1050 µg/l en abril. Este sitio se caracteriza por tener plantas enraizadas, que favorecen la transparencia del agua, por lo que la turbiedad fue baja (1 UNT) en todos los muestreos.

La profundidad de los arroyos en los sitios de muestreo no superó los 50 cm, con excepción del sitio Vivero (1 m). No se observó un gradiente ambiental en los arroyos que tienen más de un sitio de muestreo en su curso de agua, por ejemplo, Salto de Agua y Pan de Azúcar.

**TABLA 2.** Los promedios y desvío de las variables ambientales en cada sitio de muestreo standard (n=5), máximos y mínimos de todos los datos. Octubre 2015-setiembre 2016. (\*) Datos tomados en setiembre de 2016. (\*\*) Datos proporcionados por OSE-UGD. ND: No Detectado, SR: sin registro. T: temperatura, Cond: conductividad, UNT: turbiedad, OD: oxígeno disuelto, NT: Nitrógeno total, PT: fósforo total, Chl *a*: Clorofila *a*, NH<sub>4</sub>: amonio, DBO: demanda biológica de oxígenos, DQO: demanda bioquímica de oxígeno, NO<sub>2</sub>: nitrito, NO<sub>3</sub>: nitrato, SST: sólidos suspendidos totales y PO<sub>4</sub>: fosfato.

	T °C	Cond µs/cm	pH	UNT	OD %	OD mg/l	NT mg/l	PT µg/l	Chl <i>a</i> µg/dm <sup>2</sup>	NH <sub>4</sub> mg/l (*)	DBO mg/l (*)	DQO mg/l (*)	NO <sub>2</sub> mg/l (*)	NO <sub>3</sub> mg/l (*)	SST mg/l (*)	PO <sub>4</sub> µg/l (**)
Mallorquina (media)	17,5	532	7,3	3	40,0	3,0	1,3	386,0	56,0	0,05	2,6	<14	<0,046	0,03	3,8	303
Mallorquina (desvest)	2,5	71	0,8	4	37,6	2,3	1,0	454,8	57,8							
Pedragosa (media)	24,7	616	7,9	21	102,0	11,0	1,1	113,0	60,7	0,04	1,45	ND	<0,046	0,01	3,4	53
Pedragosa (desvest)	5,9	147	0,8	37	43,9	5,7	1,0	69,2	48,7							
Sauce (media)	20,2	268	7,4	4	74,0	7,0	0,7	146,0	38,4	0,03	1,5	ND	<0,046	0,04	1	98
Sauce (desvest)	3,5	63	0,3	2	18,4	2,0	0,1	127,8	43,6							
Salto de agua AB (media)	19,2	439	7,5	8	86,0	13,0	0,9	119,0	51,3	0,04	1,8	<14	<0,046	0,07	4	190
Salto de agua AB (desvest)	4,4	221	0,3	10	21,8	11,7	0,1	21,1	56,1							
Salto de Agua AA (*)	17	180	7,5	SR	94,0	9,0	0,7	118,0	15,0	0,04	1,6	ND	<0,046	0,06	6,8	260
Pan de Azúcar AA (*)	13,9	249	7,9	SR	90,0	9,0	0,3	85,0	14,6	0,04	0,9	ND	<0,046	0,06	3,6	68
Pan de Azúcar AB (media)	18,7	266	7,5	2	74,0	7,0	0,5	113,0	56,3	0	0,17	<14	<0,046	0,07	3,6	83
Pan de Azúcar AB (desvest)	2,8	67	0,4	1	12,8	1,4	0,2	61,8	38,1							
Vivero (media)	21,6	251	7,0	2	23,0	15,0	0,7	142,0	138,0	0	0,17	14	<0,046	0,04	78	65
Vivero (desvest)	3,8	36	0,6	1	15,5	28,2	0,3	42,8	59,4							
Enjoy (*)	15,5	808	8,1	SR	85,0	8,0	1,3	475,0	74,8	0	2,2	<14	<0,046	0,21	12	5690
Represa (media)	22,7	163	7,3	10	60,0	5,0	1,1	89,0	94,6	0	0,8	49	<0,046	0,24	8,8	105
Represa (desvest)	3,9	27	1,0	9	25,9	2,4	0,6	38,6	41,7							
Potrero (*)	16,6	118	8,1	SR	99,0	10,0	0,9	145,0	41,1	0,07	1,3	<14	<0,046	0,26	6,4	280
Máx	33,6	808	9,2	75	137,6	65,4	2,9	1050,0	168,0	0,07	2,6	49	ND	0,26	78	7130
Mín	13,9	118	6,1	ND	5,2	0,7	0,3	34,0	0,0	0,003	0,167	ND	ND	0,01	1	30

## Comunidad de diatomeas

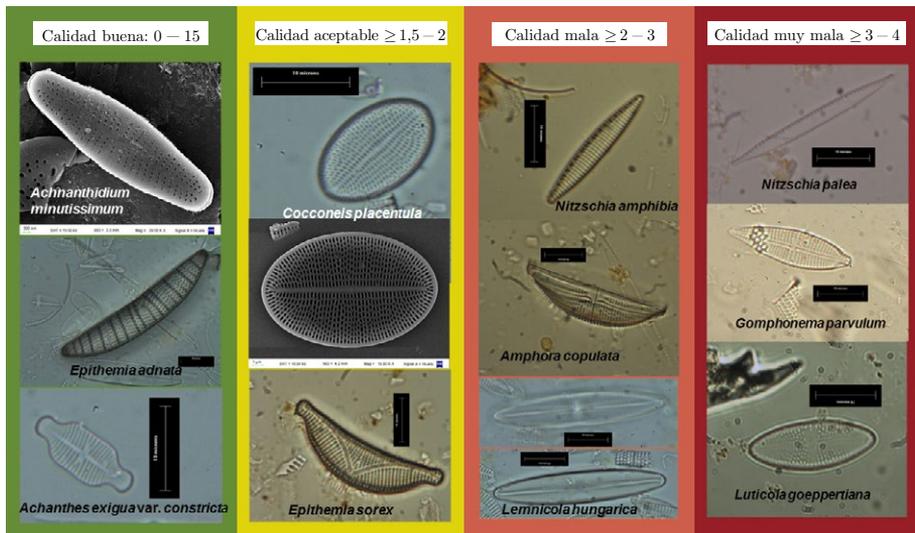
De un total de 238 especies determinadas, 44 tuvieron una abundancia relativa mayor del 4% en todos los muestreos. En la Tabla 3 se presentan los taxones con su abundancia relativa, código e índice específico (Iidp). De las 44 especies seleccionadas, el 60% cuenta con la ponderación del índice específico. En la Figura 4 se incluyen imágenes de especies representativas para cada Iidp.

De acuerdo al índice, fue posible ponderar un promedio de 70% de la abundancia de especies de cada muestra. En el caso del sitio Vivero (octubre), el 80% de las valvas no tenían ponderación, ya que *Planotidium biporum* no cuenta con Iidp, y es la especie dominante. Sin embargo, en A<sup>o</sup> Sauce, en abril, el 98% de las valvas tenían ponderación, ya que la especie dominante fue *Cocconeis placentula*.

**TABLA 3.** Especies frecuentes, con máxima abundancia relativa mayor al 4% en todo el período. Índice específico (Iidp), tomado de Licursi y Gómez (2003).

Código	Especie	Índice específico Iidp	Máxima abundancia relativa
AEXG	<i>Achnanthes exigua</i> Grunow in Cleve y Grunow	1	19,1
AATO	<i>Achnanthidium atomus</i> (Hustedt) Monnier, Lange-Bertalot y Ector		20,3
ADMI	<i>Achnanthidium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	1,25	59,5
APED	<i>Amphora pediculus</i> (Kützing) Grunow		46,2
BPAX	<i>Bacillaria paxillifer</i> (Müller) Marsson	1,75	16,5
CPLE	<i>Cocconeis euglypta</i> Ehrenberg	2,25	12,1
CLIN	<i>Cocconeis lineata</i> Ehrenberg		9,2
CPLA	<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg	2	96,6
CMEN	<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing		9,1
ESPR	<i>Encyonema sprechmanii</i> Metzeltin et al.		38,7
ESUB	<i>Craticula subminuscula</i> Wetzel y.Ector	3,75	21,2
EMIN	<i>Sellaphora nigri</i> (De Notaris) Wetzel y.Ector		7,6
EADN	<i>Epithemia adnata</i> (Kützing) Brébisson	1,25	15,1
ESOR	<i>Epithemia sorex</i> Kützing	1,75	78,2
FACU	<i>Ulnaria acus</i> (Kützing) Aboal		11,7
FCAP	<i>Fragilaria capucina</i> Desmazières	0,5	84,7
FGOU	<i>Ulnaria goulardii</i> (Brébisson ex Cleve y Grunow) Lange-Bertalot		7,6
FRUM	<i>Fragilaria rumpens</i> (Kützing) Carlson		11,3

Código	Especie	Índice específico Iidp	Máxima abundancia relativa
GPUN	<i>Geissleria punctifera</i> (Hustedt) Metzeltin, Lange-Bertalot y García-Rodríguez		8,3
GPUM	<i>Gomphonema pumilum</i> (Grunow) Reichardt y Lange-Bertalot		38,3
GPAR	<i>Gomphonema parvulum</i> (Kützing) Kützing	3,25	29,9
HCOP	<i>Amphora copulata</i> (Kützing) Schoeman y Archibald	2,5	17,5
KNIT	<i>Karayevia nitidiformis</i> (Lange-Bertalot) Bukhtiyarova		7,7
LHUN	<i>Lemnicola hungarica</i> (Grunow) Round y Basson	2,5	8,4
LGEO	<i>Luticola goeppertiana</i> (Bleisch) Mann ex Rarick, Wu, Lee y Edlund	3,75	8,3
LMUT	<i>Luticola mutica</i> (Kützing) Mann	3	5,7
MVAR	<i>Melosira varians</i> Agardh	2	45,5
NERI	<i>Navicula erifuga</i> Lange-Bertalot	1,75	15,9
NKUS	<i>Navicula kusekiana</i> Lange-Bertalot y Rumrich		7,7
NCAP	<i>Navicula capitatoradiata</i> Germain	1,25	31,5
NGRE	<i>Navicula gregaria</i> Donkin	2,75	16,1
NSCHR	<i>Navicula schroeteri</i> Meister		33,5
NCLA	<i>Nitzschia clausii</i> Hantzsch		30,2
NACI	<i>Nitzschia acicularis</i> (Kützing) Smith	3,75	6,3
NAMP	<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow	2,5	16,9
NFIL	<i>Nitzschia filiformis</i> (Smith) Van Heurck		4,6
NLIN	<i>Nitzschia linearis</i> Smith	2,5	10,9
NSIG	<i>Nitzschia sigmoidea</i> (Nitzsch) Smith	3	4,0
NPAL	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) Smith	3,75	55,2
PACRO	<i>Pinnularia acrosphaeria</i> Smith		9,5
PFRE	<i>Planothidium frequentissimum</i> Lange-Bertalot		47,5
PBIP	<i>Planothidium biporumum</i> (Hohn y Hellerman) Lange-Bertalot		70,9
RSIN	<i>Reimeria sinuata</i> (Gregory) Kociolek y Stoermer		4,7
RABR	<i>Rhoicosphenia abbreviata</i> (Agardh) Lange-Bertalot	1,5	87,0
SDEN	<i>Sellaphora densistriata</i> (Lange-Bertalot y Metzeltin) Lange-Bertalot y Metzeltin		6,4
THUN	<i>Tryblionella hungarica</i> (Grunow) Frenguelli	2,75	10,6



**Figura 4.** Especies representativas de cada categoría de calidad de agua según el valor de Iidp.

*Cocconeis placentula*, *Rhoicosphenia abbreviata*, *Fragilaria capucina*, *Epithemia sorex* y *Planothidium biporum* fueron las especies con mayor abundancia relativa (>70%). Cada sitio presentó especies típicas (Tabla 4) y el resultado del análisis de similaridad ANOSIM mostró diferencias significativas entre los sitios (R global= 0,255; p=0,01).

**TABLA 4.** Resultados del análisis de similaridad SIMPER: especies típicas en cada sitio y porcentaje de contribución de cada especie. Promedio de la abundancia, promedio de similaridad, porcentaje de contribución de la especie y porcentaje acumulado para cada sitio de muestreo.

Sitio	Especies	Abundancia promedio	Similaridad promedio	Contribución %	Contribución acumulada %
Pedragosa Similaridad promedio: 52,5	<i>Nitzschia palea</i>	4,2	10,8	20,7	20,7
	<i>Epithemia sorex</i>	3,7	8,0	15,3	35,9
	<i>Epithemia adnata</i>	2,3	4,6	8,7	44,7
	<i>Nitzschia amphibia</i>	1,9	4,5	8,5	53,2
	<i>Cocconeis placentula</i>	2,4	4,3	8,2	61,4
Mallorquina Similaridad promedio: 42,8	<i>Nitzschia palea</i>	3,8	7,1	16,6	16,6
	<i>Cocconeis placentula</i>	2,3	5,4	12,5	29,2
	<i>Epithemia adnata</i>	2,0	4,6	10,8	40,0
	<i>Navicula capitatoradiata</i>	1,9	3,3	7,6	47,6
	<i>Bacillaria paxilifer</i>	1,8	3,2	7,6	55,2

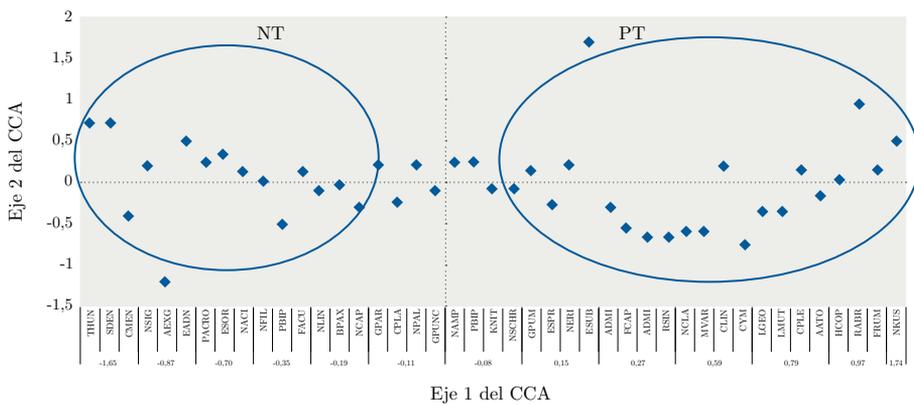
Sitio	Especies	Abundancia promedio	Similaridad promedio	Contribución %	Contribución acumulada %
Sauce Similaridad promedio: 39,1	<i>Cocconeis placentula</i>	5,5	23,5	60,1	60,1
	<i>Gomphonema parvulum</i>	1,2	2,5	6,3	66,4
	<i>Nitzschia palea</i>	1,4	2,2	5,7	72,1
	<i>Nitzschia amphibia</i>	1,3	1,8	4,6	76,7
	<i>Cocconeis lineata</i>	1,4	1,3	3,4	80,1
Salto de Agua AB Similaridad promedio: 55,5	<i>Nitzschia amphibia</i>	3,3	5,8	10,5	10,5
	<i>Planothidium biporumum</i>	3,6	5,6	10,1	20,6
	<i>Nitzschia palea</i>	3,1	5,5	9,8	30,4
	<i>Cocconeis placentula</i>	2,7	5,0	9,0	39,4
	<i>Gomphonema parvulum</i>	2,5	4,7	8,5	48,0
	<i>Navicula schroeterii</i>	2,4	4,3	7,8	55,8
Pan de Azúcar AB Similaridad promedio: 43,9	<i>Gomphonema pumilum</i>	2,2	3,8	6,8	62,6
	<i>Cocconeis placentula</i>	5,0	15,1	34,3	34,3
	<i>Gomphonema pumilum</i>	2,5	4,8	11,0	45,2
	<i>Planothidium biporumum</i>	1,2	3,4	7,7	53,0
Vivero Similaridad promedio: 38,7	<i>Nitzschia amphibia</i>	1,9	3,2	7,3	60,3
	<i>Cocconeis placentula</i>	4,2	11,6	29,9	29,9
	<i>Planothidium biporumum</i>	3,6	7,0	18,2	48,1
Represa Similaridad promedio: 46,8	<i>Epithemia sorex</i>	2,1	4,6	11,9	60,0
	<i>Navicula capitatoradiata</i>	4,1	11,3	24,1	24,1
	<i>Cocconeis placentula</i>	2,9	6,5	13,8	37,9
	<i>Achnanthidium minutissimum</i>	2,6	4,4	9,3	47,2
	<i>Planothidium biporumum</i>	2,2	3,5	7,5	54,8
	<i>Encyonema sprechmanii</i>	1,6	3,2	6,7	61,5

Los resultados de los valores propios, porcentaje de varianza explicada y correlaciones canónicas del CCA se muestran en la Tabla 5. El análisis de correspondencia canónico mostró que los dos primeros ejes explicaron el 48,3% (porcentaje de varianza acumulado restringido). Las variables que más contribuyeron al primer eje fueron el PT ( $cc = 0,721$ ), pH ( $cc = 0,485$ ), y negativamente el NT ( $cc = -0,679$ ), mientras que la conductividad ( $cc=0,828$ ) y la turbiedad (UNT) ( $cc= -0,452$ ) fueron los que más contribuyeron al eje 2 (Tabla 6, Figura 5). La clorofila *a* aportó igualmente a ambos ejes ( $cc = 0,54$ ). Un tercer eje contribuyó con un 18% a la varianza y se explicó con el fosfato ( $cc= -0,815$ ). El diagrama biplot de las variables y especies considerando los dos primeros ejes mostró una correlación positiva de las especies



**TABLA 6.** Correlaciones canónicas de las variables con los ejes.

Coeficientes canónicos	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Conductividad	-0,41	<b>0,83</b>	-0,06
pH	0,49	0,23	-1,35
Turbiedad	0,02	-0,45	0,87
Oxígeno disuelto	0,10	0,06	-0,11
Nitrógeno Total	<b>-0,68</b>	0,10	-0,46
Fósforo total	<b>0,72</b>	0,02	0,08
Chl <i>a</i>	0,54	0,55	0,62
Fosfato	-0,13	0,01	<b>-0,82</b>



**Figura 6.** Distribución de las especies (código en tabla 3) en el eje 1 y 2 del ACC.

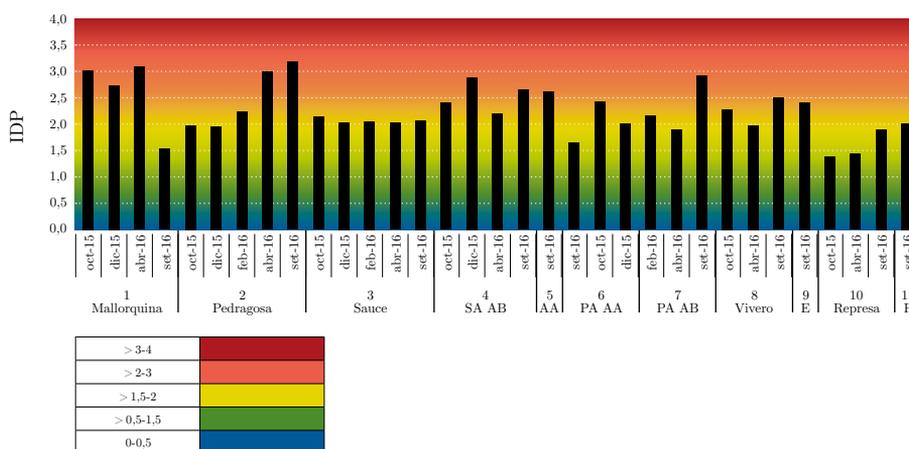
Los sitios que presentaron mayor concentración de nutrientes, Pedragosa y Mallorquina, se caracterizaron por la abundancia de *Nitzschia palea*, *Ephitemia sorex* y *E. adnata* (Tabla 4). Estas especies se asociaron con el NT en el CCA (Figura 5 y 6). Además, en dichos sitios se registró la presencia de especies con alto Iidp como *N. sigmoidea*, *N. acicularis* y *Tryblionella hungarica* (Tabla 3), lo que resultó en un IDP de 2,5 y 2,6, respectivamente, correspondiente a la categoría de mala calidad del agua (Figura 7).

Los sitios Pan de Azúcar AB, Sauce y Salto de Agua AB también presentaron mala calidad del agua según su IDP y se caracterizaron por la dominancia de *Cocconeis placentula*, *C. lineata*, *Gomphonema parvulum*, *G. pumilum*, *Nitzschia amphibia* y *Planothidium biporumum* (Tabla 4). Estas especies se asociaron al PT en el eje 1 del CCA (Figura 5 y 6). A su vez, Pan de Azúcar AB presentó baja abundancia relativa (8,3) de *Luticola goeppertiana*, especie con un alto Iidp: 3,75.

El arroyo Enjoy estuvo caracterizado por *Rhoicosphenia abbreviata* y *Craticula subminuscula*, ambas asociadas positivamente al PT y fosfato según el eje 1 del ACC (Figura 5), pero solo *Craticula subminuscula* presentó alto Iidp (3,75) (Tabla 3).

Los sitios Pan de Azúcar AA, Represa y arroyo Potrero presentaron en promedio calidad aceptable del agua; se caracterizaron por especies con bajo Iidp: *Achnantheidium minutissimum* y *Navicula capitatoradiata* (Iidp=1,25) y otras sin ponderación Iidp: *Amphora pediculus*, *Navicula schroeterii*, *Encyonema sprechmanii* y *Planothidium biporumum* (Tablas 3 y 4).

Los cálculos del IDP en cada sitio mostraron que la calidad de agua no varió durante el período de estudio, excepto en Pedragosa y Mallorca. Estos sitios presentaron calidad muy mala y mala en los tres primeros muestreos (octubre de 2015, diciembre de 2015 y abril de 2016), pero en el muestreo de setiembre de 2016 Mallorca presentó calidad aceptable (1.5) (Figura 7).



**Figura 7.** Valor de IDP y calidad de agua para cada sitio de muestreo durante octubre de 2015 y setiembre de 2016. Ver códigos de referencia en Tabla 1 Sitios de muestreo: (1) Mallorca, (2) Pedregosa, (3) Sauce, (4) Salto de Agua AB, (5) Salto de Agua AA, (6) Pan de Azúcar AA, (7) Pan de Azúcar AB, (8) Vivero, (9) Enjey, (10) Represa y (11) Potrero. Índice de colores de acuerdo a calidad de agua inferida a partir del IDP.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de este trabajo sugieren que el índice pampeano puede ser aplicado exitosamente en arroyos uruguayos. Las correlaciones entre las variables ambientales con la comunidad de diatomeas y el IDP obtenido en cada sitio reflejan las condiciones ambientales de los sistemas lóticos estudiados. El IDP reflejó a los sitios siguiendo las características ambientales obtenidas en cada muestreo.

La variación temporal del IDP dentro de un mismo sitio podría deberse a las variaciones de los usos del suelo y, por consiguiente, a la entrada de nutrientes al sistema y/o al aumento del caudal por la escorrentía y las precipitaciones en la cuenca. Los aportes de nutrientes al sistema de la laguna son numerosos y fluctúan a lo largo del año de acuerdo al uso del suelo en la cuenca. Este uso es mayoritariamente

agropecuaria, más del 50% del área está dedicada a actividades ganaderas, y ya hace varias décadas se ha incrementado la presión por el uso recreativo en el sector sur de la Laguna, donde existen varios emprendimientos turísticos y un pequeño poblado sin saneamiento (Amorín y Larghero, 2017). Con frecuencia, los niveles altos de nitrógeno en el agua son producto del exceso de fertilizantes y en ocasiones aumentan por la erosión del suelo adyacente al cuerpo de agua, debido a sucesivos cultivos (Ferrando, 2013).

Según los resultados análisis de similitud entre sitios, también se observó una variabilidad espacial; cada arroyo estuvo determinado por una comunidad típica a través de la cual podríamos inferir cuál es el nutriente dominante.

Si bien el sistema recibe aguas de mala calidad de sus tributarios, se observó que en el sur, en el sitio Represa y sobre el arroyo Potrero hacia la salida en el Río de la Plata, la calidad del agua mejora (IDP=1,6 y IDP=2,0) y es aceptable al final del período de estudio.

Las condiciones meteorológicas influyen en la calidad del agua y, en consecuencia, en el IDP obtenido. La información meteorológica en la zona, proporcionada por el Instituto Uruguayo de Meteorología (INUMET, [s.d.]), indicó que la pluviosidad de abril a setiembre de 2016 se ubicó por encima de lo normal. La precipitación acumulada para julio de 2016 fue de 317 mm según la estación meteorológica de la Laguna del Sauce (García López, [s.d.]), mientras que los promedios históricos acumulados mensuales son de 93 mm para la estación de Carrasco (estación meteorológica más cercana que dispone datos acumulados históricos 1961-1990). Incluso previo al muestreo, el día 28/08/2016 se registraron 93 mm para La Estación de la Base Aeronaval Curbelo. Por tanto, en un día llovió lo que normalmente se espera para el mes de setiembre. Este efecto tan puntual y extraordinario, por el que el nivel de los arroyos aumentó y las compuertas de la represa del arroyo Potrero se abrieron, provocó un aumento de la corriente no observado durante el período de estudio. En consecuencia, esto podría haber provocado la mejora en la calidad del agua en Mallorquina y Pedragosa en los sitios norte, mientras que para Represa aumentó el índice y, por ende, disminuyó la calidad del agua en ese sitio.

Los tributarios de la Cuenca del Sauce no mostraron valores altos de DBO a diferencia de los arroyos pampeanos (Gómez, 1998; Licursi y Gómez, 2003). Esta diferencia podría ocurrir debido a que los arroyos argentinos son urbanos. Varios autores han demostrado la influencia de la eutrofización, la contaminación orgánica y el oxígeno disuelto como estructuradores de la comunidad de diatomeas (Bere y Tundisi, 2011; Lobo, et al., 2004a; Lobo, et al., 2010; Van Dam, et al., 1994; Prygiel y Coste, 2000), en línea con lo hallado en este estudio.

Un alto porcentaje de valvas (70%) fueron ponderadas por el «índice específico» (Idp), como *Nitzschia*, *Cocconeis*, *Gomphonema* y *Navicula*. Estos géneros fueron los dominantes en este estudio y concordaron con lo descrito para ambientes eutróficos y con contaminación orgánica, específicamente *Gomphonema parvulum* y *Nitzschia palea* (Bere y Tundisi, 2011; Lobo, et al., 2010; Prygiel y Coste, 2000), y para áreas de escorrentía de terrenos agrícolas o con altas concentraciones de

nitratos y fosfatos (Alarcón-Rojas y Peláez-Peláez, 2012), como es el caso de esta zona de estudio.

El CCA ilustró la relación entre las especies indicadoras y su asociación con los dos principales nutrientes, el NT y el PT. Especies con bajo  $I_{idp}$  como *Achnanthes exigua* y *Achnantheidium minutissimum* se correlacionaron negativamente con el PT mientras que especies con alto  $I_{idp}$  como *Cocconeis placentula*, *C. lineata*, *Gomphonema parvulum*, *G. pumilum*, *Nitzschia amphibia*, *Planothidium biporum*, *Rhoicosphenia abbreviata* y *Craticula subminuscula* se asociaron a concentraciones altas de PT. Otras especies con alto  $I_{idp}$  como *N. sigmoidea*, *N. acicularis* y *Tryblionella hungarica* se asociaron con altas concentraciones de NT. Pocas especies registradas no presentaban ponderación para el IDP como *Planothidium biporum*, generalmente dominante en varios sitios de mala calidad y asociada al PT según el CCA. *Rhoicosphenia abbreviata*, también carente de ponderación, es una especie dominante del sitio de mayor concentración de fósforo (Enjoy), pero contradictoriamente se reporta en la literatura como especie típica de ambiente con moderada y buena calidad del agua (Bere y Tundisi, 2011). Otro caso sin índice específico fue el de *Epithemia*, que en este estudio se la observó asociada a altos niveles de NT, como se tiene registro en ríos colombianos (Pedraza-Garzón y Donato-Rondón, 2011), y no donde el cociente nitrógeno/fósforo es relativamente bajo (Stancheva, et al., 2013). Este género puede tolerar bajas concentraciones de nitrato y amonio disueltos gracias a su endosimbiosis con cianobacterias que pueden fijar el nitrógeno atmosférico (EPA, et al., [s.d.]).

Este estudio da cuenta de la importancia de crear ponderaciones de especies de diatomeas aún no ponderadas que son relevantes en cuanto a su potencial como especies indicadoras de calidad del agua en los sistemas lénticos y lóticos en una región de nuestro país.

Resulta interesante seguir con los estudios en sitios donde se pueda detectar un gradiente de oxígeno y de la DBO, como arroyos urbanos de Montevideo. Asimismo sería necesario continuar con los estudios para poder clasificar a las especies que no tengan un valor de ponderación  $I_{idp}$ , ya que la cantidad de especies ponderadas puede variar el IDP y podría influenciar en la calidad resultante del agua.

Diatomeas con morfologías anormales o frústulos deformados son indicadoras de estrés ambiental y/o presencia de contaminantes no orgánicos. Futuros estudios podrían incluir el análisis de metales pesados, pesticidas y otros contaminantes para evaluar la comunidad perifítica, incorporando el porcentaje de valvas deformadas de diatomeas (Gómez y Licursi, 2003).

## CONCLUSIONES

Se aplica por primera vez en Uruguay un bioindicador bentónico en monitoreos de calidad de agua en arroyos utilizando el perifiton. Este trabajo evidencia una vez más que los ensambles de diatomeas epilíticas reflejan el estado de salud del ambiente. Los programas de monitoreo de calidad de agua podrían complementarse con la

incorporación de esta herramienta que sería de gran utilidad en el asesoramiento del estado trófico de los cuerpos de aguas lóxicos.

Dar seguimiento al monitoreo de la cuenca de la Laguna del Sauce incorporando el índice diatomológico (IDP) para aportar información sobre la calidad del agua de los afluentes que llegan a la laguna permitirá anticipar y dar prevención a eventos de mala calidad de agua. Las estimaciones del estado trófico realizadas únicamente a partir de los índices fisicoquímicos dependen de las condiciones de la calidad del agua en el momento de la toma de la muestra y no necesariamente reflejan el estado ecológico real del sistema. Por lo tanto, siempre se deben analizar e interpretar los índices fisicoquímicos e indicadores ecológicos en su conjunto (Torres-Franco, et al., 2018).

Desde el punto de vista de la gestión actual, esta herramienta podría ser de utilidad para complementar la estrategia de control planteada por la Dirección Nacional de Medio Ambiente (MVOTMA, 2015) y el monitoreo que lleva adelante la OSE-UGD en colaboración con la UdelaR (Crisci, et al., 2017) para la cuenca de la Laguna del Sauce. La incorporación IDP serviría para dar seguimiento a las medidas del plan de acción que se está implementando para el aseguramiento de la potabilización del agua, no solo de este sistema estudiado, sino en otras cuencas, por ejemplo, la del Santa Lucía.

## RECONOCIMIENTOS

A los colegas de OSE-UGD, JJ Lagomarsino y Gustavo Méndez por el apoyo en la ejecución e interpretación de los datos. A Nora Maidana, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental - FCEyN – Universidad de Buenos Aires, Argentina, quien nos recibió en sucesivas pasantías discutiendo la taxonomía de las especies. A Nora Gómez, del Instituto de Limnología Dr Raúl A. Ringuelet, de La Plata, Argentina, por el apoyo en los cálculos del IDP y por recibirnos en el instituto. A Patrick Kocielek, de University of Colorado Boulder, por el apoyo en la taxonomía. A personal de Prefectura Nacional Naval, especialmente al Cabo Sosa, de Base Aeronaval Capitán Carlos A. Curbelo de Laguna del Sauce. A los propietarios de la zona, quienes nos permitieron el acceso y la colocación de sustratos, entre ellos a Luis Hernández y Daniel Branáa. Al LATU por tener la iniciativa en llevar adelante esta temática en pos del fortalecimiento de los monitoreos de calidad de agua. A los revisores del trabajo por sus valiosas sugerencias y correcciones.

## REFERENCIAS

- Alarcón-Rojas, N. y Peláez-Peláez, F., 2014. Water quality of the river Sendamal (Celendin, Cajamarca, Peru): determination by use of diatoms 2012. En: *Rebiol.*, 34(2), pp.29-37.
- American Public Health Association, American Water Works Association y Water Environment Federation, 2017. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 23va ed. Washington: APHA. Standard Method 4500 NH<sub>3</sub>-D, Approved 1997-Rev. 2011.

- American Public Health Association, American Water Works Association y Water Environment Federation, 2017. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 23va ed. Washington: APHA. Standard Method 2540 D, Approved 2015.
- American Public Health Association, American Water Works Association y Water Environment Federation, 2017. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 23va ed. Washington: APHA. Standard Method 4500 P, Approved 2005-Rev. 2011 and 2017.
- Amorín, C. y Larghero, S., 2017. *Informe de situación de las medidas que se están implementado para el aseguramiento de la potabilización del agua del sistema de abastecimiento de Montevideo y Laguna del Sauce*. Montevideo: URSEA.
- Asociación Española de Normalización y Certificación, 2004. UNE EN-13946: *Calidad del agua. Guía para el muestreo en rutina y el pretratamiento de diatomeas bentónicas de ríos*. Madrid: AENOR.
- Barbour, M.T., Gerritsen, J., Snyder, B.D. y Stribling, J.B., 1999. *Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish*. 2da ed. U.S. Washington: Environmental Protection Agency, Office of Water. (EPA 841-B-99-002).
- Battarbee, R.W., 1986. Diatom analysis. En: Berglund, B.E., ed., 1986. *Handbook of holocene paleoecology and paleohydrology*. Londres: Wiley & Sons. pp.527-570.
- Bere, T. y Tundisi, J.G., 2011. The effects of substrate type on diatom-based multivariate water quality assessment in a tropical river (Monjolinho), São Carlos, SP, Brazil. En: *Water Air Soil Pollut*, (216), pp.391-409.
- Bere, T. y Tundisi, J.G., 2012. Applicability of the Pampean Diatom Index (PDI) to streams around São Carlos-SP, Brazil. En: *Ecological Indicators*, (861), pp.5.
- Blanco Lanza, S., Álvarez Blanco, I., Cejudo-Figueiras, C. y Bécares Mantecón, E. 2010. *Guía de las diatomeas de la Cuenca del Duero*. Madrid: Confederación Hidrográfica del Duero. Ministerio Medio Ambiente de España. 210p.
- Cambra, J., Luc, Héctor y Sabater, S., 2005. *Métodos para el establecimiento el estado ecológico según la Directiva Marco del Agua. Protocolos de muestreo y análisis para fitobentos* [En línea]. Madrid: Confederación Hidrográfica del Ebro. Ministerio de Medio Ambiente de España. 43 p. [Consulta: 17 de mayo de 2019]. Disponible en: [http://195.55.247.234/webcalidad/estudios/indicadoresbiologicos/Manual\\_fitobentos.pdf](http://195.55.247.234/webcalidad/estudios/indicadoresbiologicos/Manual_fitobentos.pdf)
- Carpenter, S., Stanley, E.H. y Vander Zanden, M.J., 2011. State of the world's freshwater ecosystems: physical, chemical, and biological changes. En: *Annual Review of Environment and Resources*, (36)1, pp.75-99.
- Cemagref, 1982. *Etude des méthodes biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux*. Lyon: Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse. p. 218.
- Clarke, K.R. y Warwick, R.M., 2001. *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. 2a ed. Plymouth: PRIMER-E.
- Clarke, K.R. y Gorley R.N., 2006. *PRIMER v6: User Manual/Tutorial*. Plymouth: Plymouth Marine Laboratory. 190 pp.

- Confederación Hidrográfica del Ebro, 2007. *Metodología para el establecimiento del estado ecológico según la Directiva del Marco del Agua en la Confederación Hidrográfica del Ebro: Protocolos de muestreo y análisis para: Fitoplancton, Fitobentos (Microalgas bentónicas), Macrofitos, Invertebrados bentónicos, Ictiofauna* [En línea]. Madrid: Ministerio de Medio Ambiente. [Consulta: 17 de mayo de 2019]. Disponible en: [https://www.miteco.gob.es/es/agua/publicaciones/Protocolos\\_muestreo\\_biologico\\_con\\_portada\\_tcm30-214764.pdf](https://www.miteco.gob.es/es/agua/publicaciones/Protocolos_muestreo_biologico_con_portada_tcm30-214764.pdf)
- Coste, M. y Ayphassorho, H., 1991. *Étude de la qualité des eaux du Bassin Artois Picardie a l'aide des communautés de diatomées benthiques (Application des indices diatomiques)*. Douai: Agence de l'Eau Artois-Picardie. (Report Cemagref. Bordeaux). 227 pp.
- Coste, M., Boutry, S., Tison-Rosebery, J. y Delmas, F., 2008. Improvements of the Biological Diatom Index (BDI): description and efficiency of the new version (BDI-2006). En: *Ecol. Indic.*, 9, pp.621–650. DOI 10.1016/j.ecolind.2008.06.003.
- Crisci, C., Goyenola, G., Terra, R., Lagomarsino, J.J., Pacheco, J.P., Díaz, I., Gonzalez-Madina, L., Levrini, P., Méndez, G., Bidegain, M., Ghattas, B.A. y Mazzeo, N.R., 2017. Dinámica ecosistémica y calidad de agua: estrategias de monitoreo para la gestión de servicios asociados a Laguna del Sauce (Maldonado, Uruguay). En: *INNOTEC*, 13, pp.46-57. ISSN 1688-6593.
- Descy, J.P. y Coste, M., 1991. A test of methods for assessing water quality based on diatoms. En: *Verh. Internat. Verein. Limnol., Stuttgart*, (24), pp.2112-2116.
- Duarte, C., Sergio A., Benito, G., Dachs, J., Montes, C., Pardo, M., Ríos, A.F., Simóy, R. y Valladares, F., 2006. *Cambio global Impacto de la actividad humana sobre el sistema Tierra*. Madrid: Consejo Superior De Investigaciones Científicas. 170 p. (Colección Divulgación). ISBN: 978-84-00-08452-3
- EPA, USGS e INSTAAR, [s.d.]. *Diatoms of North America* [En línea]. [s.l.]: EPA, USGS, INSTAAR. [Consulta: 1 de setiembre de 2017]. Disponible en: <https://westerndiatoms.colorado.edu>.
- Ector, L. y Rimet, F., 2005. Using bioindicators to assess rivers in Europe: An overview. En: Lek, S., Scardi, M., Verdonschot, P. F. M., Descy, J. P. y Park, Y. S., eds. *Modelling community structure in freshwater ecosystems*. Berlin: Springer Verlag, Heidelberg. pp.7-19.
- Ferrando M., 2013. *Curso de fertilidad de suelos* [En línea]. Montevideo: Facultad de Agronomía. [Consulta: 1 de setiembre de 2017]. Disponible en: <http://www.fagro.edu.uy/fertilidad/curso/docs/Fosforo.pdf>
- García López, José Manuel, [s.d.]. *OGIMET, Servicio de Información Meteorológica*. [s.l.]: [s.n.]. [Consulta: 17 de mayo de 2019]. Disponible en: <http://ogimet.com/cgi-bin/gsynres?ind=86586&ndays=30&ano=2016&mes=05&day=01&hora=12&ord=DIR&enviar=Ver>
- Gómez, N., 1998. Use of epipellic diatom for evaluation of water quality in the Matanza-Riachuelo (Argentina), a pampean plain river. En: *Water Research*, 32, pp.2029–2034.

- Gómez, M. y Licursi, M., 2003. Abnormal forms in *Pinnularia gibba* (Bacillariophyceae) in a polluted lowland stream from Argentina. En: *Nova Hedwigia*, 77(3), pp.389-398.
- Gómez, N. y Licursi, M., 2001. The Pampean Diatom Index (IDP) for assessment of rivers and streams in Argentina. En: *Aquatic Ecol.*, 5, pp.173-181.
- González-Madina, L., Pacheco, J. P., Mazzeo, N., Levrini, P., Clemente, J., Lagomarsino J.J. y Fosalba, C., 2017. Factores ambientales controladores del fitoplancton con énfasis en las cianobacterias potencialmente tóxicas en un lago somero utilizado como fuente de agua para potabilización: Laguna del Sauce, Maldonado, Uruguay. En: *INNOTEC*, 13, pp.26-35. ISSN 1688-6593.
- Hill, B., Herlihy, A., Kaufmann, P., Stevenson, R., McCormick, F. y Johnson, C., 2000. Use of periphyton assemblage data as an index of biotic integrity. En: *Journal of the North American Benthological Society*, 19, pp.50-67.
- Hill, B., Stevenson, R., Pan, Y., Herlihy, A., Kaufmann, P. y Johnson C., 2001. Comparison of correlations between environmental characteristics and stream diatom assemblages characterized at genus and species levels. En: *Journal of the North American Benthological Society*, 20, pp.299-231.
- International Organization for Standardization, 1992. ISO 10260: *Water quality -- Measurement of biochemical parameters -- Spectrometric determination of the chlorophyll-a concentration*. Ginebra: ISO .
- International Organization for Standardization, 1997. ISO 11905-2: *Water quality -- Determination of nitrogen -- Part 2: Determination of bound nitrogen, after combustion and oxidation to nitrogen dioxide, chemiluminescence*. Ginebra: ISO .
- International Organization for Standardization, 1999. ISO 8245: *Water quality -- Guidelines for the determination of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC)*. Ginebra: ISO .
- International Organization for Standardization, 2002. ISO 15705: *Water quality -- Determination of the chemical oxygen demand index (ST-COD) -- Small-scale sealed-tube method*. Ginebra: ISO .
- International Organization for Standardization, 2003. ISO 5815-2: *Water quality -- Determination of biochemical oxygen demand after n days (BOD<sub>n</sub>) -- Part 2: Method for undiluted samples*. Ginebra: ISO .
- International Organization for Standardization, 2007. ISO 10304-1: *Water quality -- Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions -- Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate*. Ginebra: ISO .
- INUMET, [s.d.]. *Recursos hídricos* [En línea]. Montevideo: INUMET. [Consulta: 1 de setiembre de 2017]. Disponible en: <http://www.meteorologia.com.uy/ServCli/ipe>  
<https://www.inumet.gub.uy/clima/estadisticas-climatologicas/graficas-estadisticas-pluviometricas>
- Kelly, M.G. y Whitton, B.A., 1995. The trophic diatom index: a new index for monitoring eutrophication in rivers. En: *Journal of Applied Phycology*, (7), pp.433-444.

- Kelly, M.G., Cazaubon, A., Coring, E., Dell'Uomo, A., Ector, L., Goldsmith, B., Guasch, H., Hurlimann, J., Jarlman, A., Kawecka, B., Kwadrans, J., Laugaste, R., Lindstrom, E.A., Leitao, M., Marvan, P., Padisaka, J., Pipp, E., Prygiel, J., Rott, E., Sabater, S., van Dam, H. y Vizinet J., 1998. Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe. En: *Journal of Applied Phycology*, 10, pp.215–224.
- Krammer, K., 2000. *Diatoms of Europe: the Genus Pinnularia*. Vol. 1. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag K.G.
- Krammer, K., 2002. *Diatoms of Europe: Cymbella*. Vol. 3. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag K.G.
- Krammer, K., 2003. *Diatoms of Europe : Cymbopleura, Delicata, Navicymbula, Gomphocymbellopsis, Afrocybella*. Vol. 4. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag K.G.
- Lachat Instruments, 2007. *QuikChem® 31-115-01-3-D*. Milwaukee: Lachat Instruments
- Lange-Bertalot, H. 2001. *Diatoms of Europe: Navicula sensu stricto 10 genera separated from Navicula sensu lato Frustulia*. Vol. 2. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag K.G.
- Lange-Bertalot H., Bak, M., Witkowski A. y Tagliaventi N., 2011. *Diatoms of Europe: Eunotia and some related genera*. Vol. 6. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag K.G.
- LeCointe, C., Coste, M. y Prygiel, J., 1993. «OMNIDIA»software for taxonomy, calculation of diatom indices and inventories management. En: *Hydrobiologia*, 269/270, pp.509-513.
- Legendre, P. y Legendre, L., 2012. *Numerical ecology*. 3ra ed. Amsterdam: Elsevier. 1006p.
- Lenoir, A. y Coste, M., 1996. Development of a practical diatom index of overall water quality applicable to the French national water Board network. En: Whitton, B. y Rott, E., eds. *Use of algae for monitoring rivers*. Vol. 2. Innsbruck: STUDIA, Studenten-förderungs-Ges. m.b.H.
- Levkov, Z., 2009. *Diatoms of Europe: Amphora sensu lato*. Vol. 5. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag K.G.
- Levkov, Z., Metzeltin, D. y Pavlov, A., 2013. *Diatoms of Europe: Luticola and Luticolopsis*. Vol. 7. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag K.G.
- Levkov, Z., Mitic, D., Kopanja y Reichardt, E., 2016. *Diatoms of Europe: The diatom genus Gomphonema from the Republic of Macedonia*. Vol. 8. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag K.G.
- Li, L., Zheng, B. y Liu, L., 2010. Biomonitoring and bioindicators used for river ecosystems: definitions, approaches and trends. En: *Procedia Environmental Sciences*, 2, pp.1510–1524.
- Licursi, M. y Gómez, N., 2003. Aplicación de índices bióticos en la evaluación de la calidad del agua en sistemas lóticos de la llanura Pampeana argentina a partir del empleo de diatomeas. En: *Biología Acuática*, 21, pp.31-49.
- Lobo, E. A. y Callegaro, V. L., 2000. Avaliação da qualidade de águas doces continentais com base em algas diatomáceas epilíticas: enfoque metodológico.

- En: Tucci, C.E.M. y Marques, D.M., eds., 2000. *Avaliação e controle da drenagem urbana*. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS. pp. 277-300.
- Lobo, E.A., Callegaro, V.L., Hermany, G., Bes, D., Wetzel, C.E. y Oliveira, M.A., 2004a. Use of epilithic diatoms as bioindicator from lotic systems in Southern Brazil, with special emphasis in eutrophication. En: *Acta Limnol, Brasil.*, 16, pp.25-40.
- Lobo, E., Callegaro, V., Hermany, G. y Ector, L., 2004b. Review of the use of microalgae in South America for monitoring rivers, with special reference to diatoms. En: *Vie et Milieu*, (53), pp.35-45.
- Lobo, E. A., Wetzel, C .E., Ector, L., Katoh, K., Blanco, S. y Mayama, S., 2010. Response of epilithic diatom communities to environmental gradients in subtropical temperate Brazilian Rivers. En: *Limnetica.*, 29(2), pp.323-340.
- Mazzeo, N., García-Rodríguez, F., Rodríguez, A., Méndez, G., Iglesias, C., Inda, H., Goyenola, G., García, S., Fosalba, C., Marroni, S., Crisci, C., Del Puerto, L., Clemente, J., Pacheco, P., Carballo, C., Kröger, A., Vianna, M., Meerhoff, M., Steffen, M., Lagomarsino, J.J., Masdeu, M., Vidal, N., Texeira de Mello, F., González, I. y Larrea, D., 2010. Estado trófico de Laguna del Sauce y respuestas asociadas. En: Inda, H. y Steffen, M., eds. *Bases técnicas para el manejo integrado de Laguna del Sauce y cuenca asociada*. Montevideo: Editorial Montevideo. pp.31-49. ISBN: 978-9974-0-0694-2.
- Méndez, G., Lagomarsino, J.J. y Alcorta, R., 2010. Mitigación de las consecuencias adversas en el proceso de potabilización. En: Inda, H. y Steffen, M., eds. *Bases técnicas para el manejo integrado de Laguna del Sauce y cuenca asociada*. Montevideo: Editorial Montevideo. pp.31-49. ISBN: 978-9974-0-0694-2.
- Metzeltin, D., Lange-Bertalot, H. y García-Rodríguez, F., 2005. *Diatoms of Uruguay - taxonomy, biogeography, diversity*. Koenigstein: Gantner Verlag.
- MVOTMA, 2015. *Plan de acción para la protección de la calidad ambiental y disponibilidad de las fuentes de agua potable* [En línea]. Montevideo: MVOTMA. [Consulta 24 de octubre de 2017]. Disponible en: [http://www.mvotma.gub.uy/images/PLAN\\_DE\\_ACCION\\_Cuenca\\_Laguna\\_del\\_Sauce\\_junio\\_de\\_2015.pdf](http://www.mvotma.gub.uy/images/PLAN_DE_ACCION_Cuenca_Laguna_del_Sauce_junio_de_2015.pdf)
- Pedraza-Garzón, E. y Donato-Rondón, J., 2011. Diversidad y distribución de diatomeas en un arroyo de montaña de los andes colombianos. En: *Caldasia*, 33(1), pp.177-191.
- Prygiel, J. y Coste, M., 2000. *Guide méthodologique pour la mise en oeuvre de l'Indice Biologique Diatomées: NF T90-354*. [s.l.]: Cemagref -Groupement de Bordeaux. Water Agencies.
- Prygiel, J., Whitton, B. y Bukowska, J., eds., 1999. *Use of algae for monitoring rivers III*. Douai: Agence de l'Eau Artois-Picardie.
- Rodríguez, A., Méndez, G., Inda, H., Lagomarsino, J.J. y Steffen, M., 2010. Características y problemática de la Laguna del Sauce. En: Inda, H. y Steffen, M., eds., 2010. *Bases técnicas para el manejo integrado de Laguna del Sauce y cuenca asociada*. Montevideo: Editorial Montevideo. pp.14-17. ISBN: 978-9974-0-0694-2.
- Sar, E.A., Sala, S.E., Sunesen, I., Henninger, M. S. y Montastruc, M., 2009. *Catálogo de los géneros, especies y taxa infraespecíficos erigidos por J. Frenquelli*. [s.l.]: ARG Gunter Verlag KG. (Diatom Monograph, 10).

- Sládecék, V., 1986. Diatoms as indicators of organic pollution. En: *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, Dresden*, 14(5), pp.555-566.
- Springer, M., 2010. Biomonitoring acuático. En: *Revista de Biología Tropical*, 58(4), pp.53-59.
- Stancheva, R., Sheath, R.G., Read, B.A., McArthur, K.D., Schroepfer, C., Kociolek, J.P. y Fetscher A.E., 2013. Nitrogen-fixing cyanobacteria (free-living and diatom endosymbionts): their use in southern California stream bioassessment. En: *Hydrobiologia*, (720), pp.111-127.
- ter Braak, C.J., 1986. Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. En: *Ecology*, (67), pp.1167-1169.
- Torres-Franco, A.F., Alatrística-Góngora, G.F., Guzmán-Rodríguez, N.P., Calizaya-Anco, J.A., Mota, C.R. y Figueredo, CC., 2018. Physicochemical and diatom trophic indexes: A complementary approach for improving water sustainability in a high Andean urban stream. En: *Ecohydrol. Hydrobiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ecohyd.2019.01.007>
- Unión Europea. Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y el Consejo de 23 de octubre de 2000 por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas. *Diario Oficial de la Comunidad Europea*, 22 de diciembre de 2000, L 327, pp.72.
- Uruguay. Decreto 253/979, de 9 de mayo de 1979. *Diario Oficial*, 31 de mayo de 1979, No. 20.504, p.1473.
- Van Dam, H., Mertens, A. y Sinkeldam, J., 1994. A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from The Netherlands. En: *Netherlands Journal of Aquatic Ecology*, 28, pp.117.
- Watanabe, T., Asai, K. y Houki A., 1986. Numerical estimation to organic pollution of flowing water by using epilithic Diatom Assemblage Index (DAIPo). En: *The Science of total Environmental*, (55), pp.209-218.

# Floración excepcional de cianobacterias tóxicas en la costa de Uruguay, verano 2019

Exceptional bloom of toxic cyanobacteria on the Uruguayan coast, summer 2019

RECIBIDO: 11/4/2019 → APROBADO: 6/6/2019 ✉ ckruk@yahoo.com

✉ KRUK, CARLA (1,2); MARTÍNEZ, ANA (3); MARTÍNEZ DE LA ESCALERA, GABRIELA (4); TRINCHIN, ROMINA (5); MANTA, GASTÓN (5); SEGURA, ANGEL M. (6); PICCINI, CLAUDIA (4); BRENA, BEATRIZ (7); FABIANO, GRACIELA (3,8); PIREZ, MACARENA (9); GABITO, LOURDES (2); ALCÁNTARA, IGNACIO (2); YANNICELLI, BEATRIZ (2)

- (1) INSTITUTO DE ECOLOGÍA Y CIENCIAS AMBIENTALES, FACULTAD DE CIENCIAS, UDELAR, MONTEVIDEO, URUGUAY
- (2) ECOLOGÍA FUNCIONAL DE SISTEMAS ACUÁTICOS, CENTRO UNIVERSITARIO REGIONAL DEL ESTE (CURE), UDELAR, ROCHA, URUGUAY.
- (3) DIRECCIÓN NACIONAL DE RECURSOS ACUÁTICOS, LA PALOMA, MGAP, ROCHA, URUGUAY.
- (4) DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS CLEMENTE ESTABLE, MEC, MONTEVIDEO, URUGUAY,
- (5) DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA ATMÓSFERA, FACULTAD DE CIENCIAS, UDELAR, MONTEVIDEO, URUGUAY.
- (6) MODELACIÓN Y ANÁLISIS DE RECURSOS NATURALES, CURE, UDELAR, ROCHA, URUGUAY.
- (7) BIOQUÍMICA-DEPBIO, FACULTAD DE QUÍMICA, UDELAR, MONTEVIDEO, URUGUAY.
- (8) INSTITUTO DE INVESTIGACIONES PESQUERAS, FACULTAD DE VETERINARIA, UDELAR, MONTEVIDEO, URUGUAY.
- (9) INMUNOLOGÍA-DEPBIO, FACULTAD DE QUÍMICA, UDELAR, MONTEVIDEO, URUGUAY.

## RESUMEN

Las floraciones de cianobacterias tóxicas son un problema mundial. La eutrofización antrópica y la generación de embalses han promovido su desarrollo en la Cuenca del Plata, favoreciendo principalmente al complejo *Microcystis aeruginosa* (CMA). En este trabajo describimos las floraciones excepcionales de CMA ocurridas en el verano 2019 en la costa del Río de la Plata y Atlántica de Uruguay y discutimos sus mecanismos moduladores con base en datos biológicos, meteorológicos y oceanográficos de muestreos, imágenes satelitales y reanálisis. Las floraciones fueron extensas (Carmelo a Rocha; 500 km) y persistentes (ca.: 4 meses). En todos los casos fueron organismos del CMA con estructura genética similar y su presencia estuvo asociada a niveles cuantificables y elevados de microcistina. En base a las características

oceanográficas y la similitud genética entre los organismos, se hipotetiza que las floraciones tienen un origen común, probablemente asociado a tributarios con alta carga de nutrientes y alto tiempo de residencia del agua en la Cuenca baja del Plata. Las precipitaciones extremas generaron caudales récord que transportaron las cianobacterias hasta el Río de la Plata, donde las condiciones de viento y temperatura particulares facilitaron su transporte y arribo a la costa de Rocha, llegando a ambientes de relevancia para la conservación (e.g. Laguna de Rocha).

**PALABRAS CLAVE:** complejo *Microcystis aeruginosa*, verano 2019, microcistinas, *mcyJ* genes, extremos de lluvias y caudales.

## ABSTRACT

Cyanobacterial toxic blooms are a worldwide problem. In Río de la Plata basin, anthropic eutrophication and dam construction have promoted an increase in cyanobacteria blooms, especially those of the *Microcystis aeruginosa* complex (CMA). Here, we describe the exceptional blooms observed in the summer of 2019 on the coast of Río de la Plata and Atlantic coast of Uruguay. We discuss the main driving mechanisms using biological, meteorological and oceanographic sampling data, satellite images and reanalysis. The blooms covered a wide surface (Carmelo to Rocha; 500 km) and were persistent in time (ca. 4 months). Blooms were generated by CMA organisms having similar genetic structure and were associated to quantifiable and high microcystin concentrations. Given the observed oceanographic conditions and the similarity in organisms traits, we hypothesized that blooms had a common origin, probably associated with zones with high nutrient concentrations and high water residence time in the lower Río de la Plata basin. Extreme precipitations induced high water flows that transported cyanobacteria blooms downstream. In addition, anomalous wind and temperature conditions facilitated their arrival to the Atlantic coast along Rocha, to environments with particular relevance for biodiversity and conservation (e.g. Rocha coastal lagoon).

**KEYWORDS:** *Microcystis aeruginosa* complex, summer 2019, microcystins, *mcyJ* genes, precipitation and water flow extremes.

## INTRODUCCIÓN

### Floraciones de cianobacterias

La eutrofización y los cambios globales en el uso de la tierra favorecen y aumentan la intensidad y frecuencia de las floraciones de cianobacterias tóxicas, pudiendo además potenciar la dispersión de algunas especies nocivas (Paerl y Huisman, 2008; Huisman, et al., 2018). Este es el caso de *Microcystis aeruginosa* y otras especies (*M. flos-aquae* y *M. novacekii*, entre otras) y géneros similares (e.g.; *Radiocystis*, *Sphaerocavum*), que comparten características fenotípicas y origen filogenético y se agrupan en el complejo *Microcystis aeruginosa* (CMA) (Komárek y Komárková,

2002; Otsuka, et al., 2000). El CMA es frecuente en cuerpos de agua continentales y costeros del mundo (Harke, et al., 2016), de la región (Andrinolo, et al., 2007; Dörr, et al., 2010; Sathicq, et al., 2015; O'Farrell, et al., 2012; Bordet, et al., 2017; Aguilera, et al., 2018) y de nuestro país (Ferrari y Vidal, 2006; Vidal y Britos, 2012; González-Piana, et al., 2017). Estas floraciones producen en general cianotoxinas, que son denominadas microcistinas y son primariamente hepatotóxicas (De León y Yunes, 2001; Brena, et al., 2006; Andrinolo, et al., 2007; Feola, et al., 2010; Pérez, et al., 2013; Bonilla, et al., 2015; Kruk, et al., 2015). Asimismo, tienen efectos negativos sobre la salud ambiental y humana, principalmente asociados a su exposición (Giannuzzi, et al., 2011; Vidal, et al., 2017). Por estos motivos se torna fundamental evaluar sus mecanismos moduladores como forma de generar acciones para mitigar y prevenir sus efectos adversos (Ibelings, et al., 2016).

### **Cuenca del Plata: floraciones, usos de suelo, embalses**

La Cuenca del Plata, que alimenta al Río de la Plata y descarga en el océano Atlántico, es la segunda en extensión de América del Sur y abarca aproximadamente  $3,2 \times 10^6$  km<sup>2</sup> (Guerrero, et al., 1997). En ella habitan cerca de 150 millones de personas distribuidas en cinco países y se ubican cuatro grandes capitales (Achkar, et al., 2015). La cuenca se caracteriza por drenar zonas con intensa producción agroindustrial asociada a un uso elevado de fertilizantes y plaguicidas (García-Alonso, et al., 2017). Durante los últimos 50 años en esta cuenca se ha registrado un incremento en las lluvias, lo que sumado a las modificaciones en los usos del suelo ha determinado un aumento importante en los caudales de sus tributarios (Barros, et al., 2014). En este contexto, las sustancias químicas utilizadas en la producción agropecuaria llegan en forma directa y difusa a los cuerpos de agua por escorrentía, mientras que los desechos de asentamientos humanos llegan en forma puntual y ambos quedan disponibles como nutrientes para las microalgas y cianobacterias (fitoplancton; Nagy, et al., 2002; Goyenola, et al., 2015; Rodríguez-Gallego, et al., 2017; Cardini, et al., 2017). Paralelamente, en los tributarios de la Cuenca del Plata se han construido al menos 70 grandes embalses (Achkar, et al., 2015). En ellos, el agua enriquecida en nutrientes que corre en los ríos es retenida, generando condiciones que favorecen la acumulación de cianobacterias de gran tamaño y la ocurrencia de floraciones (Wang, et al., 2018). En estas condiciones, las cianobacterias del CMA son las más frecuentes (Reynolds, et al., 2002; Debastiani, et al., 2016; Haakonsson, et al., 2017; Adloff, et al., 2018; González-Piana, et al., 2017). Esto transforma a los embalses en fuentes potenciales de cianobacterias, que en condiciones de lluvias muy intensas pueden ser transportadas aguas abajo, distribuyendo las grandes biomasas o inoculando nuevos ecosistemas (Anderson, et al., 2018).

Los organismos del CMA forman colonias mucilaginosas con un amplio rango de tamaños (Harke, et al., 2016; Joung, et al., 2006; Reynolds, et al., 2002; Kruk, et al., 2017). Son típicos de ambientes dulceacuícolas de aguas quietas, como los lagos y embalses, pero pueden crecer en condiciones estuarinas y tolerar salinidades cercanas

a las observadas en ambientes marinos (Tonk, et al., 2007; Robson y Hamilton 2003; Lehman, et al., 2005; Lehman, et al., 2017). En el caso de los sistemas que forman parte de la cuenca del Plata, como lo son el río Uruguay y el Río de la Plata, las condiciones de elevada concentración de nutrientes y alto tiempo de residencia, la salinidad y la temperatura son los principales moduladores ambientales de la distribución, diversidad específica, biomasa, actividad celular y producción de toxinas del CMA (Martínez de la Escalera, et al., 2017; Kruk, et al., 2017). Dentro del CMA, la abundancia de poblaciones con genes que codifican para microcistinas es favorecida en ambientes de elevado estado trófico y altas temperaturas (Martínez de la Escalera, et al., 2017). Debido a la presencia de aerotopos en sus células y a la formación de colonias mucilaginosas, los organismos del CMA son capaces de controlar su posición en la columna de agua, formando floraciones superficiales en situaciones de viento moderado a suave y bajo flujo de agua (Harke, et al., 2016; Segura, et al., 2017). Esta capacidad les permite recuperarse rápidamente luego de procesos de mezcla en aguas salobres y que su arrastre sea efectivo por cientos de kilómetros (Kruk, et al., 2017; Martínez de la Escalera, et al., 2017; Forastier, et al., 2016).

Los embalses y los cuerpos de agua que registran más floraciones en la Cuenca del Plata, en particular en el área de influencia de la costa de Uruguay, son aquellos cuyas cuencas de drenaje incluyen una producción agrícola intensiva (Aguilera, et al., 2018; Debastiani et al., 2016). Este es el caso de los embalses en los tributarios del Plata, como por ejemplo el río Uruguay (Salto Grande: Bordet, et al., 2017), Río Negro (González-Piana, et al., 2017) y río Paraná (Adloff et al., 2018). Alternativamente, los remansos de los ríos, con adecuada temperatura, salinidad y luz, también pueden actuar como fuentes de desarrollo de organismos que, en función de variables hidrológicas y climáticas, podrían ser arrastrados hacia zonas con condiciones menos adecuadas para el crecimiento, como los ambientes estuarino-marinos. Describir estos procesos y su efecto en la dinámica espacio-temporal del CMA es necesario para entender su comportamiento y predecir eventos en el futuro.

## Objetivos y estrategia

En este trabajo describimos las principales características de las floraciones de cianobacterias registradas en el verano del 2019, una de las floraciones de mayor intensidad registrada en la costa estuarina y Atlántica de Uruguay. Analizamos las condiciones ambientales en las que ocurrieron y evaluamos los principales mecanismos moduladores. Se discuten dos hipótesis de trabajo respecto al origen de estas floraciones: una hipótesis sobre origen autóctono y otra sobre origen alóctono. En la primera, el evento se habría asociado al crecimiento *in situ* de cianobacterias en diversos puntos costeros del Río de la Plata, en zonas con condiciones ambientales apropiadas (e.g.: salinidad, temperatura y nutrientes). En la segunda hipótesis se propone que el incremento de biomasa local es el resultado del transporte de grandes densidades de cianobacterias desde tributarios de la

cuenca. Esto incluye a tributarios pequeños a lo largo de la costa o a los grandes tributarios de la cuenca: los ríos Paraná y Uruguay.

El análisis incluye diferentes niveles espaciales y temporales; una caracterización meteorológica de la Cuenca del Plata (lluvias, vientos y temperatura); el análisis de la dinámica asociada a los caudales y niveles hidrológicos de los ríos Paraná y Uruguay, incluyendo su descarga en el Río de la Plata (RdlP), y el efecto del manejo de los embalses artificiales (i.e. apertura de compuertas). A nivel local, se evalúan variables oceanográficas y la presencia de floraciones, composición específica, concentración de microcistinas y genes que las codifican en muestreos en playas de la costa de Montevideo y de Rocha, en transectas perpendiculares a la costa y en distintos tributarios y ecosistemas costeros.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La estrategia de análisis de este trabajo combinó una revisión de información histórica y actual de variables analizadas durante monitoreos de calidad de agua, así como también variables hidrológicas y climáticas, recabadas por distintas instituciones del país y la región. Esta información fue complementada con observaciones realizadas durante el evento del verano de 2019 en las playas y otros ambientes costeros afectados (e.g. lagunas costeras). Se construyó un modelo conceptual a partir de los diferentes indicadores físicos, químicos y biológicos que permitieron reconstruir el evento del verano 2019 y sus procesos moduladores a distintas escalas espaciales.

### Datos de monitoreos de rutina en playas de Montevideo y Rocha

Los monitoreos regulares realizados en playas de Montevideo y Rocha registran temperatura y salinidad en el agua e incluyen la toma de muestras para su posterior procesamiento biológico. En Montevideo, el Departamento de Desarrollo Ambiental de la Intendencia (IM) realiza muestreos cuatro veces por semana en 21 playas, desde Punta Espinillo hasta playa Miramar, desde el año 2000 a la fecha (Risso, et al., 2018). En cada playa se hace una inspección visual de presencia o no de espuma (manchas verdes visibles desde la costa) y presencia o no de colonias cianobacterianas (observación de colonias al acercarse al agua o dentro de ella). Las colonias que son reconocidas visualmente corresponden mayoritariamente a organismos de CMA, ya que estos alcanzan colonias de gran tamaño con decenas de miles de células envueltas por mucilago (Kruk et al., 2018; Segura et al., 2018). Además, se toman muestras de agua superficial que son guardadas en la oscuridad a 4 °C para la estimación de clorofila-*a* por método espectrofotométrico. Se toman muestras de agua para evaluar la concentración de microcistinas, que son congeladas hasta su procesamiento.

En Rocha, el Departamento de Bromatología de la Intendencia Departamental (IDR) realiza muestreos en siete playas (Balcónada, Costa Azul, La Pedrera,

Aguas Dulces, Punta del Diablo, La Coronilla, Barra del Chuy), en forma quincenal (MVOTMA-DINAMA, 2017). La Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (DINARA) realiza muestreos semanales en seis puntos, cubriendo playas de toda la costa del departamento de Rocha (Los Botes, Arachania, Arroyo Valizas, Aguas Dulces, Punta del Diablo y Barra del Chuy), donde se registra temperatura y salinidad, y se toman muestras de agua superficial para análisis de fitoplancton (fijadas con solución Lugol) desde el año 2011. A su vez, se incluye un punto de monitoreo en la proximidad del puerto de La Paloma donde se realizan mediciones de temperatura y salinidad dos veces por día y un monitoreo mensual de esos mismos parámetros en las lagunas costeras de los departamentos de Rocha y Maldonado. Se consideraron para este trabajo los registros y observaciones obtenidas entre enero y marzo de 2019. Los monitoreos realizados por las tres instituciones fueron diseñados con distintos objetivos, pero en todos los casos son capaces de identificar la presencia visible de cianobacterias.

## Muestreo en Montevideo y Rocha

En forma paralela a los muestreos de rutina realizados por IM, DINARA e IDR se realizaron muestreos especiales durante el verano 2019 en la costa de Rocha y Montevideo. El relevamiento en Rocha involucró 24 sitios, que incluyen playas oceánicas y lagunas costeras (Laguna de José Ignacio, Laguna de Rocha, Laguna de Castillos, Laguna Negra y desembocadura del arroyo Valizas). En 11 playas de La Paloma se realizó un seguimiento diario posterior a la aparición de las cianobacterias. En Montevideo se hicieron muestreos adicionales en cinco playas representativas (La Colorada, Cerro, Ramírez, Pocitos y Malvín) donde se tomaron muestras para análisis cualitativos y cuantitativos de fitoplancton que fueron fijadas con lugol y formol, y otras congeladas para la evaluación de microcistinas y presencia de genes *mcyJ*. Se realizaron además dos transectas, una en Montevideo y otra en La Paloma, donde se tomaron muestras en cinco puntos de cada una. En Montevideo la transecta fue desde el puerto hacia la Isla de Flores, con puntos cada  $\sim 7$  km, y en La Paloma, desde el Puerto hacia el bajo Falkland, cada  $\sim 0,7$  km. En ambas se registró la salinidad y la temperatura con un CTD y se tomaron muestras de agua para los análisis biológicos mencionados anteriormente.

## Análisis de muestras: conteos, microcistinas y genes

El análisis de las muestras cualitativas de fitoplancton consistió en la identificación de especies y el análisis morfológico bajo microscopio óptico. La determinación de microcistinas totales (soluble e intracelular) se realizó mediante un ensayo de ELISA policlonal en laboratorio (Pírez, et al., 2013). Para la ruptura celular se realizaron tres ciclos de congelado y descongelado. Las muestras se filtraron por filtros de fibra de vidrio de 1  $\mu\text{m}$  de poro y se analizaron por triplicado, en forma directa o mediante diluciones seriadas. Estas muestras también fueron utilizadas para los análisis genéticos.

## Extracción de ADN

Se filtraron 150-400 mL de agua a través de filtros de membrana de celulosa de 0,45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro y los filtros se almacenaron en placas de Petri estériles a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Para la extracción de ADN se empleó el método descrito en Martínez de la Escalera et al. (2017).

## HRM análisis (HRMA)

Para evaluar la presencia de distintos genotipos *mcyJ* se amplificó este gen por PCR cuantitativo en tiempo real (qPCR), utilizando los *primers* descritos por Kim et al. (2010) y empleando el kit MeltDoctor (Invitrogen). Posteriormente se realizó un análisis de *melting* de alta resolución de los amplicones (HRMA) (Lepillanca, et al., 2018; Martínez de la Escalera, et al., 2019).

## Reconstrucción temporal y espacial del evento

Se reconstruyó la dinámica espacial y temporal de la ocurrencia de las floraciones. Para ello, se combinaron datos de los monitoreos de playas de DINARA, IDR e IM obtenidos entre enero y marzo. Asimismo, se relevó información disponible en el Observatorio Nacional Ambiental de MVOTMA-DINAMA sobre la ocurrencia de floraciones (MVOTMA-OAN, 2019) y los informes de vigilancia de playas realizados en el Río Uruguay por CARU (CARU, 2019a). En ambos programas de monitoreo se registra la presencia de floraciones. El primero se realiza en la costa estuarina y oceánica de Uruguay a través del sistema de vigilancia visual de floraciones de cianobacterias (MVOTMA-DINAMA, 2017) (Tabla 1), mientras que el segundo corresponde al río Uruguay y utiliza la clasificación de CARU (e.g.: CARU, 2019a) (Tabla 1). También se obtuvo información a partir del monitoreo de calidad de agua de lagunas costeras, realizado por el CURE en convenio con MVOTMA, OSE, Intendencia Departamental de Rocha y DINARA. Se tuvieron en cuenta comunicaciones ocasionales de presencia de organismos del CMA realizadas por guardavidas, guardaparques (Laguna de Rocha, SNAP) y vecinos, que fueron confirmadas mediante la visita al sitio y el análisis de muestras. Se evaluaron también pequeños tributarios en las inmediaciones de las playas afectadas donde se tomaron muestras para evaluación de presencia de CMA.

**TABLA 1.** Comparación de los diferentes niveles de riesgo y alerta utilizados por la Comisión Administradora del río Uruguay (CARU) en el río Uruguay y los estados posibles de la playa definidos por el Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente (MVOTMA) en la costa del RdIP y costa atlántica. El contenido de la tabla fue adaptado de las fuentes consultadas.

	CARU	MVOTMA
<b>Apta</b>	<p>Vigilancia. El agua tiene un aspecto limpio sin floraciones o colonias cianobacterianas visibles.</p> <p>Clorofila-<i>a</i>: &lt; 10 µgL<sup>-1</sup></p> <p>Cianobacterias: &lt; 5000 céls mL<sup>-1</sup></p> <p>Ausencia de espuma</p> <p>Microcistina: &lt; 2 µgL<sup>-1</sup></p> <p><b>Puede utilizarse para uso recreativo</b></p>	<p>0 - ausencia de cianobacterias visibles. No se visualiza presencia de colonias de cianobacterias en el agua (no hay manchas verdosas, ni tampoco aspecto de «yerba dispersa» al acercarse al agua, ni en la orilla)</p> <p><b>Playa apta para baños</b></p>
<b>Nivel 1</b>	<p>Alerta 1. Si el agua tiene una apariencia de «yerba dispersa» o de una masa verde brillante, ello indica que hay floraciones cianobacterianas de baja a media densidad</p> <p>Clorofila-<i>a</i>: 10 – 50 µgL<sup>-1</sup></p> <p>Cianobacterias: 5000 – 50000 céls mL<sup>-1</sup>.</p> <p>Ausencia de espuma</p> <p>Microcistina: 2 – 10 µgL<sup>-1</sup></p> <p><b>Hay riesgo en el uso recreativo; si se toma un baño, lavarse con agua limpia a la salida y tomar las precauciones correspondientes</b></p>	<p>1 - presencia de colonias de cianobacterias dispersas. Apariencia de «yerba dispersa». Se observan al acercarse mucho al agua o al ingresar.</p> <p><b>Si entra en contacto, lavarse con agua limpia, hasta retirar cualquier resto en ropa o piel</b></p>
<b>Nivel 2</b>	<p>Alerta 2. Si en el agua y la orilla se observa una masa pastosa verde oscuro amarillada, hay floraciones, con cianobacterias vivas y muertas, con lo que aumenta la posibilidad de toxinas en el agua.</p> <p>Clorofila-<i>a</i>: &gt; 50 µgL<sup>-1</sup></p> <p>Cianobacterias: &gt; 50000 céls mL<sup>-1</sup></p> <p>Presencia de espuma</p> <p>Microcistina: &gt; 10 µg L<sup>-1</sup></p> <p><b>Se recomienda no bañarse</b></p>	<p>Floración: masa pastosa o espuma con aspecto de pintura verde oscura</p> <p>Bandera sanitaria</p> <p><b>Se recomienda no bañarse</b></p>

## Datos climáticos e hidrológicos

Durante el evento las condiciones climáticas se analizaron con productos de diferentes bases de datos de libre acceso. La temperatura superficial del mar se analizó a partir del producto satelital de datos grillados del «Grupo de alta resolución de temperatura superficial del mar» (GHRSSST, <https://www.ghrsst.org/>). Más información y su uso previo en Uruguay se pueden encontrar en Manta y Alcántara (2018). Las imágenes MODIS-AQUA «true color» se obtuvieron para los días despejados y se descargaron del sitio web <https://worldview.earthdata.nasa.gov> (Savtchenko,

et al., 2004). Los datos de precipitación provienen del producto GPM IMERG Late Precipitation L3, de resolución temporal diaria y espacial de  $0,1^\circ \times 0,1^\circ$  versión 05, (NASA Goddard Earth Sciences, Global Precipitation Measurement Mission: GPM, Integrated Multi-Satellite Retrievals for GPM: IMERG, <https://disc.gsfc.nasa.gov/>; Huffman, et al., 2015). Los datos de viento y temperatura del aire provienen del reanálisis NCEP/NCAR (National Centers for Environmental Prediction/National Center for Atmospheric Research), con resolución espacial de  $2,5^\circ \times 2,5^\circ$  y resolución temporal diaria (Kalnay, et al., 1996). Las anomalías fueron calculadas en base a la climatología 1981-2010 (<https://www.esrl.noaa.gov>).

A partir de Jaime y Menéndez (2002) y de la actualización de Borús (comunicación personal), se obtuvo información de los caudales diarios (Q) del RdIP desde enero a marzo, estimados como la suma de sus principales tributarios (Palmas, Uruguay, Guazú,  $m^3s^{-1}$ ). Se consideraron también los caudales erogados (turbinado más vertido) y las fechas de inicio y finalización de vertido (apertura de compuertas) en los embalses de Salto Grande (río Uruguay) y de Palmar (Constitución, Río Negro). La información de Salto Grande fue aportada por la Comisión Técnica Mixta (CTM) de Salto Grande y la información de balance hidráulico (2014 a 2019) del Río Negro para la Central Constitución fue brindada por la empresa de Usinas y Transmisiones Eléctricas (UTE). La información meteorológica de Uruguay fue cedida por el Instituto Uruguayo de Meteorología (INUMET). Para evaluar el estado de descarga de la represas como posibles fuentes de cianobacterias desde los grandes tributarios de la Cuenca del Plata se utilizaron reportes de la Secretaría de Infraestructura y Política Hídrica del Instituto Nacional del Agua, obtenidos a través del Sistema de Información y Alerta Hidrológico de la Cuenca del Plata (INA, 2019). Se consideraron los embalses más cercanos a la desembocadura en el RdIP: Salto Grande ( $\sim 281$  km hasta la desembocadura del río Uruguay en el RdIP), Yacyretá (ca. 1300 km hasta la desembocadura el río Paraná en el RdIP) e Itaipú (ca. 1800 km hasta la desembocadura el río Paraná en el RdIP). Estos reportes también fueron utilizados para recabar información sobre el estado de descarga de distintos tramos de los ríos Paraná y Paraguay en la cuenca media del Plata y los niveles hídricos en distintas estaciones (INA, 2109), así como los informes de crecida del río Uruguay y sus efectos sobre la altura de los puertos (CARU, 2019b).

## Análisis de datos

Se compararon los valores de salinidad y temperatura en las playas de Montevideo y Rocha del período enero-febrero-marzo (EFM) 2019, con los valores históricos registrados en los respectivos monitoreos. Las playas de Montevideo fueron clasificadas, según su ubicación en el espacio, en playas al oeste (e.g.: Pajas Blancas), al centro (e.g.: Ramírez) y al este (e.g.: Carrasco, Miramar).

Se evaluaron las similitudes entre los perfiles de melting del HRMA del gen *mcyJ*, entre las distintas playas de Montevideo y Rocha, con muestras obtenidas previamente en el embalse de Salto Grande (enero y diciembre del verano 2013) y en el embalse de Baygorria, dispuesto sobre el Río Negro (marzo 2013). Para ello se

realizaron análisis de clasificación jerárquicos, utilizando la medida de divergencia de Kullback-Leibler (KL), una medida no simétrica de la similitud o diferencia entre dos funciones de distribución de probabilidad. La divergencia de KL sirvió para caracterizar la distancia entre todos los pares de distribuciones de HRMA, utilizando el paquete de R «entropy» (Hausser y Strimmer, 2014). Esta medida de la divergencia ha permitido estimar la discordancia entre funciones en oceanografía (Nerini y Ghattas, 2007). Con la matriz de divergencias de KL se construyó un árbol aplicando el método de Ward con la función «hclust» de R (R Core Team, 2018).

## RESULTADOS

### Descripción inicial del evento

En el verano 2019, los primeros registros de floraciones cianobacterianas intensas o «espuma» en la costa uruguaya del RdIP fueron en el departamento de Colonia. Estos registros ocurrieron en los balnearios Zagarzazú y El Ensueño, durante los días 15 y 16 de enero, respectivamente (Figura 1). En Colonia, las floraciones se registraron al menos hasta el 11 de marzo. El 9 de enero la CARU registró un nivel de alerta 1 en el río Uruguay a la altura de Nueva Palmira, luego de al menos un mes de estado de vigilancia (Tabla 1). En Montevideo, los primeros registros de floraciones con espuma realizados por la IM correspondieron al 28 de enero y la presencia de colonias visibles y espuma cianobacteriana en remansos o resaca se mantuvo hasta la primera semana de mayo, alcanzando casi cuatro meses de duración. En La Paloma, Rocha, guardavidas de las playas de Balconada, Los Botes y Bahía Grande observaron el 30 de enero la presencia de espuma, mientras que guardaparques y vecinos realizaron similares observaciones el 31 de enero en la Laguna de Rocha. Ese día se inició por primera vez en el departamento de Rocha un Programa de Vigilancia de Floraciones, que incorporó el uso de banderas sanitarias en las playas afectadas. A partir del 31 de enero hubo una rápida disminución de las cianobacterias en las playas de Rocha y el 2 de febrero las playas fueron declaradas como aptas para baños. La extensión total del evento fue de aproximadamente 500 km de la costa comprendida entre Colonia y Rocha.

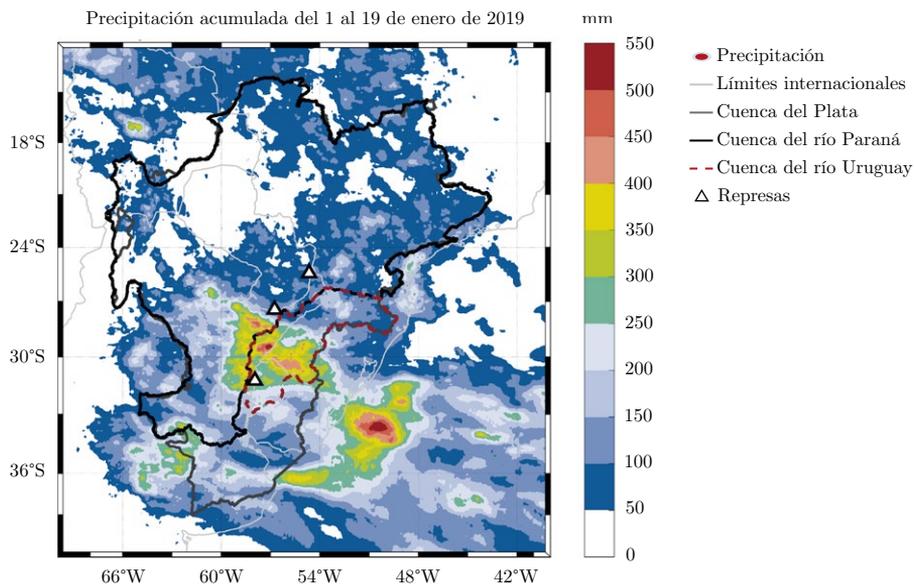


**Figura 1.** Representación de la distribución espacio-temporal (día/mes) de las floraciones cianobacterianas en la costa estuarina y oceánica de Uruguay en el verano de 2019. 1) Nueva Palmira: 9/1; 2) Balneario Zagarzazú: 15/1 y Colonia 16/1; 3) Montevideo 28/1; 4) Maldonado 29/1 y 5) Rocha La Paloma 30/1. A) El Ensueño, Colonia (foto Myriam Ducassou); B) vista aérea de la costa de Montevideo 10/2 (foto Andrés Marín); C) Rambla de Montevideo; D) vista aérea playa de Piriápolis (foto Marcelo Umpierrez); E) playa La Balconada zona cercana al Faro de La Paloma (30/1), y F) muestra tomada por guardaparques en Laguna de Rocha (31/1).

### A nivel de la región: condiciones hidroclimáticas

Los primeros 19 días de enero presentaron un acumulado de lluvias extraordinario, con valores máximos de 550 mm en la cuenca media del río Uruguay, que abarca el Norte de Uruguay y las zonas aledañas de Brasil y Argentina (Figura 2). Esto resultó en mayores precipitaciones al norte y en el litoral de Uruguay, con grandes máximos acumulados, principalmente en Artigas, Salto, Paysandú y Río Negro (Figura 2). En promedio, en enero llovieron a nivel nacional 295 milímetros, con un récord histórico de precipitación acumulada durante enero en Artigas, de 763 mm, y un mínimo de 77 mm en el departamento de Colonia (INUMET, 2019a).

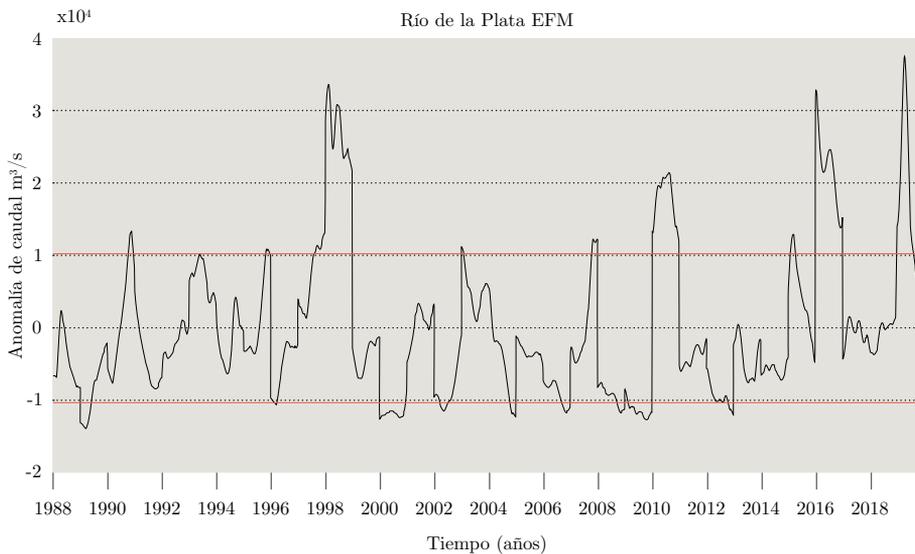
Luego de las precipitaciones, en la región y particularmente sobre Uruguay ocurrieron dos eventos de ola de calor, definidos como tal por el INUMET. En ellos los valores de temperatura máxima y mínima se mantuvieron por encima del percentil 90 durante tres o más días consecutivos (INUMET, 2019b). El primer evento tuvo lugar desde el 27 al 31 de enero, mientras que el segundo ocurrió desde el 19 al 23 de febrero.



**Figura 2.** Acumulado de precipitación desde el 1° al 19 de enero de 2019 (hidroestimador satelital GPM IMERG). En la figura se delimitan en gris oscuro la Cuenca del Plata, en negro la Cuenca del río Paraná y en rojo con línea punteada la Cuenca del río Uruguay. Los triángulos indican la ubicación de grandes represas hidroeléctricas; de Norte a Sur estas son: 1) Itaipú, 2) Yacyretá y 3) Salto Grande.

Las precipitaciones registradas durante los primeros días de enero derivaron en un valor de caudal diario del RdIP durante el trimestre enero-febrero-marzo (EFM) que fue récord para los últimos 30 años. La descarga del RdIP fue de  $61846 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ , lo que representó una anomalía positiva de  $37950 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$  y con máximos entre el 19 y el 31 de enero superiores a los máximos del valor medio climatológico (climatología 1988-2018; Figura 3). El máximo valor de caudal ( $Q = 61846 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ ), registrado el 25 de enero, se situó 2,6 veces por encima de la media climatológica histórica indicada para ese día.

El máximo caudal del RdIP tuvo un aporte importante del río Uruguay ( $Q = 37143 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ ) seguido por aporte del río Paraná Guazú ( $Q = 17724 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ ) y el del Paraná de las Palmas ( $Q = 6979 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ ; Figura 4). En particular, el río Uruguay presentó caudales medios diarios récord para el trimestre EFM y un desfase de siete días entre el momento del máximo caudal del río Uruguay en Salto Grande y el máximo caudal del RdIP.

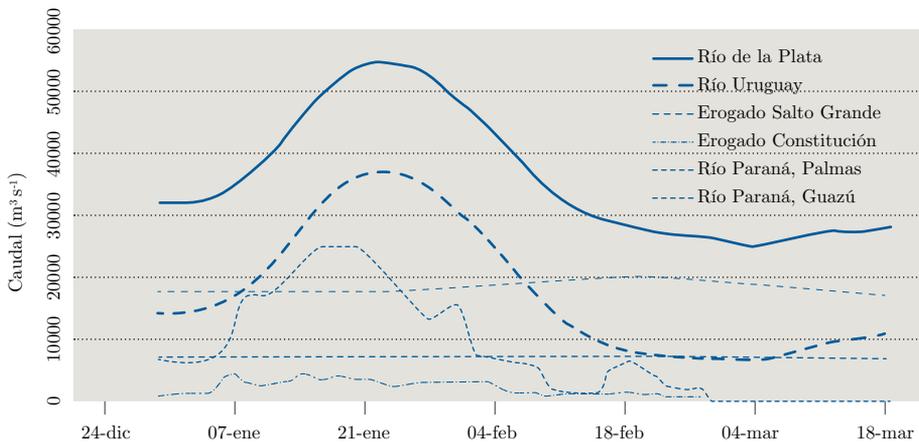


**Figura 3.** Serie histórica diaria de anomalía de caudal ( $\text{m}^3\text{s}^{-1}$ ) del Río de la Plata para los trimestres enero-febrero-marzo, del período 1988-2019 (INA, 2019). Las líneas rojas indican  $\pm$  una desviación estándar.

Las represas cercanas a las zonas de mayor precipitación fueron Salto Grande, Yacyretá e Itaipú, y las represas sobre el Río Negro, aunque las lluvias se concentraron principalmente sobre el área de descarga del embalse de Salto Grande (Figura 2). En las primeras semanas de enero este embalse recibió un aporte promedio desde la cuenca alta del río Uruguay de  $2300 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ . En forma paralela, la descarga desde el río Paraguay hacia el río Paraná se encontraba en disminución ( $4700 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ ). Hacia el 14 de enero la descarga en Itaipú, el embalse más alejado, estaba estabilizada ( $10000 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ ), mientras que en Yacyretá ( $14000 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ ) y en Salto Grande ( $23000 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ ) mostraban un aumento en relación a los días previos, especialmente en esta última. El aporte total al embalse de Salto Grande fue máximo el 18 de enero ( $28200 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ ). Para evitar las inundaciones, a partir de valores de caudal de entrada de  $10000 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$  se procedió a la apertura de compuertas en el embalse de Salto Grande, lo que ocurrió entre el 8 de enero y el 3 de febrero (Figura 4). El caudal máximo vertido durante el período estudiado fue de  $25.177 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$  (Figura 4). Las alertas de floraciones emitidas por la CARU en el río Uruguay muestran una mayor frecuencia de alertas con mayor nivel (rojo) en la zona aguas arriba del embalse antes de la apertura (08/01) de las compuertas y posteriormente aguas abajo, en particular en la zona de Nueva Palmira, al día siguiente de la apertura de compuertas, con un primer registro en esta zona el 9 de enero.

El Río Negro, que aporta sus aguas al río Uruguay, también tuvo un incremento importante de caudal durante el período EFM, llegando a un caudal vertido máximo de  $4458 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$  en Constitución (último embalse antes de la desembocadura en río Uruguay). Durante el período de apertura de compuertas alcanzó un caudal

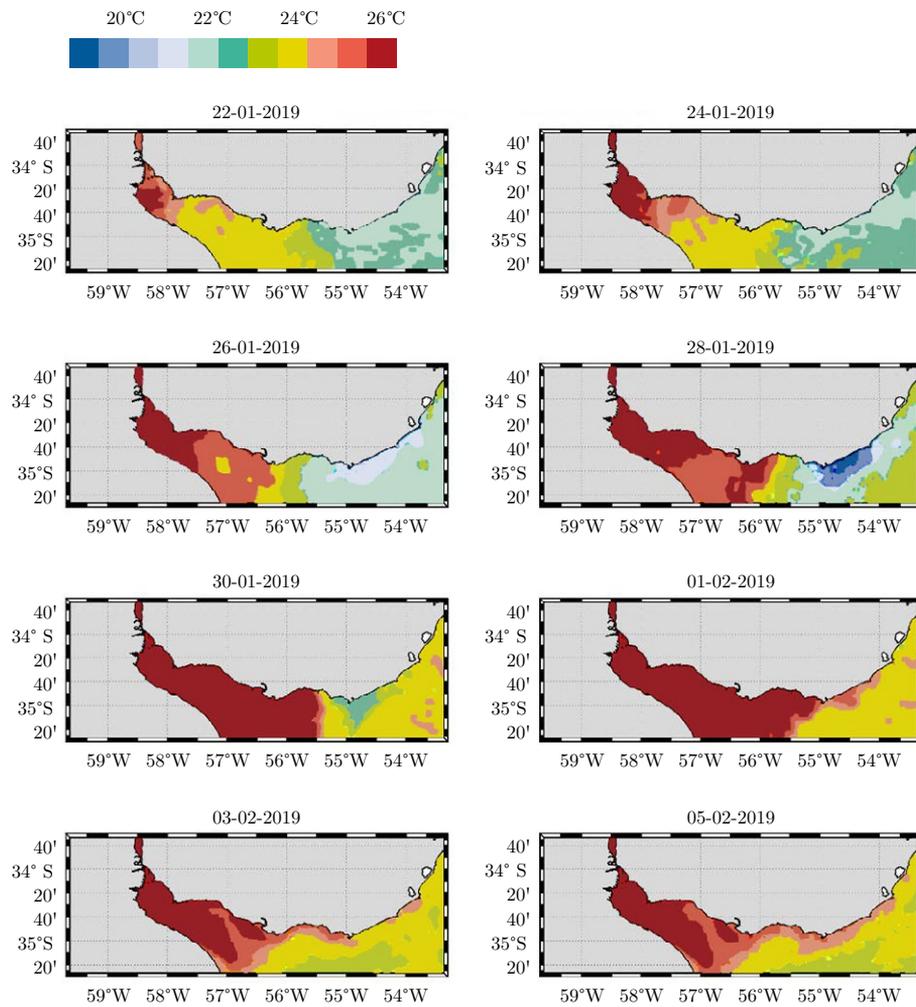
promedio de  $3100 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$  (Figura 4). Al igual que en el embalse de Salto Grande y para optimizar el control de crecidas entre el 8 de enero y el 8 de febrero se abrieron las compuertas en Constitución, para prevenir cotas de alerta (8 enero) y de evacuación (10 enero) en la ciudad de Mercedes. Los volúmenes vertidos por los embalses de Salto Grande y Constitución estuvieron positivamente relacionados con el caudal de aporte hacia el RdIP. El enorme caudal afectó los puertos de Concordia, Colón, Paysandú, Concepción del Uruguay y Boca del Gualeguaychú, más allá de los niveles de alerta y, en algunos casos, de evacuación.



**Figura 4.** Caudales del Río de la Plata y sus principales tributarios (ríos Uruguay, Paraná de las Palmas y Paraná Guazú), incluyendo además caudal vertido en embalse de Salto Grande en el río Uruguay y en el embalse de Constitución en el Río Negro durante la apertura de compuertas.

### Río de la Plata: efectos de los caudales y vientos en la dinámica

Los volúmenes descargados al RdIP afectaron la distribución espacial de las propiedades fisicoquímicas de su agua, con cambios marcados en la temperatura, turbidez y salinidad (Figuras 5 y 6). En la secuencia de imágenes satelitales de temperatura superficial del mar, desde el 22 de enero hasta el 5 de febrero de 2019 se observó el avance de aguas más cálidas desde el interior del estuario hacia la costa atlántica uruguaya (Figura 5). Desde el 22 hasta el 28 de enero, las aguas cálidas avanzaron por el estuario hasta la costa de Canelones mientras que en la región Este se observa una estructura de menor temperatura característica de un evento de surgencia oceánica (Trinchin, 2018). A partir del día 30 de enero se debilita esa estructura de surgencia y las aguas más cálidas se observan en una pluma cercana a la costa que alcanzan La Paloma y zonas más al Este hacia el 5 de febrero. Un patrón similar se observó entre esas fechas para la pluma de turbidez (Figura 6).

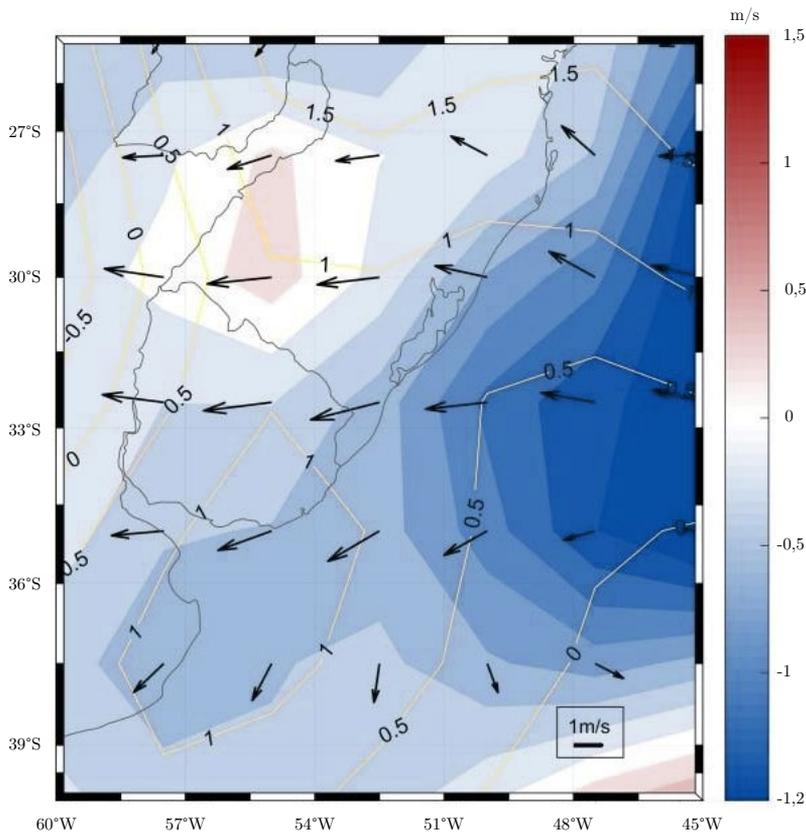


**Figura 5.** Evolución cada dos días de la temperatura superficial del mar (22 de enero al 5 de febrero de 2019), a partir de datos satelitales MUR-GHRSSST.



**Figura 6.** Pluma de descarga marcada por el frente de turbidez del Río de la Plata (arriba corresponde al día 22 de enero y abajo al día 5 de febrero de 2019). Imagen satelital visible del sensor MODIS-AQUA (AERONET-CEILAP-BA-Subset-Aqua-1 km-True-Color).

Desde el 19 de enero hasta el 5 de febrero predominaron las condiciones de viento NE sobre la costa uruguaya (Figura 7). Estos vientos tuvieron la particularidad de presentar una anomalía negativa de intensidad durante ese período. Su magnitud y dirección indican que eran vientos débiles y cálidos. En cuanto a temperatura del aire también se observaron condiciones de anomalía positiva (Figura 7). El momento en que se registra el caudal máximo del RdlP coincide con la ocurrencia del primer evento de ola de calor y condiciones de viento de baja intensidad. La ocurrencia de vientos provenientes del NE explica la presencia de un evento de surgencia de máxima intensidad desde el 26 y hasta el 28 de enero, que culminó por efecto combinado de la debilitación de los vientos y el avance del agua dulce y cálida sobre la costa uruguaya. Este patrón fue registrado remotamente y confirmado con mediciones *in situ* en distintos puntos de la costa uruguaya (Figura 8).



**Figura 7.** Composite de dirección y velocidad del viento (19 enero - 5 febrero de 2019). En azul y rojo se indican la anomalía de velocidad del viento en superficie. Los vectores representan la magnitud y sentido medios de los vientos. En contornos amarillos se indica la anomalía de temperatura del aire a 2 m de altura sobre la superficie del agua.

### Efectos de la dinámica de aguas en las playas del estuario

Los cambios en el frente de turbidez asociados a los altos caudales resultaron en cambios en la salinidad y temperatura de las playas de Montevideo y en la ocurrencia de valores extremadamente bajos de salinidad en las playas de Rocha (Figura 8). En Montevideo, la salinidad varió entre 0,1 y 24,1 y la temperatura entre 21,5 y 32,1 °C, mientras que en Rocha la salinidad estuvo entre 9,8 y 31,9 y la temperatura entre 17,5 y 27 °C. Tanto en Montevideo como en Rocha el comportamiento de la salinidad estuvo asociado a la distribución espacial de las playas, con menores valores en las playas al oeste, valores intermedios para las playas del centro y los máximos valores para las playas del este (Figura 8).

En Montevideo, entre enero y marzo se registró la presencia de cianobacterias en todos los sitios y playas muestreadas (21 playas) y se observó espuma en 17

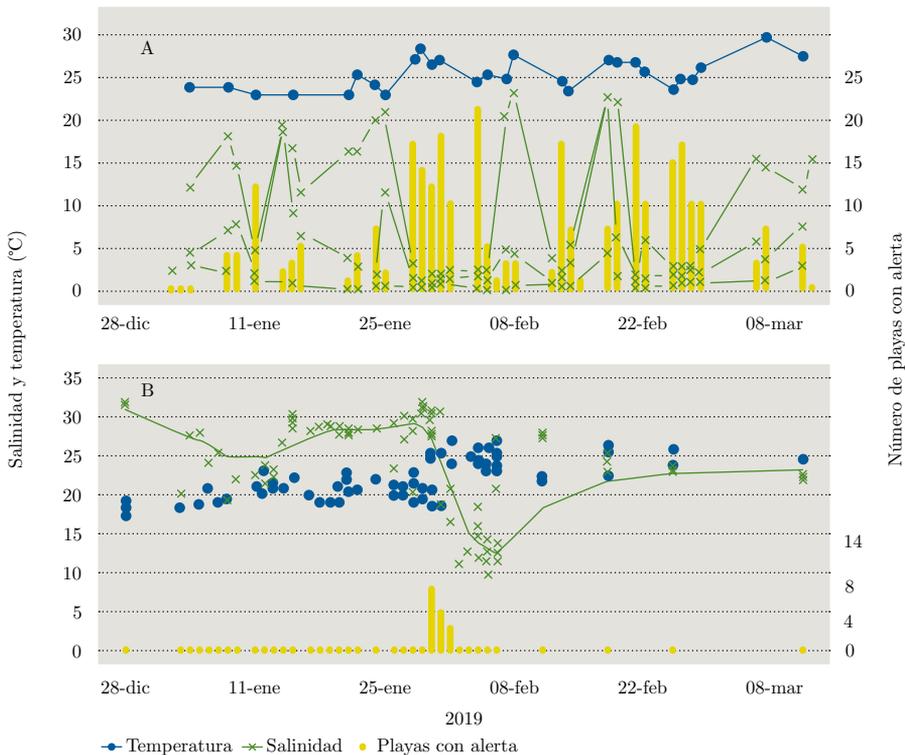
de ellas. El día 4 de febrero se registró presencia o espuma en todas las playas, simultáneamente (Figura 8). La playa más afectada por la presencia de espuma fue la Ramírez, en segundo lugar la playa del Cerro y, en menor medida, las playas Honda, Ingleses, Nacional, Pajas Blancas, Puerto del Buceo, Punta Yeguas, Santa Catalina, Verde y Zabala. En todos los casos, las espumas estaban compuestas por organismos del Complejo *Microcystis aeruginosa* (CMA) y la mayor ocurrencia de espuma estuvo asociada a los menores valores de salinidad (Figura 8). Considerando a las playas en su conjunto, los valores de salinidad y temperatura del verano 2019 en Montevideo no difirieron significativamente de los valores históricos.

La presencia de las cianobacterias del CMA en las playas de Rocha estuvo asociada a una dinámica particular del agua. El primer registro de cianobacterias se presentó con valores de salinidad próximos a 30 (Figura 8). Se observó un patrón espacial, con presencia de cianobacterias y aguas relativamente cálidas ( $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) al Oeste del Puerto y hasta la Laguna de Rocha, mientras que en la zona al Este del puerto no se observaron cianobacterias y agua menos cálida ( $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) (Tabla 1). A partir del 31 de enero se registró una disminución de la salinidad, con un valor mínimo de 9,8 el día 5 de febrero (Figura 8). Los valores de salinidad fueron significativamente menores a los registrados históricamente, para verano, en las playas de Rocha, donde se ha registrado una salinidad media de 28,8 y un rango de 21,1 a 32,2, para los meses de verano (EFM).

Del total de 24 sitios relevados en Rocha, en 17 se confirmó la presencia de floraciones de cianobacterias. Además de las playas oceánicas, estos incluyeron cuatro lagunas costeras: de José Ignacio, de Rocha, de Castillos y Negra y la desembocadura del arroyo Valizas. La mayor intensidad de las floraciones fue observada en un sector de la playa de la Balconada, con presencia de espuma importante. En las piscinas rocosas del Cabito y en Los Botes se observaron acumulaciones de colonias, y en el resto de las playas, colonias dispersas o yerba, contabilizando en total 10 sitios afectados.

Se confirmó mediante microscopía que la presencia o espuma fue causada por organismos del CMA, en su mayoría identificados como *Microcystis aeruginosa*. Las colonias en la Laguna de José Ignacio y Laguna de Rocha fueron similares a las observadas en las playas y su ingreso desde el mar fue observado junto con la intrusión de agua de mar durante la noche del 30 de enero (vecinos y guardaparques Laguna de Rocha, comunicación personal). En Laguna de Castillos y Laguna Negra las floraciones fueron observadas días antes del evento en las playas oceánicas y su origen no se adjudica a las floraciones provenientes del mar. El aporte de la Laguna de Castillos al evento marino de MAC no es probable, pues en dicha laguna se registraron predominantemente cianobacterias filamentosas, principalmente del género *Dolichospermum*. En la Laguna de Garzón no se observaron cianobacterias y durante las floraciones registradas en la costa, la laguna no presentó conexión con el mar. Se registraron un total de 48 casos (sitios y fechas) con presencia de cianobacterias en la zona oceánica de Rocha. No se registraron aportes de organismos del CMA, provenientes de vertientes locales (e.g cañadones). En todos los sitios donde se observó el CMA, a excepción de las lagunas de Castillos y Negra, se

trató de organismos de gran tamaño que formaron colonias identificables a simple vista, alta densidad celular, mucílago claro y denso y aspecto rugoso (Figura 1F).



**Figura 8.** Variación temporal de los valores de salinidad, temperatura y número de floraciones en A) Montevideo y B) Rocha. Se ha representado en barras el número de playas que diariamente presentaban presencia o espuma cianobacteriana en tres playas en Montevideo (Ramírez en el centro de la zona costera, La Colorada al oeste y Miramar al este) (A) y en todas las playas estudiadas de Rocha, en La Paloma (B). Se aplicaron regresiones ponderadas localmente (Lowes) para representar los cambios de salinidad en las playas de La Paloma, Rocha (línea continua verde en B).

## Microcistinas en playas

La concentración de microcistinas en el agua en Montevideo entre enero y marzo varió desde indetectable hasta 3000 mg L<sup>-1</sup>, con un valor medio de 236 mg L<sup>-1</sup> (Tabla 2). El valor máximo fue observado en la Playa Ramírez (31 de enero), asociado a la presencia de espuma cianobacteriana y cuantificación del gen *mcyJ*. Ramírez fue la playa que presentó microcistina detectable en más ocasiones, seguida de Cerro, Punta Espinillo, Pocitos, Honda, Punta Yeguas y Punta Espinillo.

En las muestras de la playa de la Balconada, en la costa de Rocha (30 de enero) se encontraron valores de microcistinas muy similares a los máximos registrados en

la playa Ramírez (2700-2900  $\mu\text{gL}^{-1}$ ). En esas fechas, las lagunas costeras de Castillos y Negra presentaron valores de microcistinas no cuantificables ( $< 0,3 \mu\text{gL}^{-1}$ ) o muy bajos ( $0,5 \mu\text{gL}^{-1}$ ), respectivamente. En la Laguna de Rocha, que se encontraba abierta al mar durante todo el evento, los valores fueron elevados ( $1680 \mu\text{gL}^{-1}$ ), lo que sugiere el ingreso de la floración desde el mar.

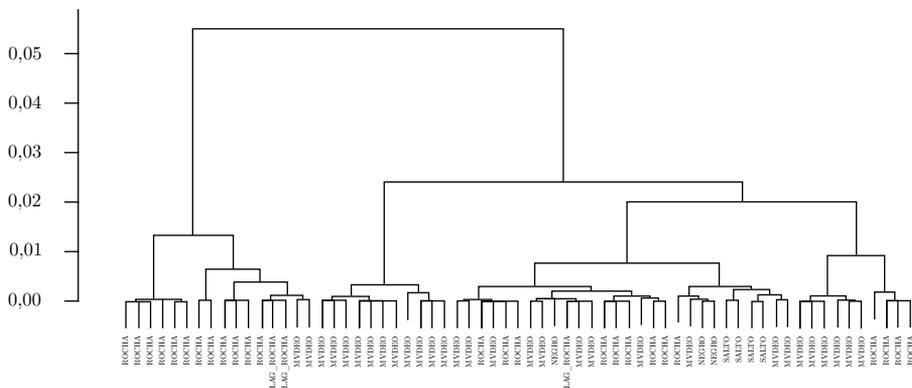
**TABLA 2.** Rangos de concentración de microcistinas registradas en las costas de Montevideo y Rocha, estimados mediante Elisa (Pírez, et al., 2013). NC = No cuantificable ( $< 0,3 \mu\text{gL}^{-1}$ ). Los valores de concentración de microcistinas no están corregidos por la densidad celular, representando la concentración de microcistina en la muestra de espuma, en cada sitio.

Departamento	Sitio	Rango concentración de microcistinas ( $\mu\text{gL}^{-1}$ )
Montevideo	Transecto Puerto – Isla de Flores	$< 0,3$ -220
Montevideo	Playa La Colorada	0,55
Montevideo	Playa Pajas Blancas	NC -1,7
Montevideo	Playa Punta Espinillo	2-69
Montevideo	Playa Punta Yeguas	NC -120
Montevideo	Playa del Cerro	NC-200
Montevideo	Playa Ramírez	NC -3000
Montevideo	Playa Pocitos	NC – 14,3
Montevideo	Playa Malvín	NC
Montevideo	Playa Carrasco	NC
Montevideo	Playa Honda	39-130
Montevideo	Verde	11
Rocha	Playa La Balconada	2690-2900
Rocha	Playa El Cabito	143
Rocha	Laguna de Rocha	1680

### Variabilidad del gen *mcyJ* a lo largo de la floración

Los perfiles de *melting* obtenidos por HRMA fueron utilizados para evaluar si los organismos encontrados en los diferentes sitios a lo largo de la floración pertenecían a la misma población o eran producto de florecimientos locales. Las muestras obtenidas en playas y aguas abiertas de Montevideo y Rocha (30 de enero y el 7 de febrero de 2019) se compararon entre sí y con datos correspondientes a otros períodos (verano 2013) y otras zonas, tales como los embalses de Salto Grande y

Baygorria (Río Negro) (Figura 9). No se halló una distinción marcada en cuanto al origen de las muestras. Por ejemplo, las muestras obtenidas en La Paloma para playas de Los Botes y de la Balconada se agruparon con muestras de playas de Montevideo, Ramírez y Pocitos, mientras que muestras de Salto Grande se agruparon con las correspondientes al puerto de Montevideo y de La Paloma (playa de la Balconada junto al Faro) y las de la Laguna de Rocha se asociaron a muestras de Montevideo y de la Playa de La Paloma, el Cabito (Figura 9). Estos resultados evidencian las similitudes entre los genes de *mcyJ* y entre los organismos de CMA, que conformaron las floraciones, a lo largo de nuestra costa.



**Figura 9.** Diagrama que representa el análisis de cluster para las curvas de *melting* obtenidas por HRMA del gen *mcyJ* para distintas muestras de Montevideo (MVDEO), Rocha (playas de La Paloma y Laguna de Rocha), tomadas entre el 30 de enero y 7 de febrero del 2019, y para los embalses de Salto Grande (SALTO) (enero y diciembre 2013) y Río Negro (NEGRO) (marzo 2013).

## DISCUSIÓN

Las floraciones de cianobacterias ocurridas en la costa estuarina y atlántica de la República Oriental del Uruguay en el verano de 2019 tuvieron características que nos llevan a calificarlas de extraordinarias. Estas incluyen su amplia extensión espacial (500 km), que afectó gran parte de las playas desde Colonia hasta Rocha e incluyó ambientes de gran valor turístico (Piriápolis, Punta del Este y La Paloma) y para la conservación (lagunas de Rocha y José Ignacio), y su duración (cerca de cuatro meses). Estas floraciones fueron causadas por un restringido grupo de organismos, consignados como complejo *Microcystis aeruginosa* (CMA), con similares rasgos morfológicos y genéticos y, en muchos casos, asociados a concentraciones de microcistinas detectables en agua. Los organismos del CMA son de origen dulceacuícola, pero en este estudio fueron registradas grandes concentraciones (espuma) en condiciones de salinidad marina (30). Las situaciones extremas de lluvias y de caudal observado en el río Uruguay y en el RdLP sugieren que las floraciones tuvieron un origen común en la cuenca baja del Plata, donde la situación de eutrofización

presenta condiciones adecuadas para el desarrollo de organismos del CMA. Esto, junto con un crecimiento positivo del CMA, garantizó su persistencia en las playas con condiciones de agua dulce. Además, las condiciones particulares de caudales y viento facilitaron la llegada de la floración hasta la costa atlántica, en Rocha.

## **Registros previos de CMA en la costa estuarina y atlántica de Uruguay**

En estudios previos se ha observado la presencia de organismos del CMA en los ríos Uruguay y RdlP, desde Salto Grande hasta Punta del Este (Ferrari y Vidal, 2006; Bonilla, et al., 2015; Kruk, et al., 2015). Asimismo, la presencia de microcistinas fue registrada por primera vez en el RdlP en el año 1999 (De León y Yunes, 2001). Desde entonces, la frecuencia de ocurrencia de CMA ha ido aumentando hasta el presente (Sathicq, et al., 2015; Bonilla, et al., 2015). Asimismo, la presencia de genes que codifican para la producción de microcistina ha sido registrada desde el embalse de Salto Grande hasta Punta del Este (Martínez de la Escalera, et al., 2016). En la costa de Rocha (La Paloma), al menos en tres ocasiones han sido registrados organismos del CMA en muy bajas densidades celulares (Fabiano, comunicación personal). Sin embargo, según los monitoreos que realiza DINARA, eventos de floración de la magnitud del presente no han ocurrido en Rocha desde el año 1980. Tampoco se registran eventos de esta magnitud en publicaciones locales o en la memoria de actores locales relacionados al medio acuático (guardavidas, alcalde, técnicos de bromatología, entre otros).

## **Causas de las floraciones: origen autóctono**

La salinidad y temperatura, así como también la estabilidad de la columna de agua, son las principales variables que modulan el crecimiento y formación de floraciones de CMA en los ambientes acuáticos que presentan altas concentraciones de nutrientes, como lo es el RdlP. En este estudio la temperatura del agua presentó en todos los casos valores cercanos al óptimo de crecimiento del CMA (Reynolds, et al., 2002). Por ejemplo, en condiciones de agua dulce y en base a las temperaturas observadas (23 a 30 °C), el valor esperado para la tasa máxima de crecimiento se encuentra entre 0,5 y 0,7 d<sup>-1</sup> (Kruk, et al., 2017). En cuanto a la salinidad, el crecimiento de CMA ocurre a valores menores a 15 (Kruk, et al., 2017), mientras que en condiciones de salinidad entre 10 y 15 la tasa máxima se reduce a 0,4 d<sup>-1</sup> (Tonk, et al., 2007). En las playas de Rocha, la presencia de cianobacterias se registró en salinidades cercanas a 30, lo que descarta la posibilidad de crecimiento local. Valores de salinidad menores a 15 fueron observados en Montevideo, en gran parte de las playas (28 de enero y el 25 de febrero), coincidentes con la mayor frecuencia de espumas, por lo que no es posible descartar la hipótesis de crecimiento local solamente por el efecto de la salinidad. Sin embargo, el tiempo en el cual se desarrollaron las floraciones (< 5 días) permite deducir que no es factible el crecimiento local como la principal causa de la floración y su gran magnitud espacial y gran velocidad de dispersión.

Por ejemplo, el cambio de densidad celular del CMA, desde un nivel de vigilancia ( $1000 \text{ céls ml}^{-1}$ ) a presencia de espumas (alerta roja:  $100.000 \text{ céls ml}^{-1}$ ) a una tasa de  $0,4 \text{ d}^{-1}$  requiere de al menos 14 días. Mientras que el pasaje de presencia de colonias ( $5.000 \text{ céls ml}^{-1}$ ) a espumas ( $100.000 \text{ céls ml}^{-1}$ ) requiere nueve días. Una vez establecidas las floraciones con gran biomasa de cianobacterias, las condiciones de agua dulce en la costa habrían facilitado el mantenimiento temporal de las floraciones y su re-inoculación en diferentes ecosistemas.

### **Causas de las floraciones: origen alóctono por aportes desde tributarios locales**

El origen alóctono podría deberse al transporte de organismos por las descargas de pequeños tributarios en áreas adyacentes a las playas. En los ecosistemas de la Cuenca del Plata en Uruguay, Argentina y Brasil las floraciones de CMA se observan principalmente en grandes embalses, mientras que floraciones de cianobacterias filamentosas (ej.: *Dolichospermum*) son más frecuentes en cuerpos de agua someros y más pequeños, así como en ambientes lóticos (ej.: Bonilla, et al., 2015; Haakonsson, et al., 2017; Pacheco, et al., 2010; Crisci, et al., 2017). Floraciones de cianobacterias filamentosas también han sido observadas en Salto Grande, pero en mucho menor proporción (Bordet, et al., 2017). En Rocha, especialmente en la Laguna de Castillos, se han registrado floraciones de cianobacterias en varias ocasiones anteriores, principalmente especies filamentosas (Pérez, et al., 1999; Martínez, 2014; Martínez et al., 2016), al igual que en la presente temporada estival (Martínez, observación personal). En las lagunas de José Ignacio y de Rocha se ha registrado presencia de CMA, e incluso floraciones, en ocasiones aisladas (Rodríguez-Gallego, et al., 2017). En esta ocasión, la apertura de la conexión al mar que tenía la Laguna de Rocha durante el evento propició el ingreso de organismos del CMA con similar composición, morfología y estructura genética a los registrados en las playas lejanas. Es interesante destacar que en la Laguna Garzón, que no estuvo conectada con el mar durante ese período, no se observaron estos organismos, mientras que en la Laguna Negra se registraron organismos del CMA con una morfología diferente, lo que nos lleva a descartar que correspondieran al evento costero. Pequeños efluentes pluviales y fluviales cercanos a las playas afectadas por las floraciones fueron también evaluados, pero no presentaron organismos del CMA. Estudios puntuales realizados en distintos períodos entre 2003 y 2012 en Canelones (arroyos Solís Grande, Solís Chico y Pando) no mostraron la presencia de floraciones o de cianobacterias (A. Acuña, comunicación personal; L. Rodríguez-Graña, comunicación personal). Finalmente, el río Santa Lucía (Montevideo), uno de los principales tributarios de la zona costera, presenta una taxocenosis fitoplanctónica caracterizada por una baja proporción de cianobacterias, conformadas principalmente por organismos filamentosos (Bonilla, et al., 2015; Aubriot, et al., 2017; Olano, et al., 2019). Este conjunto de información no respalda la hipótesis sobre los tributarios menores como aportes a las floraciones costeras. Sin embargo, se debería considerar una evaluación sistemática de todos

los tributarios a lo largo de la costa estuarina y atlántica de Uruguay para poder refutar esta propuesta. Si bien la contribución de floraciones por parte de los tributarios locales parece ser baja o nula, el aporte puntual de agua dulce con una concentración de nutrientes necesarios para el crecimiento podría ser importante (Rodríguez-Gallego, et al., 2017; Aubriot, et al., 2017; Muniz, et al., 2019).

Los resultados respecto de la composición, morfología, características genéticas y producción de microcistinas indican que todas las floraciones del CMA a lo largo de la costa estuvieron compuestas por un grupo homogéneo de organismos. En todos los casos se trató de organismos coloniales CMA de gran tamaño, lo que se ha asociado con mayor toxicidad (Wang, et al., 2013). El análisis de HRMA del gen *mcyJ*, que codifica para microcistinas, agrupó conjuntamente muestras de este verano, de distintos ambientes de Montevideo y Rocha, así como también con organismos analizados otros veranos pertenecientes a Salto Grande y al Río Negro, lo que indica gran similitud entre los organismos formadores de esas floraciones (Martínez de la Escalera, et al., en revisión). Esto apoya la idea de un origen común y no la de diversos orígenes en tributarios alejados entre sí. La baja diversidad genética y morfológica de los organismos observados, sumada a la rapidez del inicio y extensa distribución de las floraciones, sustenta la hipótesis de que el evento tuvo un origen común, alóctono y no asociado a los pequeños tributarios a lo largo de la costa uruguaya.

### **Causas de las floraciones: origen alóctono desde ríos Uruguay, Paraná y Río Negro**

Las grandes lluvias, en la zona baja de la Cuenca del Plata, afectaron particularmente al río Uruguay, en la zona de influencia del embalse de Salto Grande. Las precipitaciones acumuladas en enero de 2019 representaron un récord para los últimos 30 años (Artigas 670 mm), superando los acumulados para el mismo mes durante 1998 bajo condiciones del fenómeno El Niño (Artigas 449 mm). La cuenca del Río Negro también se vio afectada por las precipitaciones y su caudal aumentó durante el período de estudio. El río Paraná, si bien generalmente aporta grandes volúmenes de agua al RdLP, en esta ocasión no resultó ser el más afectado por estas lluvias y sus aportes fueron relativos.

La costa uruguaya del RdLP se caracteriza durante el periodo estival por una baja descarga de agua dulce, temperatura media de 24 °C y vientos predominantes del sector NE, la pluma de descarga es volcada hacia la costa argentina y una mayor influencia de las ramas costeras de corrientes subtropicales en Uruguay (cálidas y salinas; Ortega y Martínez, 2007). Durante el verano de 2019, la combinación de condiciones extremas de lluvias que incrementaron el caudal de los ríos Uruguay y Río Negro, moduladas por la intensidad y dirección del viento, resultaron en un corrimiento de la pluma de descarga, acompañada de mayor turbidez, menor salinidad y mayor temperatura sobre la costa uruguaya. Este fenómeno arrastró aguas abajo las elevadas concentraciones del CMA y propiciaron su traslado a lo largo de toda la costa uruguaya.

En un estudio de revisión de fitoplancton del río Paraná se indica que las cianobacterias son abundantes en las represas al inicio del río y en sus zonas medias, pero poco frecuentes en los tramos finales (Delta del Paraná, Reserva de Biósfera) (Devercelli, et al., 2014). En la represa de Yacyretá son frecuentes las floraciones del CMA y el registro de las toxinas asociadas (Forastier, et al., 2016). Estos estudios indican que las floraciones serían transportadas aproximadamente 300 km aguas abajo de Yacyretá y no son registradas 50 km aguas abajo de la confluencia con el río Paraguay. En el tramo final del Paraná existen algunos registros del CMA que ocurrieron asociados a pulsos del fenómeno La Niña (finales de 2008), sin alcanzar grandes densidades celulares (Dogliotti, et al., 2018). En este sentido, la evidencia sugiere que el aporte de floraciones del CMA al RdIP no estuvo primordialmente relacionado a poblaciones provenientes desde el río Paraná. Sin embargo, es necesario evaluar información específica del presente periodo.

Se ha registrado frecuentemente la ocurrencia de floraciones del CMA en los embalses de Salto Grande y del Río Negro (e.g.: González-Piana, et al., 2017; Bordet, et al., 2017). Estas floraciones podrían ser transportadas desde los embalses hacia el tramo final del río Uruguay y luego al RdIP. De acuerdo al programa de vigilancia de playas del río Uruguay, durante el periodo de estudio se observó una mayor frecuencia de alertas en el embalse, previo a la apertura de las compuertas, una disminución durante la apertura y un incremento al cerrarlas nuevamente, así como un incremento de alertas aguas abajo del embalse durante su apertura (Nueva Palmira). Estos resultados apoyan la hipótesis que sugiere que las floraciones se generan de forma alóctona en áreas de aguas quietas (embalses, remansos) de la zona baja de la cuenca del Plata, donde están presentes durante gran parte del año. La similitud genética entre las muestras del embalse de Salto Grande, del Río Negro y las muestras tomadas a lo largo de toda la costa sugieren un *pool* similar de especies asociadas al tramo inferior del Río Uruguay. Para confirmar estos resultados es fundamental complementar esta información con el análisis de muestras tomadas en estos embalses durante el período de estudio. Las floraciones del CMA ocurren en temporada estival, frecuentemente sobre la costa de Argentina del RdIP (Andrinolo, et al., 2007; Sathicq, et al., 2015). Sin embargo, durante el período en estudio, en la desembocadura de los tributarios del Paraná y en la costa argentina del RdIP, se informó la ausencia de floraciones (M.C. González, comunicación personal), apoyando la hipótesis del origen alóctono de las floraciones, específicamente en el río Uruguay.

## **Dinámica de las floraciones en el Río de la Plata y costa oceánica**

Durante el evento de arribo de cianobacterias a la costa rochense predominaron vientos débiles del E-NE sobre el Río de la Plata que favorecieron la descarga de la pluma de agua dulce hacia la costa uruguaya, lo que sumado al gran caudal descargado propició la llegada a esta región de aguas con características atípicas para la fecha. Por otra parte, los registros satelitales y de medidas *in situ* permiten inferir

una advección de aguas cálidas, desde el interior del RdIP hacia la costa atlántica. Este transporte habría desplazado masivamente a las floraciones de cianobacterias hacia la costa uruguaya, a diferencia de lo sucedido en la costa argentina, donde no se percibió la presencia importante de cianobacterias. Esto habría sido facilitado por la gran capacidad de flotación de los organismos del CMA, que se vuelve aún mayor con altas salinidades características de ecosistemas marinos (Kruk, et al., 2018)

## CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta las similitudes morfológicas y genéticas de los organismos que formaron las floraciones observadas, la relación temporal de los eventos, las condiciones ambientales a lo largo de la costa, así como una relación notoria entre el caudal del RdIP y sus grandes tributarios, la evidencia indica que las floraciones ocurridas en la costa de Uruguay tendrían un origen alóctono común, principalmente en embalses de la cuenca baja del Plata. Su mantenimiento en el tiempo podría haber sido favorecido por el crecimiento local en las zonas de baja salinidad, influido por los aportes de agua dulce rica en nutrientes proveniente de los ríos Uruguay, Paraná y de otros tributarios a lo largo de la costa uruguaya. En el caso de las floraciones registradas en la región correspondiente al departamento de Rocha, si bien se trató de un fenómeno transitorio, fue notoria su intensidad y toxicidad, posiblemente asociadas al gran tamaño de los organismos (Wang, et al., 2013).

El incremento de las floraciones como resultado de la eutrofización asociada a las actividades antrópicas en las cuencas de drenaje ha sido ampliamente demostrado, tanto internacionalmente como en la región. Sería relevante analizar el efecto de las distintas actividades y su aporte porcentual al incremento de las floraciones en la cuenca del río Uruguay, tal como fuera realizado en el Río Negro (Arocena, et al., 2018) y en otros ambientes de Uruguay (e.g. Aubriot, et al., 2017; Chalar, et al., 2017; Rodríguez-Gallego, et al., 2017).

Los mecanismos que generaron condiciones climáticas extremas en la región durante el verano 2019 aún no han sido caracterizados y son un tema de investigación actual. Por otro lado, a mayores escalas de tiempo se prevé un aumento de los máximos anuales de precipitaciones y un aumento de la frecuencia de precipitaciones, más intensas para el Sudeste de América del Sur, incluyendo la cuenca baja del Plata (Re y Barros, 2009; Barros, et al., 2000). La cuenca del Plata es una de las más afectadas a nivel mundial en términos de cambios en la descarga de sus tributarios, lo que se incrementará notoriamente en comparación con el resto del mundo (Wang-Erlandsson, et al., 2017) especialmente en la cuenca del Río Uruguay (Barros, et al., 2000; Tucci y Clarke, 1998). La cuenca del Plata es además una de las cuencas con mayor producción agropecuaria y de interés para la construcción de nuevos embalses. Es por ello fundamental considerar los cambios de precipitaciones y otros moduladores de la descarga de los ríos, así como las proyecciones de distintos usos de los suelos en la región, utilizando arreglos espaciotemporales adecuados para contribuir a futuros modelos, a fin de predecir el desarrollo de floraciones en la costa de Uruguay.

## RECONOCIMIENTOS

Los autores agradecen a las intendencias de Montevideo y de Rocha, a la Alcaldía de La Paloma y a la Dirección Nacional de Recursos Acuáticos por ceder la información de sus respectivos monitoreos en las playas de Montevideo y Rocha, así como por la disponibilidad para realizar reuniones y discutir, en conjunto, la problemática. Agradecemos también a los guardavidas de la Paloma, los guardaparques de Laguna de Rocha y vecinos de La Paloma, por el aporte de muestras e información, así como también a los investigadores del Proyecto DINAMA, Monitoreo de Lagunas Costeras y al SNAP, por la coordinación de los embarques. También agradecemos a D. Calliari y G. Martínez por la provisión de muestras durante el evento. Este trabajo forma parte del proyecto «Análisis estadístico de variables atmosféricas e hidrográficas para la predicción de floraciones de cianobacterias en el Río Uruguay y costa de Montevideo», financiado por el Fondo sectorial de investigación a partir de datos (2017) – Agencia Nacional de Innovación e Investigación de Uruguay (FSDA1/20171144351). AMS agradece al proyecto Fondo Vaz Ferreira.

## REFERENCIAS

- Achkar, M., Domínguez, A. y Pesce, F., 2015. Hacia un escenario de gestión sustentable del territorio por cuencas hidrográficas en el contexto post neoliberal en el Uruguay. En: *Monfragüe Desarrollo Resiliente*, IV 1, pp.104-123.
- Adloff, C., Bem, C., Reichert, G. y Rodrigues de Azevedo, J., 2018. Analysis of the phytoplankton community emphasizing cyanobacteria in four cascade reservoirs system of the Iguazu River, Paraná, Brazil. En: *Brazilian Journal of Water Resources*, 23, e6.
- Aguilera, A., Haakonsson, S., Martin, M., Salerno, G. y Echenique, R., 2018. Bloom-forming cyanobacteria and cyanotoxins in Argentina: A growing health and environmental concern. En: *Limnologica*, 69, pp.103-114.
- Anderson, E., Jenkins, C., Heilpern, S., Maldonado-Ocampo, J Carvajal-Vallejos, F., Encalada, A., Rivadeneira, J., Hidalgo, M., et al., 2018. Fragmentation of Andes-to-Amazon connectivity by hydropower dams. En: *Science Advances*, 4, pp.1429-1437.
- Andrinolo, D., Pereira, P., Giannuzzi, L., Aura, C., Massera, S., Caneo, M., Caixach, J. et al., 2007. Occurrence of *Microcystis aeruginosa* and microcystins in Río de la Plata river (Argentina). En: *Acta Toxicológica Argentina*, 15, pp.13-18.
- Arocena, R., Chalar, G., González, I., García, P., Piccardo, P., Piccini, C., Vernassa, T., Sandes, P. y Castro, M., 2018. *Informe final. Evaluación ecológica de cursos de agua y biomonitorio. Cuenca del Río Negro* [En línea]. Montevideo: Facultad de Ciencias, Udelar. [Consulta: 02 de febrero de 2019]. Disponible En: <http://limno.fcien.edu.uy/img/novedades/InformeFinalRN.pdf>
- Aubriot, L., Delbene, L., Haakonson, S., Somma, A., Hirsch, F. y Bonilla, S., 2017. Evolución de la eutrofización en el Río Santa Lucía: influencia de la intensificación productiva y perspectivas. En: *INNOTEC*, 14, pp.7-17.

- Barros, V., Boninsegna, J., Camilloni, I.A., Chidiak, M., Magrín, G. y Rusticucci, M., 2014. Climate change in Argentina: trends, projections, impacts and adaptation. En: *WIREs Clim Change*, 6, pp.151-169. doi: 10.1002/wcc.316
- Barros, V., Castañeda, M. y Doyle, M., 2000. Recent precipitation trends in southern South America east of the Andes: An indication of climatic variability. En: Smolka, P. y Volkheimer, W., eds. *Southern Hemisphere paleo- and neoclimates: key sites, methods, data and models*. Heidelberg: Springer. 2, pp.187-206.
- Bonilla, S., Haakonsson, S., Somma, A., Gravier, A., Britos, A., Vidal, L., De León, L., Brena, B., Pírez, M., Piccini, C., Martínez de la Escalera, G., Chalar, G., González-Piana, M., Martigani, F. y Aubriot, L., 2015. Cianobacterias y cianotoxinas en ecosistemas límnicos de Uruguay. En: *INNOTEC*, 10, pp.9-22.
- Bordet, F., Fontanarrosa, M. y O'Farrell, L., 2017. Influence of light and mixing regime on bloom-forming phytoplankton in a subtropical reservoir. En: *River Research and Applications*, 33, pp.1315-1326.
- Brena, B., Díaz, L., Sienna, D., Ferrari, G., Ferraz, N., Hellman, U., Gonzalez-Sapienza, G. y Last, J., 2006. ITREOH building of regional capacity to monitor recreational water: development of a non-commercial microcystin ELISA and its impact on public health policy. En: *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 12, pp.377-385.
- Cardini, J., Zabalett, A. y Reguero, G., 2017. Análisis de la propagación de condiciones de eutrofización en el Río Uruguay aguas abajo de la represa de Salto Grande mediante HEC-RAS. En: PROIMCA-PRODECA. *VI Congreso Bianual Proimca IV Congreso Bianual Prodeca*. Bahía Blanca, Argentina (6-8 de setiembre de 2017). Bahía Blanca: Facultad Regional, Universidad Tecnológica Nacional.
- CARU. Comisión Administradora del Río Uruguay, 2019a. *Medio Ambiente: informe de vigilancia de playas*. [En línea]. Paysandú, Entre Ríos: CARU. [Consulta: 10 de febrero de 2019]. Disponible En: <https://www.caru.org.uy/web/medio-ambiente/>
- CARU. Comisión Administradora del Río Uruguay. Secretaría Técnica - Departamento de Hidrología, 2019b. *Informe crecida Río Uruguay: 11 de enero de 2019* [En línea]. Paysandú, Entre Ríos: CARU. [Consulta: 10 de febrero de 2019]. Disponible En: <http://www.caru.org.uy/web/wp-content/uploads/2019/01/Informe-11-Enero-2019-1.pdf>
- Chalar, G., García-Pesenti, P., Silva-Pablo, M., Perdomo, C., Olivero, V. y Arocena, R., 2017. Weighting the impacts to stream water quality in small basins devoted to forage crops, dairy and beef cow production. En: *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, 65, pp.76-84.
- Crisci, C., Terra, R., Pacheco, J.P., Ghattas, B., Bidegain, M., Goyenola, G. y Lagomarsino, J.J., et al., 2017. Multi-model approach to predict phytoplankton biomass and composition dynamics in a eutrophic shallow lake governed by extreme meteorological events. En: *Ecological Modelling*, 360, pp.80-93.
- De León, L. y Yunes J.S., 2001. First report of a microcystin-containing bloom of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in the La Plata River, South America. En: *Environmental Toxicology and Water Quality*, 16, pp.110-112.

- Debastiani Jr., J., de Oliveira Naliato, D., Perbiche-Neves, G. y Nogueira, M., 2016. Fluvial lateral environments in Río de la Plata basin: effects of hydropower damming and eutrophication. En: *Acta Limnologica Brasiliensia*, 28, e26. <http://dx.doi.org/10.1590/s2179-975x5516>
- Devercelli, M., Zalocar de Domitrovic, Y., Forastier, M.E y Meichtry de Zaburlín, N., 2014. Phytoplankton of the Paraná River Basin. En: *Advanc. Limnol.*, 65, pp.39–65.
- Dogliotti, A., I., Gossn, J., Vanhellefont, Q. y Ruddick, K., 2018. Detecting and quantifying a massive invasion of floating aquatic plants in the Río de la Plata turbid waters using high spatial resolution ocean color imagery. En: *Remote Sensing* 10, pp.1140-1154; doi:10.3390/rs10071140
- Dörr, F., Pinto, E., Soares, R. y Azevedo, S., 2010. Microcystins in South American aquatic ecosystems: Occurrence, toxicity and toxicological assays. En: *Toxicon*, 56, pp.1247-1256.
- Foela, G., Brena, B., Risso, J., Sienna, D., Saona, G. y Echezarreta, M., 2010. Programa de monitoreo de agua de playas y costa de Montevideo. Informe 2009-2010. Montevideo: Intendencia de Montevideo.
- Ferrari, G. y Vidal, L., 2006. Fitoplancton de la zona costera uruguaya: Río de la Plata y Océano Atlántico. En: Menafrá, R., Rodríguez-Gallego, L., Scarabino, F. y Conde, D., eds. *Bases para la conservación y el manejo de la costa uruguaya*. Montevideo: Vida Silvestre. pp.45-56.
- Forastier, M., Zalocar, Y., Andrinolo, D. y Domitrovic, H., 2016. Occurrence and toxicity of *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) in the Paraná River, downstream of the Yacretá dam (Argentina). En: *Revista de Biología Tropical*, 64(1), pp.203-211. DOI: 10.15517/rbt.v64i1.8993
- García-Alonso, J., Lercari, D., Araujo, B., Almeida, M. y Rezende, C., 2017. Total and extractable elemental composition of the intertidal estuarine biofilm of the Río de la Plata: Disentangling natural and anthropogenic influences. En: *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 187, pp.53-61.
- Giannuzzi, L., Sedan, D., Echenique, R. y Andrinolo, D., 2011. An acute case of intoxication with cyanobacteria and cyanotoxins in recreational water in Salto Grande Dam, Argentina. En: *Marine Drugs*, 9(11), pp.2164-2175.
- González-Piana, M., Fabián, D., Piccardo, A. y Chalar, G., 2017. Dynamics of total Microcystin LR concentration in three subtropical hydroelectric generation reservoirs in Uruguay, South America. En: *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 99(4), pp.488–492.
- Goyenola, G., Meerhoff, M., Teixeira-de Mello, F., González-Bergonzoni, I., Graeber, D., Fosalba, C. y Vidal, N. et al., 2015. Monitoring strategies of stream phosphorus under contrasting climate-driven flow regimes. En: *Hydrological Earth System Science*, 19, pp.4099-4111.
- Guerrero, R., Acha, E., Framiñan, M. y Lasta, C., 1997. Physical oceanography of the Río de la Plata estuary, Argentina. En: *Continental Shelf Research*, 17, pp.727-742.
- Haakonsson, S., Rodríguez-Gallego, L., Somma, A. y Bonilla, S., 2017. Temperature and precipitation shape the distribution of harmful cyanobacteria in subtropical lotic and lentic ecosystems. En: *Science of the Total Environment*, 609, pp.1132–1139.

- Harke, M., Steffen, M., Gobler, C., Otten, T., Wilhelm, S., Woodf, S. y Paerl, H., 2016. A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp. En: *Harmful Algae*, 54, pp.4-20.
- Hausser, J. y Strimmer, K. 2014. Entropy: estimation of entropy, mutual information and related quantities. R package version 1.2.1 [En línea]. [s.l.]: [s.d.]. [Consulta: 10 de febrero de 2019]. Disponible En: <https://CRAN.R-project.org/package=entropy>
- Huffman, G.J., Bolvin, D.T., Braithwaite, D., Hsu, K., Joyce, R., Kidd, C., Nelkin, E. y Xie, P., 2015. *NASA global precipitation measurement (GPM) integrated multi-satellite retrievals for GPM (IMERG). Algorithm theoretical basis document (ATBD), version, 4.5* [En línea]. Greenbelt: NASA. [Consulta: 3/4/2019]. Disponible En: [https://pmm.nasa.gov/sites/default/files/document\\_files/IMERG\\_ATBD\\_V4.5.pdf](https://pmm.nasa.gov/sites/default/files/document_files/IMERG_ATBD_V4.5.pdf)
- Huisman, J., Codd, G.A., Paerl, H.W., Ibelings, B.W., Verspagen, J.M.H. y Visser, P.M., 2018. Cyanobacterial blooms. En: *Nature Reviews Microbiology*, 16(8), p.471-483.
- Ibelings, B., Fastner, F. y Visser, P., 2016. Cyanobacterial blooms. Ecology, prevention, mitigation and control: Editorial to a CYANOCOST Special Issue. En: *Aquatic Ecology*, 50(3), pp.327-331.
- INA. Instituto Nacional del Agua. Sistema de Información y Alerta Hidrológico de la Cuenca del Plata, 2019. *Situación hidrológica. Mensaje Nro 8052. 21 de enero de 2019* [En línea]. Bs. As.: INA. [Consulta: 20/3/2019]. Disponible En: [https://www.ina.gov.ar/trunk/archivos/hidro21\\_01\\_2019.pdf](https://www.ina.gov.ar/trunk/archivos/hidro21_01_2019.pdf)
- INUMET. Instituto Nacional de Meteorología, 2019a. *Precipitación Ene 2019: resumen de la precipitación ocurrida en el mes de enero en el territorio uruguayo* [En línea]. Montevideo: INUMET. [Consulta: 05 de febrero de 2019]. Disponible En: <https://www.inumet.gub.uy/sites/default/files/2019-02/BOLETIN%20PLUVIOMETRICO%20ENERO%202019%20v2%20%281%29.pdf>
- INUMET. Instituto Nacional de Meteorología, 2019b. *Histórico de alertas meteorológicas* [En línea]. Montevideo: INUMET. [Consulta: 05 de febrero de 2019]. Disponible En: <https://www.inumet.gub.uy/tiempo/historico-alertas-meteorologicas>
- Jaime, P.R. y Menéndez, A.N., 2002. *Análisis de régimen hidrológico de los ríos Paraná y Uruguay: informe* [En línea]. Ezeiza: INA-LHA. [Consulta: 15 de noviembre de 2019]. Disponible En: [https://www.ina.gov.ar/legacy/pdf/LH-Info\\_FRE\\_LHA-01-216-02\\_FrePlata-ParanaUruguay\\_Jun\\_2002.pdf](https://www.ina.gov.ar/legacy/pdf/LH-Info_FRE_LHA-01-216-02_FrePlata-ParanaUruguay_Jun_2002.pdf)
- Joung, S.-H., Kim, C.-J., Ahn, C.-Y., Jang, K.-Y., Boo, S.M. y Oh, H.M., 2006. Simple method for a cell count of the colonial Cyanobacterium, *Microcystis* sp. En: *The Journal of Microbiology*, 44(5), pp.562-565.
- Kalnay, E., Kanamitsu, M., Kistler, R., Collins, W., Deaven, D., Gandin, L. y Zhu, Y., et al., 1996. The NCEP/NCAR 40-year reanalysis project. En: *Bulletin of the American meteorological Society*, 77(3), pp.437-472.
- Kim, S.G., Joung, S.H., Ahn, C.Y., Ko, S.R., Boo, S.M. y Oh, H.M., 2010. Annual variation of *Microcystis* genotypes and their potential toxicity in water and sediment from a eutrophic reservoir. En: *FEMS Microbiology Ecology*, 74(1), pp.93-102.
- Komárek, J. y Komárková, J., 2002. Review of the European *Microcystis*-morphospecies (Cyanoprokaryotes) from nature. En: *Czech Phycology, Olomouc*, 2(1), pp.1-24.

- Kruk, C., Segura, A., Nogueira, L., Alcántara, I., Calliari, D., Martínez de la Escalera, G., Carballo, C., Cabrera, C., Sarthou, F., Scavone, P. y Piccini, C., 2017. A multilevel trait-based approach to the ecological performance of *Microcystis aeruginosa* complex from headwaters to the ocean. En: *Harmful Algae*, 70, pp.23-36. 10.1016/j.hal.2017.10.004
- Kruk, C., Segura, A., Nogueira, L., Carballo, C., Martínez de la Escalera, G., Calliari, D. y Ferrari, G., et al., 2015. Herramientas para el monitoreo y sistema de alerta de floraciones de cianobacterias nocivas: Río Uruguay y Río de la Plata. En: *INNOTEC*, 10, pp.23-39.
- Lehman, P., Boyer, G., Hall, C., Waller, S. y Gehrts, K., 2005. Distribution and toxicity of a new colonial *Microcystis aeruginosa* bloom in the San Francisco Bay Estuary, California. En: *Hydrobiologia*, 541(1), pp.87-99.
- Lehman, P., Kurobe, T., Lesmeister, S., Baxa, D., Tung, A. y Teh, S., 2017. Impacts of the 2014 severe drought on the *Microcystis* bloom in San Francisco Estuary. En: *Harmful Algae*, 63, pp.94-108.
- Manta, G. y Alcántara, I., 2018. Variabilidad y tendencia de la temperatura superficial de los grandes embalses del Río Negro. En: *INNOTEC*, 16, pp.17-26.
- Martínez de la Escalera, G., Antoniades, D., Bonilla, S. y Piccini, C., 2014. Application of ancient DNA to the reconstruction of past microbial assemblages and for the detection of toxic cyanobacteria in subtropical freshwater ecosystems. En: *Molecular Ecology*, 23(23), pp.5791-5802.
- Martínez de la Escalera, G., Kruk, C., Segura, A.M., Nogueira, L., Alcántara, I. y Piccini, C., 2017. Dynamics of toxic genotypes of *Microcystis aeruginosa* complex (MAC) through a wide freshwater to marine environmental gradient. En: *Harmful Algae*, 62, pp.73-83.
- Martínez de la Escalera, G., Segura, A., Kruk, C., Ghattas, B. y Piccini, C. High Resolution melting analysis and functional regression trees unveil toxic cyanobacterial community structure in a large environmental gradient. En: *ISME*. En revisión.
- Martínez, A., 2014. Floraciones algales en el Arroyo Valizas, Rocha. En: JIBE. *Jornadas de Interdisciplinarias de Biodiversidad y Ecología*. Rocha, Uruguay (3-5 de diciembre de 2014). Rocha: JIBE.
- Martínez, A., Rodríguez-Gallego, L. y Kruk, C., 2016. Cyanobacterial blooms in an Uruguayan coastal lagoon. En: ICHA. *International Conference of Harmful Algae*. Florianópolis, Brasil (9- 14 de octubre de 2016). Florianópolis: ICHA.
- Muniz, P., Venturini, V., Brugnoli, E., Gutiérrez, J.M., y A. Acuña, 2019. Chapter 30. Río de la Plata: Uruguay. En: Sheppard, C. (de.), *World seas: an environmental evaluation, Volume I: Europe, the Americas and West Africa*. 2da ed. Cambridge: Academic Press.
- MVOTMA-DINAMA, 2017. *Red de monitoreo costero. Monitoreo de playas. Quinquenio 2012-2017 y temporada 2016 - 2017* [En línea]. Montevideo: MVOTMA. pp.85. [Consulta: 6/4/2019]. Disponible En: [http://www.mvotma.gub.uy/component/k2/item/download/8410\\_b7973cf6c03f1a41fe3af9399b5b6f28](http://www.mvotma.gub.uy/component/k2/item/download/8410_b7973cf6c03f1a41fe3af9399b5b6f28)

- MVOTMA-OAN, 2019. *Calidad de agua* [En línea]. Montevideo: MVOTMA. [Consulta: 12 de marzo de 2019]. Disponible En: <https://www.dinama.gub.uy/oan/datos-abiertos/calidad-agua/>
- Nagy, G.J., Gómez-Erache, M., López, C.H. y Perdomo, A.C., 2002. Distribution patterns of nutrients and symptoms of eutrophication in the Río de la Plata River Estuary System. En: *Hydrobiologia*, 475/476, pp.125-139.
- Nerini, D. y Ghattas, B., 2007. Classifying densities using functional regression trees: applications in oceanology. En: *Computational Statistics & Data Analysis*, 51, pp.4984-4993.
- O'Farrell, I., Bordet, F. y Chaparro, G., 2012. Bloom forming cyanobacterial complexes co-occurring in a subtropical large reservoir: validation of dominant ecostrategies. En: *Hydrobiologia*, 698, pp.175-190.
- Olano, H., Martigani, F., Somma, A. y Aubriot, L., 2019. Wastewater discharge with phytoplankton may favor cyanobacterial development in the main drinking water supply river in Uruguay. En: *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(3). 146. doi:10.1007/s10661-019-7288-4.
- Ortega, L. y Martínez, A., 2007. Multiannual and Seasonal Variability of Water Masses and Fronts Over the Uruguayan Shelf. En: *Journal of Coastal Research*, 23(3), pp.618-629.
- Otsuka, S., Suda, S., Li, R., Matsumoto, S., y Watanabe, M.M., 2000. Morphological variability of colonies of *Microcystis* morphospecies in culture. En: *The Journal of General and Applied Microbiology*, 46, pp.39-50.
- Pacheco, J.P., Iglesias, C., Meerhoff, M., Fosalba, C., Goyenola, G., Teixeira-de Mello, F. García, S., Gelós, M. y García-Rodríguez, F., 2010. Phytoplankton community structure in five subtropical shallow lakes with different trophic status (Uruguay): a morphology-based approach. En: *Hydrobiologia*, 646(1), pp.187-197. DOI 10.1007/s10750-010-0180-4
- Paerl, H.W. y Huisman, J., 2008. Blooms like it hot. En: *Science*, 320(5872), pp.57-58.
- Pérez, M.C., Bonilla, S., De León, L., Smarda, J. y Komárek, J., 1999. A bloom of *Nodularia baltica-spumigena* group (Cyanobacteria) in a shallow coastal lagoon of Uruguay, South America. En: *Algological Studies*, 93, pp.91-101.
- Pérez, M., Gonzalez-Sapienza, G., Sienra, D., Ferrari, G., Last, M., Last, J. y Brena, B., 2013. Limited analytical capacity for cyanotoxins in developing countries may hide serious environmental health problems: simple and affordable methods may be the answer. En: *Journal of Environmental Management*, 114, pp.63-71.
- R Core Team, 2018. *R: A language and environment for statistical computing* [En línea]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. [Consulta: 22 de noviembre de 2018]. Disponible En: <https://www.R-project.org/>.
- Re, M. y Barros, V., 2009. Extreme rainfalls in SE South America. En: *Climatic Change*, 96(1-2), pp.119-136. DOI 10.1007/s10584-009-9619-x
- Reynolds, C., Huszar, V., Kruk, C., Naselli-Flores, L. y Melo, S., 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. En: *Journal of Plankton Research*, 24(5), pp.417-428.

- Robson, B. y Hamilton, D., 2003. Summer flow event induces a cyanobacterial bloom in a seasonal Western Australia estuary. En: *Marine and Freshwater Research*, 54, pp.139–151.
- Rodríguez-Gallego, L., Achkar, M., Defeo, O., Vidal, L., Meerhoff, M. y Conde, D., 2017. Effects of land use changes on eutrophication indicators in five coastal lagoons of the Southwestern Atlantic Ocean. En: *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 188, pp.116-126.
- Sathicq, M., Bauer, D. y Gómez, N., 2015. Influence of El Niño Southern Oscillation phenomenon on coastal phytoplankton in a mixohaline ecosystem on the southeastern of South America: Río de la Plata estuary. En: *Marine Pollution Bulletin*, 98(1-2), pp.26-33.
- Savtchenko, A., Ouzounov, D., Ahmad, S., Acker, J., Leptoukh, G., Koziara, J. y Nickless, D., 2004. Terra and Aqua MODIS products available from NASA GES DAAC. En: *Advances in Space Research*, 34(4), pp.710-714.
- Segura, A., Piccini, C., Nogueira, L., Alcántara, I., Calliarid, D. y Kruk, C., 2017. Increased sampled volume improves *Microcystis aeruginosa* complex (MAC) colonies detection and prediction using Random Forests. En: *Ecological Indicators*, 79, pp.347-354.
- Tonk, L., Bosch, K., Visser, P.M. y Huisman, J., 2007. Salt tolerance of the harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. En: *Aquatic Microbial Ecology*, 46(2), pp.117-123.
- Trinchin, R., 2018. *Caracterización de eventos de surgencia estacional en la costa de Uruguay*. Montevideo: Udelar. (Tesis de Maestría en Geociencias).
- Tucci, C.E.M. y Clarke, R. T., 1998. Environmental issues in the la Plata basin. En: *International Journal Water Resources Development*, 14(2), pp.157-173.
- Vidal, F., Sedan, D., D'Agostino, D., Cavalieri, M., Mullen, E., Parot Varela, M. y Flores, C., et al., 2017. Recreational exposure during algal bloom in Carrasco beach, Uruguay: a liver failure case report. En: *Toxins*, 9(9), pp.2657-2675.
- Vidal, L. y Britos, A., 2012. Uruguay: occurrence, toxicity and regulation of cyanobacteria. En: Chorus, I., ed. *Current approaches to Cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries*. Dessau-Roßlau: Federal Environment Agency. pp.130-136.
- Wang-Erlandsson, L., Fetzer, I., Keys, P., van der Ent, R., Savenije, H. y Gordon, L., 2017. Remote land use impacts on river flows through atmospheric teleconnections. En: *Hydrology and Earth System Sciences Discussions*, 22, pp.4311-4328. <https://doi.org/10.5194/hess-22-4311-2018>
- Wang, X., Sun, M., Xie, M., Liu, M., Luo, L., Li, P. y Kong, F., 2013. Differences in microcystin production and genotype composition among *Microcystis* colonies of different sizes in Lake. En: *Taihu. Water Research*, 1, 47(15), pp.5659-5669.
- Wang, Q., Wei, X., Li, C. y Xie, Y., 2018. A novel p-aminophenylthio- and cyanosubstituted BODIPY as a fluorescence turn-on probe for distinguishing cysteine and homocysteine from glutathione. En: *Dyes and Pigments*, 148, pp.212-218.

# Estudio preliminar de ecotoxicidad y contaminación no puntual por nitrógeno y fósforo en cursos de agua superficial cercanos a feedlots

Preliminary study of Ecotoxicity and non-point source pollution by nitrogen and phosphorus in watercourses in the vicinity of feedlots

Estudo preliminar de Ecotoxicidade e poluição de origem não pontual por nitrogênio e fósforo em cursos de água nas imediações de feedlots

RECIBIDO: 7/4/2019 → APROBADO: 18/6/2019 ✉ dmiguez@latitud.org.uy

✉ MÍGUEZ, DIANA (1); BARUCH, DANIEL (2); SUÁREZ, GONZALO (2).

(1) LATITUD – FUNDACIÓN LATU, LABORATORIO TECNOLÓGICO DEL URUGUAY (LATU), MONTEVIDEO, URUGUAY.

(2) FACULTAD DE VETERINARIA, ÁREA FARMACOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY.

---

## RESUMEN

Los feedlots son establecimientos agropecuarios con un sistema intensivo de producción de carne que permite obtener en un menor tiempo la terminación de animales bovinos. Su sistema se basa en el encierro de los animales en corrales y en el aporte de alimentos balanceados en base a concentrados. El objetivo de este trabajo es caracterizar los cursos de agua ubicados en declive con respecto a las áreas donde se localizan los corrales de engorde, evaluando las concentraciones de nutrientes y los aportes de sólidos por medio de análisis fisicoquímicos, y analizando su ecotoxicidad a través de modelos de bioensayos. Para ello, se tomaron muestras de dos establecimientos en tres puntos diferentes de cada curso de agua: aguas arriba, próximo a los corrales de los feedlots, y aguas abajo de éstos. Este estudio no detectó niveles apreciables de toxicidad aguda para *Daphnia magna*. Sin embargo, se observaron niveles ligeramente tóxicos en ambos cursos de agua para *Vibrio fischeri* y para *Lactuca sativa* consistentes con efectos de bioestimulación. En los estudios fisicoquímicos se encontró que en ambos cursos de agua los niveles totales de fósforo excedieron los valores establecidos en el Decreto

253/79 (Uruguay, 1979), los cuales, si bien estaban presentes incluso aguas arriba, aumentaban aún más hacia abajo de los corrales.

**PALABRAS CLAVE:** Agua superficial, ecotoxicología, impacto ambiental, fósforo, eutrofización.

## ABSTRACT

Feedlots are plots located in establishments on which bovine cattle is fattened for market by means of the use of concentrated foods. The objective of this work was to characterize watercourses located in decline with respect to the areas where fattening pens are located in terms of nutrient concentrations and of the inputs of solids, through physicochemical analyses, and with regard to ecotoxicity through models of bioassays. To do so, samples were taken from two establishments at three different points of each watercourse: upstream, in front of, and downstream the feedlots. This study did not detect appreciable levels of acute toxicity to *Daphnia magna* but mild levels of toxicity in both watercourses to *Vibrio fischeri* and *Lactuca sativa* consisting on biostimulatory effects. Through physicochemical studies, it was found that in both watercourses the total phosphorus levels exceeded the established values in Decree 253/79, which were present even upstream, but further increasing downstream to the corrals.

**KEYWORDS:** surface water, ecotoxicology, environmental impact, phosphorus, eutrophication.

## RESUMO

Os confinamentos ou “feedlot” são estabelecimentos que dedicam à criação de bovinos por meio do uso de alimentos concentrados. O objetivo deste trabalho foi caracterizar os cursos de água que estão em declínio em relação às áreas onde as canetas de engorda estão localizadas do ponto de vista das concentrações de nutrientes e das contribuições de sólidos por meio da análise físico-química e sua ecotoxicidade através de bioensaios modelo. Para isso, amostras foram retiradas de dois estabelecimentos em três diferentes pontos de cada curso de água: águas arriba, próximo aos locais dos confinamentos e abaixo deles. Este estudo não detecta níveis apreciáveis de toxicidade aguda em *Daphnia magna*. No entanto, níveis leves de toxicidade foram observados em ambos os cursos de água para *Vibrio fischeri* e *Lactuca sativa* consistentes com os efeitos da bioestimulação. Nos estudos físico-químicos verificou-se que em ambos os cursos de água os teores totais de fósforo ultrapassaram os valores estabelecidos no Decreto 253/79 (Uruguay, 1979), que, embora presente até mesmo a montante, aumentou ainda mais para baixo dos currais.

**PALAVRAS-CHAVE:** Águas superficiais, ecotoxicologia, impacto ambiental, fósforo, eutrofização.

## INTRODUCCIÓN

Los grandes avances en la producción pecuaria que ha alcanzado Uruguay en los últimos años, tales como la trazabilidad del ganado, los récords de producción y de exportación de ganado en pie, conllevan la responsabilidad de cuidar y preservar el medio ambiente (MGAP, 2018). La contaminación del agua superficial y subterránea se encuentran entre los aspectos ambientales identificados como algunos de los puntos que se asocian a la actividad, generando la aparición de guías de manejo paliativas, tales como compactar la superficie para evitar la infiltración (MVOTMA, 2017a). Además, internacionalmente se considera que se debe incrementar el conocimiento de las características del agua de escorrentía de los corrales de ganado vacuno para diseñar prácticas de gestión efectivas para proteger la calidad del agua y disminuir los riesgos para la vida acuática, así como para el agua recreativa y potable (Rahman, et al., 2013).

Uno de los factores que ha permitido alcanzar estos niveles de producción son los sistemas intensivos de engorde a corral, con alimentación balanceada a base de concentrados (feedlot). Estos sistemas son fundamentales para el proceso de producción y el cumplimiento de las características específicas para ingresar en mercados internacionales más exigentes y con mayores precios de venta (cuotas HILTON y 481). La obligatoriedad de utilizar estos criterios se contempla en la Resolución #14/033 del Instituto Nacional de Carnes, para producción de carne de alta calidad a exportar a la Unión Europea, lo cual está de acuerdo a las exigencias establecidas en el correspondiente reglamento (Reglamento (UE) N° 593/2013) de fecha 21 de junio de 2013 (Uruguay, 2014), en tanto la cuota 481 está contemplada en el Reglamento de Ejecución de la Unión Europea (UE) N°481/2012 de 7 junio de 2012 (MGAP, 2017).

Un inconveniente de estos sistemas de producción intensiva (feedlot) es que producen grandes volúmenes de estiércol, orina y en ellos se pueden hallar residuos de productos veterinarios en pequeñas superficies (Hernández, 2011), los cuales, mediante infiltración en el terreno, por arrastre, escorrentías o lixiviación, pueden contaminar los suelos y las aguas superficiales y profundas, produciendo potencialmente efectos ambientales adversos (Álvarez, et al., 2011; Grünwaldt, et al., 2011; Rahman, et al., 2013).

Uno de los eventos de mayor notoriedad en los últimos años es la contaminación de la cuenca del Río Santa Lucía debido a una combinación de factores, como la falta de tratamiento de efluentes de tambos y el cultivo en zonas demasiado próximas a los cursos de agua, pero que también comprenden a los establecimientos de engorde a corral (Achkar, et al., 2012). A causa de esto, la Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) monitorea numerosos cursos de agua. En particular, en el año 2009 el Banco Interamericano de Desarrollo (BID) financió un relevamiento de los establecimientos de engorde a corral, con el objetivo de conocer el desempeño ambiental que presentaban estos establecimientos, y determinó que la distancia a cursos de agua superficiales sería uno de los puntos críticos a evaluar (Apa y Del Campo, 2009).

Trabajos previos señalan a los desechos pecuarios entre los principales causantes de los procesos de eutrofización de los cursos de agua (Achkar, et al., 2012; Mazzeo, et al., 2010). En la eutrofización, un cuerpo de agua se vuelve abundante en nutrientes, produciéndose un desequilibrio en las cadenas tróficas del sistema. El fenómeno más frecuente es el hipercrecimiento de cianobacterias (Ansari, 2011).

En la legislación uruguaya existen varias normas referentes a protección ambiental, como la Ley N° 17283, en la cual se introduce el concepto de ecotoxicidad (Uruguay, 2000), el Decreto 178/2010 “Condiciones sanitarias y ambientales de los establecimientos de engorde a corral” (Uruguay, 2000) y en particular el Decreto 253/79 (Uruguay, 1979), que trata sobre contaminación de cuerpos de agua.

En este estudio se consideran como referencia los valores establecidos en el Decreto 253/79 (Uruguay, 1979), correspondientes a la clase 2a (“aguas destinadas al riego de hortalizas o plantas frutícolas u otros cultivos destinados al consumo humano en su forma natural, cuando éstas son usadas a través de sistemas de riego que provocan el mojado del producto”), ya que ambos cursos son utilizados como fuente de agua para riego, tanto en los establecimientos donde fue realizado este trabajo como en establecimientos cercanos.

Si bien la literatura reporta diferentes estudios acerca del impacto que presentan estos corrales de engorde en el medio ambiente (Rahman, et al., 2013; Achkar, et al., 2012; Apa y Del Campo, 2009), y hay antecedentes de publicaciones en Uruguay sobre la utilización de bioensayos para evaluar ecotoxicidad de efluentes industriales (Castro, et al., 2002), no se encontró bibliografía en la que se evaluara por estos medios las condiciones en las que se encuentran los cursos de agua ubicados en las cercanías de corrales de engorde.

Los bioensayos, empleando diferentes modelos de la escala trófica, permiten evaluar y predecir el nivel de impacto de estos compuestos sobre el ecosistema (Maciorowski, et al., 1983). Actualmente, la técnica de ecotoxicidad sobre *Vibrio fischeri* en sistema Microtox® se emplea en los laboratorios de contralor de Obras Sanitarias del Estado (OSE), en el departamento de Higiene Ambiental de la Intendencia de Montevideo (IM) y en la Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) (protocolo 6159UY, 2017). Este ensayo se utiliza internacionalmente en toxicología acuática, control legal de descargas agrícolas, industriales y municipales, análisis de suelos, sedimentos y sustancias puras líquidas o lixiviados (Kaiser, 1991; American Public Health Association, et al., 1992; MVOTMA, 2017b). Hay profusa bibliografía sobre el uso de *Daphnia*, en especial *D. magna* y *D. pulex*, como bioindicadora debido a su alta sensibilidad, que permite evaluar la toxicidad de contaminantes ambientales en aguas y en otras matrices (Siciliano, et al., 2015).

El bioensayo con *Lactuca sativa* se ha utilizado para el monitoreo de la calidad de agua en los ecosistemas dulceacuícolas en forma integradora, incluyendo los puntos finales de fitotoxicidad, de germinación de semillas y la prueba de la elongación radical (Rodríguez Romero, et al., 2014).

Este estudio propone una metodología que se puede aplicar como parte de una evaluación de impacto ambiental, ya que permite combinar la evaluación ecotoxicológica del curso de agua con el estudio del aporte de nutrientes que se podría dar

por escorrentía desde fuentes no puntuales, incluyendo feedlots y otras actividades. Una completa evaluación de impacto ambiental en feedlots abarcaría muchos otros aspectos ambientales, pero siempre incluye los aportes de nutrientes y de sedimentos, la calidad del agua y las características de erosión del suelo (Davis y Watts, 2011).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### a) Selección de los establecimientos

Esta investigación contó con el apoyo de la Asociación Uruguaya de Productores de Carne Intensiva Natural (AUPCIN), que brindó el acceso a establecimientos que cumplieran con determinadas características predefinidas para realizar el estudio:

- Permanencia de animales: los bovinos deberían permanecer dentro del corral a lo largo de todo el estudio.
- Presencia de un curso de agua: cercanía de un curso de agua continua en declive a los corrales.
- Accesibilidad: Autorización para ingreso y toma de muestras por parte del establecimiento, sin un compromiso con la difusión de los resultados finales de la producción.
- Antecedentes de estudios de impacto ambiental conducidos por DINAMA, que indicaran previamente los puntos válidos para el muestreo (comunicación personal del propietario).

Se estudiaron dos establecimientos de la cuenca del Río Negro afluentes al Arroyo Marincho (establecimiento A) y al Arroyo Grande del Sur (establecimiento B), ubicados en el departamento de Flores, y que contaban con las características necesarias para llevar a cabo esta investigación (Figura 1).



**Figura 1.** Mapa satelital de los establecimientos. En la izquierda el establecimiento A y a la derecha el establecimiento B. En color rojo se indican los corrales, el curso de agua en azul y los puntos de muestreo en amarillo: 1 aguas arriba; 2 frente al corral; 3 aguas abajo.

El establecimiento A contaba con cuatro corrales, dos de ellos se encontraban en producción, con una carga de 900 bovinos, mientras que el establecimiento B contaba con ocho corrales, de los cuales cuatro se encontraban con una dotación de 1500 bovinos. En ambos establecimientos se mantuvieron las condiciones durante todo este estudio.

## b) Plan de muestreo

Los bovinos se encontraban en los corrales 30 días previos al comienzo del estudio. Los dos muestreos de los cursos de agua se realizaron con una diferencia de 30 días. Para cada uno de los cursos de agua bajo estudio, ubicados en las inmediaciones de los establecimientos de engorde a corral, se utilizaron tres puntos de muestreo establecidos previamente por la Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) en estudios anteriores. Estos puntos fueron: aguas arriba del emprendimiento, aguas abajo del emprendimiento (ambos a aproximadamente 200 metros de los corrales) y frente al emprendimiento (Figura 1). La fecha del primer muestreo fue el 28/12/16 y la del segundo muestreo fue el 27/01/17. En ninguno de los casos se registraron precipitaciones (INUMET, 2019).

La obtención de las muestras se realizó por inmersión directa, por duplicado, utilizando recipientes de polietileno de alta densidad de 5 litros, sin dejar cámara de aire, de forma tal que se pudiese enviar a ambos laboratorios una muestra para su rápido procesamiento.

Las muestras se transportaron refrigeradas en un lapso menor a 6 horas al Laboratorio S&B Diagnósticos (Montevideo, Uruguay) y al Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU, Montevideo, Uruguay). Luego fueron almacenadas a 4 °C hasta su análisis. El procedimiento se ajustó a la metodología descrita en la norma ISO 5667-16 (International Organization for Standardisation, 1998).

En todos los casos las muestras se procesaron con un lapso no mayor a 12 horas desde su obtención.

## c) Análisis

### c.1. Bioensayos

c.1.1. Test estático agudo (5 días), con semillas de *Lactuca sativa* var. *Buttercrunch*. En este estudio se comparó el crecimiento radicular de las semillas de lechuga expuestas a un tratamiento al 100% de la muestra y a un control negativo que consiste en agua dura reconstituída (APHA, 1992). La significación de las diferencias de crecimiento encontradas se realizó mediante la aplicación de un análisis de varianza ANOVA a dos vías y la realización de su correspondiente post-test (OECD, 1984; Ellis, 1985; Wang, 1987; Cheung, et al., 1989; Dutka, 1989; US EPA, 1989; Bowers, et al., 1997; American Public Health Association, 2012).

c.1.2. Test estático agudo (48 hs), *Daphnia magna*. Esta técnica consiste en preparar diluciones 1:2 seriadas de la matriz a estudiar, sembrar los microcrustáceos e incubarlos durante 48 hs. Luego se determina la mortalidad de los ejemplares y

se realiza un análisis estadístico (Lewis y Maki 1981; Goulden, 1982; Edley y Law, 1988; Dutka, 1989; Girling y Garforth, 1989; Gutiérrez, 1989; Elendt y Bias, 1990; US EPA, 1991; Klüttgen, et al., 1994; Castillo, 2004).

c.1.3. Test de toxicidad aguda Microtox®. Este método emplea como reactivo una cepa liofilizada de *Vibrio fischeri*, a una densidad de 10<sup>6</sup> cél/mL (Agriculture Research Service Culture Collection (NRRL) como B-11177).

Para el análisis de las muestras, el protocolo utilizado fue el “81,9% screening test” (DINAMA 6159 UY). El diseño experimental se basa en la comparación de la emisión de luz de una alícuota de *V. fischeri* en un medio libre de toxicidad que consiste en una solución de NaCl al 2% en agua desionizada sin muestra (control), contra una alícuota de dicho microorganismo en la muestra a analizar.

Las diferencias de emisión de luz entre el control y las muestras se consideran significativas cuando los valores obtenidos son iguales o superiores a 17 Unidades Relativas de Luz (URL) (Environment Canada, 1992). Valores positivos superiores a 17 URL significan una reducción de la emisión de luz respecto al control por algún efecto tóxico sobre la vía metabólica. Valores negativos en la diferencia de emisión entre el control y las muestras indican un efecto de sobreexcitación del metabolismo bacteriano, con la consiguiente sobreproducción de luz. Dicho fenómeno puede considerarse tóxico cuando la diferencia es superior a 17 URL. Para medir la luminosidad se utiliza el fotómetro Microtox® modelo 500, que mide la luz remanente en una longitud de onda de 490 nm (MVOTMA, 2017b; Environment Canada, 1992; Environment Canada, 1999).

Para la realización de estos estudios se tuvieron en cuenta las normas de bioseguridad y las normas de control de calidad establecidas para la realización de trabajos en el Laboratorio S&B (MVOTMA, 2017b).

## c.2. Análisis fisicoquímicos

Los análisis fisicoquímicos fueron realizados en el Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU). Estos estudios se consignan en la Tabla 1.

**TABLA 1.** Referencias bibliográficas para las técnicas fisicoquímicas utilizadas.

Parámetros	Referencia
Sólidos disueltos volátiles	
Sólidos disueltos fijos	APHA 2540E
Sólidos suspendidos fijos	
Sólidos suspendidos volátiles	
Sólidos fijos (mg/l)	APHA 2540E
Sólidos volátiles	
DBO5 (como O2)	ISO 5815-2-2003

Parámetros	Referencia
DQO (como O <sub>2</sub> )	ISO 15705
pH	PEC.PQAR.101 basado en APHA 4500 H
Conductividad	PEC.PQAR.112 basado en Norma ISO 7888-1985-05-15
Fósforo soluble (como P)	PEC.PQAR.113 basado en ISO 10304-1/2007
Nitratos (como N)	PEC.PQAR.114 basado en ISO 8467
Oxidabilidad (como O <sub>2</sub> )	PEC.PQAR.114 basado en ISO 8467
Amonio (como N)	PEC.PQAR.612 basado en APHA 4500 NH <sub>3</sub> -D
Oxidabilidad (como O <sub>2</sub> )	PEC.PQAR.114 basado en ISO 8467
Amonio (como N)	PEC.PQAR.612 basado en APHA 4500 NH <sub>3</sub> -D
Sólidos totales	PEC.PQAR003 basado en APHA 2540 B, 22 <sup>a</sup> ed, 2012
Sólidos totales disueltos	PEC.PQAR004 basado en APHA 2540C-1997
Sólidos suspendidos totales	PEC.PQAR006 basado en APHA 2540 D, 22 <sup>a</sup> ed, 2012
Nitrógeno total (como N)	PEC.PQAR606 basado en ISO 11905-2
Fósforo total (como P)	QuikChem method 31-115-01-03-D

#### d) Análisis estadístico

El sistema Microtox® procesa los datos obtenidos mediante el Software MicrotoxOmni. Los datos obtenidos de los modelos de *Daphnia magna* se analizaron por modelos no paramétricos o mediante un análisis Probit (Bliss, C.I., citado por Cochran y Finney, 1979) o de Spearman-Kärber (Spearman, 1908; Kärber, 1931), mientras que en el modelo de *Lactuca sativa* se presentan como la media y el desvío estándar, para luego comparar los resultados con el grupo control mediante un análisis de varianza y un post test. En todos los casos el nivel de significancia se estableció para un  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS

### Bioensayos

*Lactuca sativa*: En ninguno de los muestreos, en cada establecimiento, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre muestras, pero sí se observó un leve efecto de bioestimulación respecto al control ( $P < 0,05$ ).

*Daphnia magna*: En cuanto al ensayo agudo (48 hs) de *Daphnia magna*, cuyo punto final de evaluación es la mortalidad de los ejemplares, no se observó mortalidad

en los ejemplares expuestos a las distintas concentraciones estudiadas (10, 25, 50, 75 o 100%), para ninguno de los muestreos efectuados en ambos establecimientos.

Microtox®: En el primer muestreo, la única muestra que evidenció un efecto tóxico fue la obtenida frente al corral del establecimiento B. Mientras que en el segundo muestreo los efectos tóxicos se evidenciaron en todos los puntos del establecimiento A y aguas arriba del establecimiento B, aunque en ese muestreo no se obtuvieron resultados para la muestra enfrente al corral (Tabla 2).

**TABLA 2.** Ensayo ecotoxicológico con la bacteria bioluminiscente *Vibrio fischeri* (sistema Microtox®).

Muestras	Ensayo Microtox	Establecimiento A			Establecimiento B		
		Aguas arriba	Frente al corral	Aguas abajo	Aguas arriba	Frente al corral	Aguas abajo
Primer muestreo	CE <sub>50</sub> , 5 minutos	-13,98	-9,86	-11,24	-10,62	-24,15*	-8,49
	CE <sub>50</sub> , 15 minutos	-14,72	-11,22	-11,87	-14,54	-25,27*	-14,39
Segundo muestreo	CE <sub>50</sub> , 5 minutos	-5,6	-3,83	-8,83	-11,92	•	6,32
	CE <sub>50</sub> , 15 minutos	-20,99*	-20,79*	-23,25*	-28,66*	•	-7,68

\* Diferencias significativas • Valores afectados por turbidez.

CE<sub>50</sub>: Concentración efectiva para reducir un 50% la luminiscencia con respecto al blanco.

## Estudios fisicoquímicos

Del total de los análisis fisicoquímicos realizados a los cursos de agua (19), cinco están incluidos dentro de las exigencias del Decreto 253/79 (Uruguay, 1979) para la categoría 2a.

En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos y los rangos de aceptación en aquellos parámetros que corresponden al Decreto 253/79 (Uruguay, 1979). En los parámetros que no se encuentran en el decreto se aclara NCD (no corresponde al decreto).

TABLA 3. Ensayos fisicoquímicos para el establecimiento A.

Parámetros	Establecimiento A						Rango de aceptación
	Primer muestreo			Segundo muestreo			
	Aguas arriba	Frente al corral	Aguas abajo	Aguas arriba	Frente al corral	Aguas abajo	
pH	8,33	8,22	7,64	7,86	7,96	8,30	Entre 6,5 y 9
Conductividad (µS/cm)	490	512	502	639	947	853	NCD
Sólidos totales (mg/L)	372	393	344	530	712*	643	Máximo 700 mg/L
Sólidos fijos (mg/L)	271	242	219	397	577	510	NCD
Sólidos totales disueltos (mg/L)	368	386	334	523	701	637	NCD
Sólidos disueltos fijos (mg/L)	271	241	217	393	570	507	NCD
Sólidos suspendidos totales (mg/L)	4,4	6,80	10,0	7,0	11,0	6,0	NCD
Sólidos suspendidos fijos (mg/L)	ND	1,2	2,4	4,2	7,0	3,8	NCD
Sólidos suspendidos volátiles (mg/L)	4,4	5,6	7,6	<3	4,0	<3	NCD
Oxidabilidad (mg/L)	10,8	10,1	10,8	11,4	4,71	3,46	NCD
DBO <sub>5</sub> (mg/L)	0,9	<0,5	<0,5	1,8	2,4	1,6	Máximo 10 mg/L
DQO (mg/L)	20	24	19	35	<14	<14	NCD
Amonio (mg/L)	<0,02	ND	<0,02	0,15	0,16	0,1	NCD
Nitrógeno total (mg/L)	2,24	2,28	2,35	0,87	3,68	3,85	NCD

Establecimiento A							
Parámetros	Primer muestreo			Segundo muestreo			Rango de aceptación
	Aguas arriba	Frente al corral	Aguas abajo	Aguas arriba	Frente al corral	Aguas abajo	
Nitratos (mg/L)	1,41	1,51	1,55	<0,034	3,64	3,96	Máximo 10 mg/L, como N
Nitritos (mg/L)	0,068	0,067	0,065	ND	ND	ND	NCD
Fósforo soluble (mg/L)	0,57	0,57	0,56	0,23	0,11	0,2	NCD
Fósforo total (µg/L)	616*	645*	609*	367*	283*	442*	Máximo 25 µg/L

ND: no detectable. \* Valores por encima de la normativa.

NCD: no corresponde al Decreto 253/79 (Uruguay, 1979)

**TABLA 4.** Ensayos fisicoquímicos obtenidos para el establecimiento B.

Establecimiento B							
Parámetros	Primer muestreo			Segundo muestreo			Rango de aceptación
	Aguas arriba	Frente al corral	Aguas abajo	Aguas arriba	Frente al corral	Aguas abajo	
pH	7,78	7,60	7,72	7,98	8,14	8,26	Entre 6,5 y 9,0
Conductividad (µS/cm)	498	468	484	565	616	666	NCD
Sólidos totales (mg/L)	378	393	347	401	454	486	Máximo 700 mg/L
Sólidos fijos (mg/L)	287	266	206	314	377	383	NCD
Sólidos totales disueltos (mg/L)	366	383	347	398	450	481	NCD
Sólidos disueltos fijos (mg/L)	281	264	206	313	376	380	NCD
Sólidos suspendidos totales (mg/L)	12,0	9,7	ND	3,0	4,5	5,7	NCD

Establecimiento B							
Parámetros	Primer muestreo			Segundo muestreo			Rango de aceptación
	Aguas arriba	Frente al corral	Aguas abajo	Aguas arriba	Frente al corral	Aguas abajo	
Sólidos suspendidos fijos (mg/L)	6,0	2,1	ND	<3	ND	3,0	NCD
Sólidos suspendidos volátiles (mg/L)	6,0	7,6	ND	<3	4,2	<3	NCD
Oxidabilidad (mg/L)	10,89	8,4	8,79	2,6	6,29	5,72	NCD
DBO <sub>5</sub> (mg/L)	1	<0,5	1,6	1,5	6,9	4,6	Máximo 10 mg/L
DQO (mg/L)	<14	<14	20	<14	30	27	NCD
Amonio (mg/L)	0,06	0,05	0,02	0,07	1	0,11	NCD
Nitrógeno total (mg/L)	3,07	3,75	4,13	1,41	1,68	1,17	NCD
Nitratos (mg/L)	2,57	2,82	3,04	1,37	0,15	0,18	Máximo 10 mg/L, como N
Nitritos (mg/L)	0,081	0,116	0,154	ND	ND	ND	NCD
Fósforo soluble (mg/L)	0,28	1,02	1,56	0,028	4,00	4,05	NCD
Fósforo total (µg/L)	343*	1080*	1700*	131*	4120*	4300*	Máximo 25 µg/L

ND: no detectable. \* Valores por encima de la normativa. NCD: no corresponde al Decreto 253/79 (Uruguay, 1979)

## DISCUSIÓN

Los bioensayos, a diferencia de los estudios fisicoquímicos, no evalúan los componentes de la matriz, ni sus variables físicas, sino que miden directamente la acción de la matriz sobre modelos biológicos. Se busca predecir el potencial efecto de la contaminación de esta matriz sobre el medioambiente de acuerdo a las recomendaciones internacionales (Environment Canada, 1999) y, análogamente a lo que se plantea en el Decreto 182/013 (Uruguay, 2013), empleando organismos que se encuentran en tres ambientes físicos: bacterioplanctónicos (*Vibrio fischeri*), zooplanctónicos (*Daphnia magna*), y terrestre (*Lactuca sativa*), pertenecen a tres niveles tróficos [*L. sativa*,

autotrófico; *D. magna*, consumidor primario, y *V. fischeri*, heterótrofo detritívoro (Spósito y Espínola, 2016)], y tres especies pertenecientes a distintos reinos. De este modo, la diferencia en respuestas de los organismos frente a los tóxicos es tenida en cuenta, ya que las especies elegidas tienen tres niveles de complejidad diferentes en su organización biológica (bacterias, crustáceos y plantas), lo cual disminuye la incertidumbre con respecto a usar un bioensayo único.

Si bien no se evidenciaron niveles de toxicidad con el modelo de *Daphnia magna*, se observó bioestimulación leve tanto con el ensayo de *Lactuca sativa*, como con el ensayo con *Vibrio fischeri* (Microtox®) que manifestó niveles leves de toxicidad ( $\Delta URL < 30\%$  del total).

En el segundo muestreo del establecimiento B se presentó interferencia por turbiedad en uno de los triplicados del ensayo de Microtox®, por lo que se consideraron solamente resultados de las otras dos réplicas en el análisis estadístico de los datos.

Si bien no se produce franca toxicidad, la presencia de los valores negativos en el ensayo de *Vibrio fischeri* indica una estimulación del metabolismo bacteriano. Esta estimulación (bioestimulación del crecimiento denominada hormesis) puede deberse a la presencia de determinados nutrientes o sustancias moduladoras del metabolismo, que pueden afectar en esa forma a *L. sativa* (Agathokleous, 2018), pero no existen informes sobre si el fósforo en exceso puede ocasionar este efecto en *V. fischeri*. Además de los nutrientes, en las muestras podrían existir mezclas de compuestos orgánicos responsables de ese efecto, pero la determinación de la ocurrencia de estas últimas no estuvo en el alcance de este trabajo. Sin embargo, otros autores en estudios que expusieron a esta bacteria bioluminiscente a concentraciones bajas de productos farmacéuticos y de cosméticos observaron que en algunos casos se evidenciaban curvas de dosis-respuesta en forma de U invertida o de J y que 55% de ellos presentaban efectos estimulantes por debajo del punto de concentración cero (Ortiz de García, et al., 2016). También se ha visto que los antibióticos para uso humano y veterinario inducen hormesis en plantas (Agathokleous, et al., 2018). Es por eso que en investigaciones futuras se podría profundizar el estudio agregando determinaciones de residuos de antibióticos, ectoparasitarios y otros contaminantes emergentes y disruptores endócrinos, así como también evaluar la presencia de genes de resistencia bacteriana. Asimismo, sería interesante evaluar los efectos en otras especies, por ejemplo en peces.

Los sólidos totales superan el valor de la normativa frente al corral en el establecimiento A en el segundo muestreo. Según Sorensen et al. (1977), las concentraciones de sólidos suspendidos totales que pueden existir en los efluentes de feedlots contendrían desde 1000 a 13400 mg/L, o más, de sólidos suspendidos y otros contaminantes. Este mismo autor explica que a través de los sólidos suspendidos se puede producir el transporte de nutrientes, en especial fósforo, responsables de la eutrofización. También sostiene que es importante evaluar los aportes de sólidos disueltos totales fijos, ya que dan una idea de las sales minerales existentes, pero también la presencia de los sólidos disueltos volátiles, que aporta información sobre los componentes orgánicos (Sorensen, et al., 1977).

En cuanto a los niveles de fósforo total, estos se encontraban por encima de lo establecido en la normativa nacional (Decreto 253/79; Uruguay, 1979), incluso desde

aguas arriba a los establecimientos. Los valores de fósforo se vieron incrementados a medida que atravesaban los establecimientos (Tablas 3 y 4).

Estudios realizados en otras cuencas, Cuenca del Río Santa Lucía, por ejemplo, han demostrado que las áreas de manejo agrícola intensivo pueden tener valores de fósforo en el orden de los obtenidos en este estudio (Barreto, et al., 2017). A pesar de que las concentraciones de fósforo total fueron muy superiores a las admitidas por la normativa, en el momento de los muestreos no se apreciaban floraciones de algas, pero sería conveniente realizar un monitoreo con periodicidad estacional.

También se observó en ambos muestreos del establecimiento B un aumento muy marcado en las concentraciones relativas del fósforo soluble en las muestras frente al establecimiento y aguas abajo, respecto a los niveles obtenidos aguas arriba, comportamiento que se observó también en el establecimiento A pero no en la misma magnitud.

En cuanto a nitrógeno total y nitratos, en ambos establecimientos se observaron variaciones relativas de los valores obtenidos aguas arriba con los obtenidos frente al corral y aguas abajo, lo que deja planteada la hipótesis de que el aumento de estos podría deberse a un aporte de los corrales.

Cabe destacar que, en ninguno de los muestreos, los niveles de nitratos superaron lo establecido por la normativa nacional, a pesar de que existieron variaciones relativas en los diferentes puntos de muestreo.

Debido a que la matriz empleada para este estudio es una matriz dinámica (curso de agua continuo), habría que considerar el uso del suelo de la cuenca del Río Negro para tener en cuenta todas las fuentes posibles complementarias al sistema de feedlots (por ejemplo, de la agricultura). De todos modos, una hipótesis a considerar es que los efectos observados podrían ser causados por las actividades que se desarrollan alrededor del punto de muestreo en cuestión. Los feedlots relevados en este estudio realizan un manejo de sus efluentes que consiste en el retiro de la capa superficial de la tierra que queda en los corrales con retroexcavadoras luego de cumplido el ciclo productivo y el retiro de los animales del corral, permitiendo posteriormente proceder a realizar la fermentación en el terreno, por lo que es de esperar que se produzca el ingreso de los contaminantes por infiltración al terreno y escorrentía luego de precipitaciones.

Para poder afirmar estas hipótesis sería necesario realizar un estudio con mayor número de muestreos y más extendido en el tiempo para contar con un respaldo estadístico de los valores obtenidos, así como para correlacionar la intensidad de las precipitaciones con las concentraciones recibidas en el curso de agua.

Un estudio complementario podría ser el análisis de los sedimentos de estos arroyos, ya que en ellos precipitan elementos que reflejan de una forma estática el estado de situación (García, et al., 2017). Además, sería interesante investigar el agua subterránea, que brindaría información sobre los posibles efectos de contaminación de esta matriz.

## CONCLUSIONES

En los estudios realizados con *Daphnia magna* no se detectaron niveles de toxicidad, mientras que con los modelos de *Lactuca sativa* y *Vibrio fischeri* se detectaron niveles de toxicidad leve en todos los puntos del muestreo. En cuanto a los parámetros físicoquímicos, los cursos de agua previo al ingreso a los establecimientos ya se encontraban con niveles de fósforo total por encima de los establecidos en la normativa. No obstante, se pudo observar variaciones en las concentraciones relativas en los diferentes puntos de muestreo y establecimientos para las concentraciones de fósforo total, fósforo soluble, nitratos y nitrógeno total, a medida que el curso de agua avanza por los puntos de muestreo en ambos establecimientos, pero en forma más notoria en el establecimiento con mayor dotación de animales.

## REFERENCIAS

- Achkar, M., Dominguez, A. y Pesce, F., 2012. *Cuenca del Santa Lucia, aportes para la discusión ciudadana*. Montevideo: Redes. [Consulta: 2 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://www.redes.org.uy/2012/12/12/cuenca-del-rio-santa-lucia-uruguay-aportes-para-la-discusion-ciudadana/>
- Agathokleous, E., 2018. Environmental hormesis, a fundamental non-monotonic biological phenomenon with implications in ecotoxicology and environmental safety. En: *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148, pp.1042–1053. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.003>
- Agathokleous, E., Mitsutoshi, K. y Calabrese, E.J., 2018. Human and veterinary antibiotics induce hormesis in plants: Scientific and regulatory issues and an environmental perspective. En: *Environment International*, 120, pp.489-495.
- Álvarez, A., D'Elía, M., Paris, M., Fasciolo, G. y Barbazza, C., 2011. Evaluación de la contaminación de acuíferos producida por actividades de saneamiento y re-uso de efluentes en el norte de la provincia de Mendoza. En: *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. UNCuyo*, 43(1), pp.19-39. [Consulta: 02 de marzo de 2019]. Disponible en: [http://revista.fca.uncu.edu.ar/index.php?option=com\\_content&view=article&id=117:evaluacion-de-la-contaminacion-de-acuíferos-producida-por-actividades-de-saneamiento-y-re-uso-de-efluentes-en-el-norte-de-la-provincia-de-mendoza&catid=11:no-1-ano-2011&Itemid=16](http://revista.fca.uncu.edu.ar/index.php?option=com_content&view=article&id=117:evaluacion-de-la-contaminacion-de-acuíferos-producida-por-actividades-de-saneamiento-y-re-uso-de-efluentes-en-el-norte-de-la-provincia-de-mendoza&catid=11:no-1-ano-2011&Itemid=16)
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Pollution Control Federation (WPCF), 1992. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington: APHA.
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Pollution Control Federation (WPCF), 1997. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington: APHA.
- American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation, 2012. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 22<sup>a</sup> ed. Washington: APHA. Standard Method 4500 CL, Approved 1997-Rev. 2011.

- Ansari, A.A., 2011. *Eutrophication: causes, consequences and control*. Berlín: Springer, Dordrecht, [Consulta: 02 de marzo de 2019]. Disponible en: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsebk&AN=371421&lang=es&site=eds-live>.
- Apa, M. y Del Campo, M., 2009. *Relevamiento del desempeño ambiental del sector engorde a corral*. Montevideo: BID. (Proyecto BID URU 07/12).
- Barreto, P., Dogliotti, S. y Perdomo, C., 2017. Surface water quality of intensive farming areas within the Santa Lucía River Basin of Uruguay. En: *Air, Soil and Water Research*, 10, pp.1–8
- Bowers, N., Pratt, J., Beeson, D. y Lewis, M., 1997. Comparative evaluation of soil toxicity using lettuce seeds and soil ciliates. En: *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16(2), pp.207-213. <https://doi.org/10.1002/etc.5620160216>
- Castillo, G., ed., 2004. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones* [En línea]. México: IMTA, 2004. [Consulta: 02 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://www.idrc.ca/en/book/ensayos-toxicologicos-y-metodos-de-evaluacion-de-calidad-de-aguas-estandarizacion>
- Castro Scarone, S., Míguez Caramés, D., Viana Matturro, F. y Espínola Moltedo, J.C., 2002. *Los bioensayos como herramienta de evaluación de la toxicidad de los efluentes industriales en Uruguay: informe final*. Montevideo: DINAMA, LATU, Facultad de Ciencias, IMM, IDRC.
- Cheung, Y.H., Wong, M.H y Tam, N.F.Y., 1989. Root and shoot elongation as an assessment of heavy metal toxicity and Zn equivalent value' of edible crops. En: *Hydrobiologia*, 188/189, pp.377-383.
- Cochran, William G. y Finney, D., 1979. Chester Ittner Bliss, 1899-1979. En: *Biometrics*, 35(4), pp.715–717. [Consulta: 02 de marzo de 2019]. Disponible en: [www.jstor.org/stable/2530102](http://www.jstor.org/stable/2530102).
- Davis, R.J. y Watts, P.J., 2011. *Environmental sustainability assessment of the australian feedlot industry. Part F report: resource use and environmental impact assessment* [En línea]. Sydney: MLA. [Consulta: 17 de mayo 2019]. Disponible en: <https://www.mla.com.au/download/finalreports?itemId=735>
- Dutka, B., 1989. *Short-term root elongation toxicity bioassay. Methods for toxicological analysis of waters, wastewaters and sediments*. California: NWRI.
- Edley, M.T y Law, R., 1988. Evolution of life histories and yields in experimental population of *Daphnia magna*. En: *Biol. J. Limn. Soc.*, 34, pp.309-326.
- Elendt, B.P. y Bias, W.R., 1990. Trace nutrient deficiency in *daphnia magna* cultured in standard medium for toxicity testing effects of the optimization of culture conditions on life history parameters of *Daphnia magna*. En: *Wat. Res.*, 24(9), pp.1157-1167.
- Ellis, R.H., Hong, T.D. y Roberts, E.H., 1985. *Handbook of seed technology for genebanks. Vol.1 principles and methodology, international board of plant genetic resources*. Roma: IBPGR.
- Environment Canada, 1992. *Biological test method: toxicity test using luminescent bacteria. EPS 1/RM/24* [En línea]. Ottawa: Environment Canada. [Consulta: 02

- de marzo de 2019]. Disponible en: <http://publications.gc.ca/site/eng/9.579452/publication.html>
- Environment Canada, 1999. *Guidance document on application and interpretation of single-species tests un environmental toxicology. EPS 1/RM/34*. [En línea]. Ottawa: Enviroment Canada. [Consulta: 02 de marzo de 2019]. Disponible en: <http://publications.gc.ca/site/eng/9.579411/publication.html>
- García, J., Lercari, D., Araujo, B.F., Almeida, M.G. y Rezende, C.E., 2017. Total and extractable elemental composition of the intertidal estuarine biofilm of the Río de la Plata: Disentangling natural and anthropogenic influences. En: *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 187(5), pp.53-61.
- Girling, A.E., Garforth, B.M., 1989. Influence of variations in culture medium on the survival and reproduction of *Daphnia magna*. En: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 42, pp.119-125.
- Goulden, C.E., Hendrickson, J.A., Comotto, R.M. y Johnson, K.L., 1982. *Procedures and recomendations for the culture and use of Daphnia in bioassay studies STP 766*. Filadelfia: ASTM. Doi: 10.1520/STP36715S
- Grünwaldt, E.G. y Guevara, J.C., 2011. Rentabilidad del engorde a corral de bovinos de carne en la provincia de Mendoza, Argentina. En: *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. UNCuyo*, 43(2), pp.21-34. [Consulta: 02 de marzo de 2019]. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1853-86652011000200002](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1853-86652011000200002)
- Gutiérrez, L.E., 1989. *Procedimientos de evaluación tóxica de efluentes industriales líquidos utilizando Daphnia magna Straus (Cladócera, Crustácea)*. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.
- Hernández, A., 2011. Alternativas de gestión de efluentes y residuos sólidos en establecimientos de engorde a corral [En línea]. En: MVOTMA. *Jornada técnica: prevención de los impactos ambientales de establecimientos de engorde a corral*. Montevideo: MVOTMA. [Consulta: 02 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://mvotma.gub.uy/component/k2/item/10009793-jornadas-tecnicas-de-prevencion-de-impactos-ambientales-en-los-sistemas-de-engorde-a-corrall>
- International Organization for Standarization, 1998. ISO 5667-16: *Water quality -- Sampling -- Part 16: Guidance on biotesting of samples*. Ginebra: ISO.
- International Organization for Standarization, 2002. ISO 15705: *Water quality. Determination of the chemical oxygen demand index (ST-COD). Small-scale sealed-tube method*. Ginebra: ISO.
- INUMET, Instituto Uruguayo de Meteorología, 2019. *Boletín pluviométrico* [En línea]. Montevideo: INUMET. [Consulta: 28 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://www.inumet.gub.uy/clima/recursos-hidricos/boletin-pluviometrico>.
- Kaiser, K., 1991. Photobacterium phosphorum toxicity data index. En: *Water Quality Research Journal of Canada*, 26(3), pp.361-431.
- Kärber, G., 1931. Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche [A contribution to the collective treatment of a pharmacological experimental series]. En: *Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, 162, pp.480-483.

- Klüttgen, B., Dülmer, U., Engels, M. y Ratte, H.T., 1994. ADam and artificial freshwater for the culture of zooplankton. En: *Water Research*, 28(3), pp.743-746.
- Lewis, M.A y Maki, A.W., 1981. Effects of water hardness and diet on productivity of daphnia magna strauss, in laboratory culture. En: *Hydrobiology*, 85, pp.175-179.
- Macirowski, A. F., Little, L. W., Raynor, L. F., Sims, Ronald, C. y Sims, J. L., 1983. Bioassays- procedures and results. En: *Water Pollution Control Federation*, 55(6), pp.801-816. [Consulta: 17 de junio de 2019]. Disponible en: [https://digitalcommons.usu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1063&context=bioeng\\_facpub](https://digitalcommons.usu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1063&context=bioeng_facpub)
- Mazzeo, N., García-Rodríguez, Felipe, Rodríguez, Adriana, Méndez, Gustavo, Iglesias, Carlos, Inda, Hugo, Goyenola, Guillermo, García, Soledad, Fosalba, Claudia, Marroni, Soledad, Crisci, Carolina, del Puerto, Laura, Clemente, Juan, Pacheco, Juan Pablo, Carballo, Carmela, Kröger, Alejandra, Vianna, Mariana, Meerhoff, Mariana, Steffen, Manfred, Lagomarsino, Juan José, Masdeu, Malvina, Vidal, Nicolás, Teixeira de Mello, Franco, González Bergozoni, Iván y Diego Larrea, 2010. Fundamentos científicos: certezas e incertidumbres. En: Steffen, Manfred e Inda, Hugo, ed. *Bases técnicas para el manejo integrado de Laguna del Sauce y cuenca asociada* [En línea]. Cap. 5. Montevideo: Universidad de la República. pp. 31-52. [Consulta: 02 de marzo de 2019]. Disponible en: [http://www.saras-institute.org/images/publications/laguna\\_del\\_sauce.pdf](http://www.saras-institute.org/images/publications/laguna_del_sauce.pdf)
- MVOTMA. Ministerio de Vivienda Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente, 2017a. *Guía de buenas prácticas ambientales y sanitarias de establecimientos de engorde de bovinos a corral* [En línea]. Montevideo: AUPCIN, INIA, MGAP, MVOTMA. [Consulta: 13 de mayo de 2019]. Disponible en: [http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/guia\\_de\\_buenas\\_practicas\\_ambientales\\_y\\_sanitarias\\_de\\_establecimientos\\_de\\_engorde\\_de\\_bovinos\\_a\\_corral.pdf](http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/guia_de_buenas_practicas_ambientales_y_sanitarias_de_establecimientos_de_engorde_de_bovinos_a_corral.pdf)
- MVOTMA. Ministerio de Vivienda Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente, 2017b. *Manual para procedimientos analíticos para muestras ambientales. Técnica 6159UY* [En línea]. 3ra ed. Montevideo: MVOTMA. [Consulta: 02 de marzo de 2019] Disponible en: <https://www.mvotma.gub.uy/component/k2/item/10010852-toxicidad-aguda-en-fase-liquida-utilizando-vibrio-fischeri-basic-test-6159uy>
- OECD, Organization for Economic Cooperation and Development, 1984. *Terrestrial plants: growth test. Guideline for testing of chemicals N° 208* [En línea]. Paris: OECD. [Consulta: 02 de marzo de 2019] Disponible en: [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-208-terrestrial-plant-test-seedling-emergence-and-seedling-growth-test\\_9789264070066-en](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-208-terrestrial-plant-test-seedling-emergence-and-seedling-growth-test_9789264070066-en)
- Ortiz de García, S., García-Encina, P.A. y Irusta-Mata, R., 2016. Dose-response behavior of the bacterium *Vibrio fischeri* exposed to pharmaceuticals and personal care products. En: *Ecotoxicology*, 25(1), pp.141-162.
- Rahman, S., Scherer, T., Rahman, A. y Lang, J., 2013. *Water quality of runoff from beef cattle feedlots*. North Dakota: North Dakota State University. [Consulta: 02 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://www.ag.ndsu.edu/publications/environment-natural-resources/water-quality-of-runoff-from-beef-cattle-feedlots>
- Rodríguez Romero, A., Robles Salazar, C., Ruíz Picos, R., López López, E., Sedeño Díaz, J. y Rodríguez Dorantes, A., 2014. Índices de germinación y elongación

- radical de *Lactuca sativa* en el biomonitoreo de la calidad del agua del río Chalma / Seed germination and root elongation test of *Lactuca sativa* for biomonitoring water quality of the Chalma river. En: *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 30(3), p.307-316.
- Siciliano, A., Gesuele, R., Pagano, G. y Guida, M., 2015. How daphnia (Cladocera) assays may be used as bioindicators of health effects? Mini review. En: *Journal of Biodiversity & Endangered Species*, pp.4-6. doi: 10.4172/2332-2543.S1-005
- Sorensen, D., McCarthy, M., Middlebrooks, E. y Porcella, D., 1977. *Suspended and dissolved solids effects of freshwater biota. A review*. Washington: US EPA. (Ecological Research Series. EPA-600/3-77-042).
- Spearman, C., 1908. The method of "right and wrong cases" ("constant stimuli") without Gauss's formulae. En: *British Journal of Psychology*, 2, pp.227-242.
- Spósito, M. y Espínola Moltedo, J.C., 2016. Evaluación in vitro del efecto tóxico de una formulación comercial de glifosato de amonio sobre cinco especies representantes de diferentes hábitats y niveles tróficos. En: *Innotec*, 12, pp. 48-53.
- Uruguay. Resolución 14/033, [s.d.]. *Diario Oficial*, 2 de junio de 2014, p.8.
- Uruguay. Decreto 182/2013, de 20 de junio de 2013. *Diario Oficial*, 27 de junio de 2013, p.1262.
- Uruguay. Decreto 178/2010, de 07 de junio de 2010. *Diario Oficial*, 17 de junio de 2010, p. 1146.
- Uruguay. Ley 17283/2000, de 28 de noviembre de 2000. *Diario Oficial*, 12 de diciembre de 2000, p.932.
- Uruguay. Decreto 253/1979, de 09 de mayo de 1979. *Diario Oficial*, 31 de mayo de 1979, p. 1473.
- US EPA, 1989. Protocols for short term toxicity screening of hazardous waste sites [En línea]. Washington: US EPA. [Consulta: 02 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/2000HUXX.TXT?ZyActionD=ZyDocument&Client=EPA&Index=1986+Thru+1990&Docs=&Query=&Time=&EndTime=&SearchMethod=1&TocRestrict=n&Toc=&TocEntry=&QField=&QFieldYear=&QFieldMonth=&QFieldDay=&IntQFieldOp=0&ExtQFieldOp=0&XmlQuery=&File=D%3A%5Czyfiles%5CIndex%20Data%5C86thru90%5CTxt%5C00000007%5C2000HUXX.txt&User=ANONYMOUS&Password=anonymous&SortMethod=h%7C-&MaximumDocuments=1&FuzzyDegree=0&ImageQuality=r75g8/r75g8/x150y150g16/i425&Display=hpfr&DefSeekPage=x&SearchBack=ZyActionL&Back=ZyActionS&BackDesc=Results%20page&MaximumPages=1&ZyEntry=1&SeekPage=x&ZyPURL>
- US EPA, 1991. *Methods for measuring the acute toxicity of effluent and receiving waters to freshwater and marine organisms*. 4th ed. Washington: US EPA.
- Wang, W., 1987. Root elongation method for toxicity testing of organic and inorganic pollutants. En: *Environmental Toxicology & Chemistry*, 6, pp.409-414. [Consulta: 20 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/etc.5620060509>

# Variación en pequeña escala de la estructura horizontal y vertical de comunidades macrobentónicas en una laguna costera del Atlántico Sudoccidental

Small-scale variation of the horizontal and vertical structure of macrobenthic communities in a coastal lagoon of the southwestern Atlantic

RECIBIDO: 20/2/2019 → APROBADO: 20/5/2019 ✉ jeny2517@gmail.com

✉ PEREIRA, JENNIFER (1); RODRÍGUEZ, MATILDE (1); SANTOS, SOFÍA (1); KANDRATAVICIUS, NOELIA (1); BUENO, CAROLINA (1); RODRÍGUEZ, MARCEL (1); PÉREZ, LAURA (2); TUDURÍ, ADRIANA (1); VENTURINI, NATALIA (1); BRUGNOLI, ERNESTO (1); MUNIZ, PABLO (1).

(1) OCEANOGRAFÍA Y ECOLOGÍA MARINA, INSTITUTO DE ECOLOGÍA Y CIENCIAS AMBIENTALES (IECA), FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY.

(2) CENTRO UNIVERSITARIO REGIONAL ESTE (CURE), UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, ROCHA, URUGUAY.

---

## RESUMEN

La Laguna de Rocha forma parte de la cadena de lagunas costeras que se extienden por la costa atlántica uruguaya y se continúa hacia el sur de Brasil. Este sistema presenta una dinámica ecológica compleja debido al gradiente marino-salobre. La macrofauna bentónica, componente importante de estos ambientes estuariales, se ve afectada por la compleja dinámica del sistema. Se analizó cómo afectan las lenguas de arena (acumulaciones de arena perpendiculares a la barra) a la fauna macrobentónica. Se buscó establecer la relación del macrobentos con variables ambientales a una escala vertical (estratos dentro del sedimento) y horizontal (a un lado y al otro de las lenguas), y evaluar la influencia de la distancia a la intrusión marina. En todos los puntos de muestreo los parámetros ambientales (materia orgánica, fósforo total, oxígeno disuelto, clorofila-*a* y feopigmentos) presentaron una tendencia vertical (disminución hacia el fondo) y el macrobentos se relacionó con estos cambios. Se observó la dominancia de *Heleobia australis*, *Nephtys fluviatilis* y *Heteromastus similis* en diferentes estaciones y estratos. Existe una partición

espacial de los recursos reflejada por estos cambios de dominancia, mientras que la distribución vertical de la comunidad macrobentónica responde tanto a las condiciones bióticas como a las ambientales.

**PALABRAS CLAVE:** estuario, aguas de transición, escalas espaciales, distribución vertical, Laguna de Rocha, Uruguay.

## ABSTRACT

Rocha Lagoon is Part of the chain of coastal lagoons extended along Uruguayan Atlantic coast, which continues through southern Brazil. It presents a complex ecological dynamic due to the marine-brackish gradient. The benthic macrofauna is an important component of these estuarine environments which is affected by its complex dynamics. In this work, we analysed how sand-tongues (sand accumulation perpendicular to the sandbar) affect the macrobenthic fauna. We established the relationship between macrobenthos and environmental variables on a vertical (different depths within the sediment) and horizontal (both sides of the sand-tongues) scales, as well as evaluating the influence of the distance to the marine intrusion. In all the sampling points, the environmental parameters (organic matter, total phosphorus, dissolved oxygen, chlorophyll-*a* and phaeopigments) showed a vertical trend (decreasing towards the bottom), and the macrobenthos responded to these changes. The dominance of *Heleobia australis*, *Nephtys fluviatilis* and *Heteromastus similis* was observed in different sampling points and sediment depths. There is a spatial partition of resources reflected by these changes in dominance, while the vertical distribution of the macrobenthic community responds to both biotic and environmental conditions.

**KEYWORDS:** estuary, transitional waters, spatial scale, vertical distribution, Rocha Lagoon, Uruguay.

## INTRODUCCIÓN

Los estuarios son cuerpos de agua costeros semicerrados donde el ingreso del agua de mar desde el océano abierto se diluye significativamente en el agua dulce proveniente del drenaje terrestre, pudiendo sostener especies eurihalinas durante parte o todo su ciclo de vida (Perillo, 1995). Entre los sistemas estuarinos, las lagunas costeras son cuerpos de agua someros y salobres, separados del ambiente costero por una barra de arena que se conecta de forma intermitente con el océano por medio de un canal (Kjerfve, 1994). Los ecosistemas de las lagunas costeras son ecológicamente complejos debido a que están periódicamente expuestos a perturbaciones ambientales extremas, como inundaciones por aportes fluviales o intrusiones marinas (Conde y Rodríguez-Gallego, 2002).

Como consecuencia del estrés físico que representan los cambios abruptos de salinidad, provocado por la apertura de la barra, solo las especies capaces de enfrentar tales condiciones hacen uso permanente de estos hábitats, hecho que

condiciona la ocurrencia de las especies en esos ambientes (Sconfiatti, et al., 2003). En los ambientes estuarino-lagunares, la macrofauna bentónica es un componente importante dada la fuerte interacción entre éstos y la columna de agua (Day, et al., 2012). Algunos autores sugieren que el gradiente marino-salobre y su variabilidad temporal podrían explicar la variación en la distribución de los organismos bentónicos (Attrill, 2002; Day, et al., 2012). Además, la fauna también responde al tipo de sedimento, contaminantes y enriquecimiento orgánico, a través de mecanismos indirectos o directos (Giménez, et al., 2014).

Las lagunas costeras uruguayas forman parte de una cadena que se extiende por la costa oceánica y se continúa con las lagunas costeras del sur de Brasil. La cuenca Atlántica uruguaya abarca 9266 km<sup>2</sup> e incluye las lagunas costeras más importantes del país. Entre ellas, se destaca la Laguna de Rocha por su importancia ecológica y social (Wells y Daborn, 1998).

La Laguna de Rocha pertenece al Sistema Nacional de Áreas Protegidas del Uruguay, fue declarada Parque Nacional Lacustre y Área de Uso Múltiple por el Decreto 260/977 (Uruguay, 1977) y es de suma importancia por su alta biodiversidad y productividad (Knoppers, 1994; Conde y Rodríguez-Gallego, 2002; Conde, et al., 2003).

Esta laguna presenta una barra arenosa que se abre de forma natural periódicamente cuando el nivel de agua dentro de la laguna es superior a 1,30 m (Sommaruga y Conde, 1990) y de manera artificial cuando se considera conveniente de acuerdo a un protocolo establecido en el plan de manejo del área protegida (Conde, et al., 2019).

La vegetación circundante está dominada por extensas praderas donde se realizan actividades agrícola/ganaderas y bañados, mientras que al sur hay un cordón dunar (Rodríguez-Gallego, 2010).

El macrobentos de la laguna de Rocha se caracteriza por su baja diversidad, su composición espacial y temporalmente uniforme, y una abundancia que varía estacionalmente (Cardezo, 1989). Dominan los crustáceos (40%), principalmente ostrácodos, seguidos por los moluscos (35%), en particular el gasterópodo *Heleobia australis* y el bivalvo *Erodona mactroides*, y, por último, los poliquetos (25%), dominados por *Nephtys fluviatilis* (Arocena y Prat, 2006).

Se realizan actividades de pesca artesanal en dos pueblos aledaños, La Riviera y Puerto de los Botes, que concentran aproximadamente 49 personas asentadas de forma permanente. Los fines de semana, o según la época del año (producción pesquera y zafra del camarón), se pueden encontrar cientos de pescadores deportivos y familias que los visitan como lugar de descanso (Vitancurt y Fagetti, 1995).

Antiguamente, la laguna se comunicaba con el océano por otro sitio más al este de la actual apertura, denominado Barra Vieja (Panario y Gutiérrez, 2011). A causa del oleaje interno de la laguna (Conde, et al., 2015), se formaron allí acumulaciones de arena perpendiculares a la barra, comúnmente llamadas «lenguas de arena». Estos microambientes se caracterizan por sus diferencias ambientales de un lado y otro y por su distribución espacial, que determina mayor/menor distancia de la intrusión salina que ocurre en el sistema lagunar (Figura 1).

Estudios previos sobre bentos realizados en lagunas costeras de Uruguay (Giménez, et al., 2006; Giménez, et al., 2014; Meerhoff, et al., 2013) indican que los procesos

de pequeña escala juegan un rol importante al definir los patrones espaciales de las comunidades macrobentónicas. Sin embargo, son escasas las investigaciones que examinan la partición vertical del espacio (*i.e.* profundidad) a nivel de microescala espacial, tanto del ambiente físicoquímico como de la distribución de la fauna bentónica (Rodríguez, 2016; Touhami, et al., 2018).

El objetivo de este trabajo fue analizar cómo afecta la presencia de estas «lenguas de arena» a la fauna macrobentónica, relacionándola con los parámetros ambientales a escala vertical (dentro del sedimento) y a escala horizontal (a un lado y al otro de las lenguas de arena). A su vez, se estudió si la distancia a la intrusión de agua marina tiene un efecto en estas estructuras sedimentarias y sus comunidades.

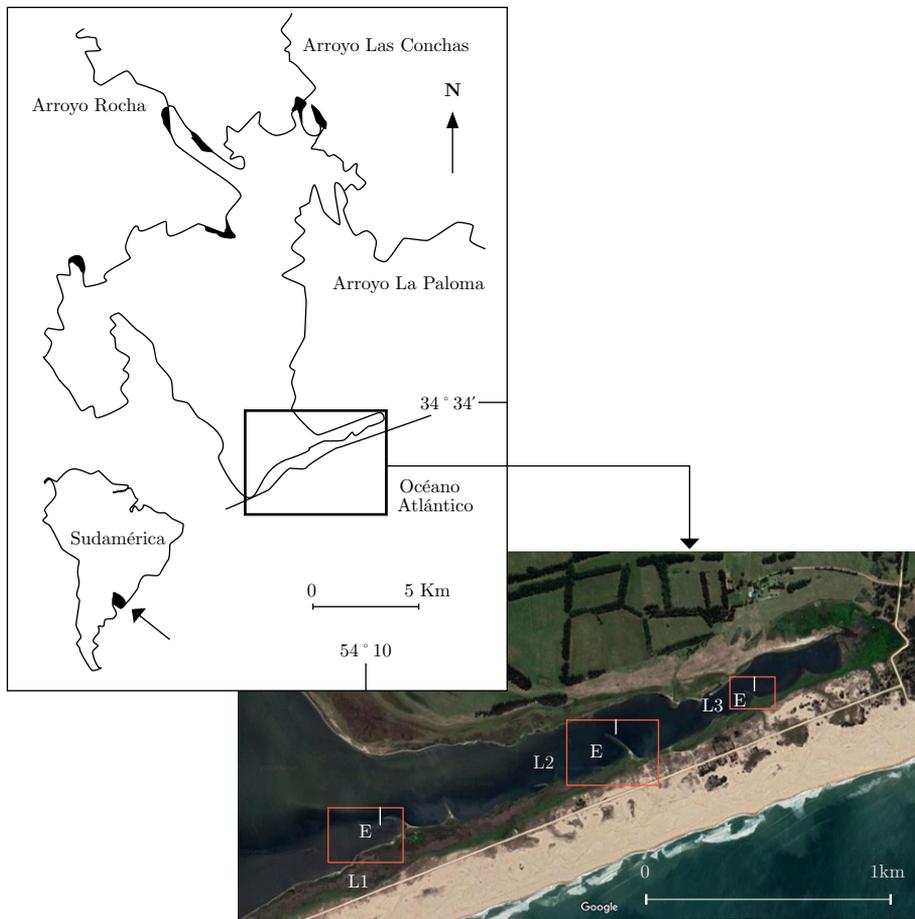
Como primera hipótesis se espera encontrar diferencias en la estructura de la comunidad a un lado y otro de la lengua de arena (escala horizontal), así como también en un gradiente de profundidad (escala vertical), según las características granulométricas del sedimento. Además, se predice que en la lengua más cercana a la intrusión de agua salada se observará una comunidad macrobentónica diferente a las presentes en las lenguas más alejadas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

Este trabajo se realizó en la Laguna de Rocha (34°40' S, 54°16' W) en setiembre de 2016 (invierno-primavera austral), sobre tres lenguas de arena, en adelante nuestras estaciones (L) (Figura 1). El día del muestreo la barra de arena de la laguna se encontraba abierta.

La laguna tiene una superficie de 72 km<sup>2</sup>, profundidad media de 0,6 m, profundidad máxima de 1,4 m y el área de la cuenca es de 1312 km<sup>2</sup> (Clara, et al., 1994). La salinidad varía entre 0,5 y 33, exhibiendo una marcada variación de salinidad en sentido norte-sur. Los sedimentos son principalmente arenosos, aunque hacia el norte de la laguna aumenta su contenido de limo y arcilla (Sommaruga y Conde, 1990). Sus principales afluentes son los arroyos Las Conchas y Rocha (Clara, et al., 1994).



**Figura 1.** Mapa del área de estudio (modificado de Conde et al., 1999), seguido de la vista satelital de la barra vieja de la Laguna de Rocha. Se enmarcan en rojo las estaciones (Lenguas = L) y los puntos de muestreo en cada estación (E = externo, I = interno).

## Muestreo

El muestreo fue realizado jerárquicamente y de forma anidado, sobre tres estaciones (L1, L2 y L3) y en dos puntos, externo (E) e interno (I) (Figura 1), que se dividieron en tres estratos: superficie, medio y fondo. Utilizando tubos de PVC de 12 cm de diámetro interno se extrajeron muestras de sedimento en cada punto, una para granulometría y tres para macrofauna, subdivididas en estratos de 3 cm. Adicionalmente, con tubos de PVC (2,7 cm diámetro interno) se tomaron tres muestras (subdivididas en estratos: superficie, medio y fondo) para analizar fósforo total (Pt), materia orgánica (MO), clorofila-*a* y feopigmentos. Un cuarto tubo fue utilizado para medir la concentración de oxígeno disuelto en el perfil de sedimento utilizando un sensor Unisense OX50.

## Análisis de laboratorio

Para determinar las características granulométricas se empleó el método de tamizado descrito en Suguio (1973). El Pt en sedimento se determinó siguiendo el método modificado de Valderrama (1981), el cual consiste en una digestión previa de las muestras para hidrolizar las formas fosforadas a fosfatos. Luego se determinaron los fosfatos con el método de Murphy y Riley (1962). Para MO se utilizó el procedimiento de pérdida de peso por ignición establecido en Byers et al. (1978). Utilizando el método de Lorenzen modificado por Sundbäck (1983) se determinaron concentraciones de clorofila-*a* y feopigmentos. Por otro lado, las muestras destinadas a la identificación del macrobentos fueron tamizadas (500  $\mu\text{m}$ ) en el campo, preservadas en alcohol 70% y posteriormente analizadas a través de lupa binocular (Olympus SZ61). Se observaron y contabilizaron por réplica y por estrato los organismos presentes, identificados en su gran mayoría a nivel específico utilizando claves de identificación regionales y ayuda de expertos (varios de los propios autores de este trabajo).

## Tratamiento de datos

El tamaño medio de grano y su desviación estándar se determinaron por el método de Folk (1980) usando el programa GRADISTATv8 (Blott y Pye, 2001).

Los datos ambientales fueron normalizados y luego se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para explorar la variación espacial en función de las estaciones/puntos/estratos. La matriz utilizada fue la de correlación y fue de seis variables (MO, Pt, oxígeno, clorofila-*a*, feopigmentos y porcentaje de fango más arena muy fina) por 18 muestras (tres estaciones, dos puntos, tres estratos).

Los datos de abundancia de las especies fueron utilizados para calcular la riqueza específica (S, número de taxa), N (número de individuos), J' (índice de equitatividad; Pielou, 1966) y H' (índice de Shannon-Wiener, con logaritmo en base e).

Se construyó una matriz de similaridad usando la transformación logarítmica ( $x+1$ ) de la abundancia y el índice de Bray-Curtis (Bray y Curtis, 1957). Para observar la similaridad de la composición de comunidades macrobentónicas entre las distintas estaciones de muestreo y los distintos estratos se realizó un análisis de cluster (modo Q) y otro de ordenación (nMDS). También se realizó un análisis de similaridad de una vía (SIMPER, similaridad de porcentajes) para los parámetros abióticos y para las comunidades del macrobentos.

Todos los análisis fueron analizados mediante el software PRIMER 6.0 (Clarke y Gorley, 2006).

Asimismo, se realizaron ANOVAs, modelo jerárquico anidado, con S, N y H', en el caso de que se cumplieran los supuestos de homocedasticidad de varianza y normalidad (Prueba de Bartlett y Cochran). Las diferencias fueron evaluadas usando el Test de Tukey (contraste de medias) a posteriori (Zar, 1999), con un nivel de significancia del 95%. En los casos en que las variables no cumplieron

con los supuestos fueron transformadas por raíz cuadrada y/o log (x+1). Estos análisis se realizaron utilizando el software PAST 3.23 (Hammer et al., 2001).

## RESULTADOS

### VARIABLES AMBIENTALES

La fracción granulométrica dominante fue arena gruesa y las muestras fueron moderadamente bien seleccionadas, excepto L2I Superficie, que se clasificó como moderadamente seleccionada. El porcentaje de fango sumado a la arena muy fina presentó mayores valores en los puntos internos que en los externos (3-5% vs. <2%, respectivamente). A su vez, se observó un marcado gradiente con mayores porcentajes en la superficie que descienden hacia los estratos inferiores, excepto en L2I donde el porcentaje en el fondo fue mayor que en el medio.

Los puntos internos se caracterizaron por tener mayores concentraciones de MO, clorofila-*a* y Pt; esta tendencia ocurrió en los tres estratos. Las diferencias fueron evidenciadas con el ANOVA. El porcentaje de MO de L3 fue mayor a L1 en el estrato superficial, mientras que los estratos medio y fondo de L3I se diferenciaron del resto por presentar mayor porcentaje (Figura 2, Tabla 1).

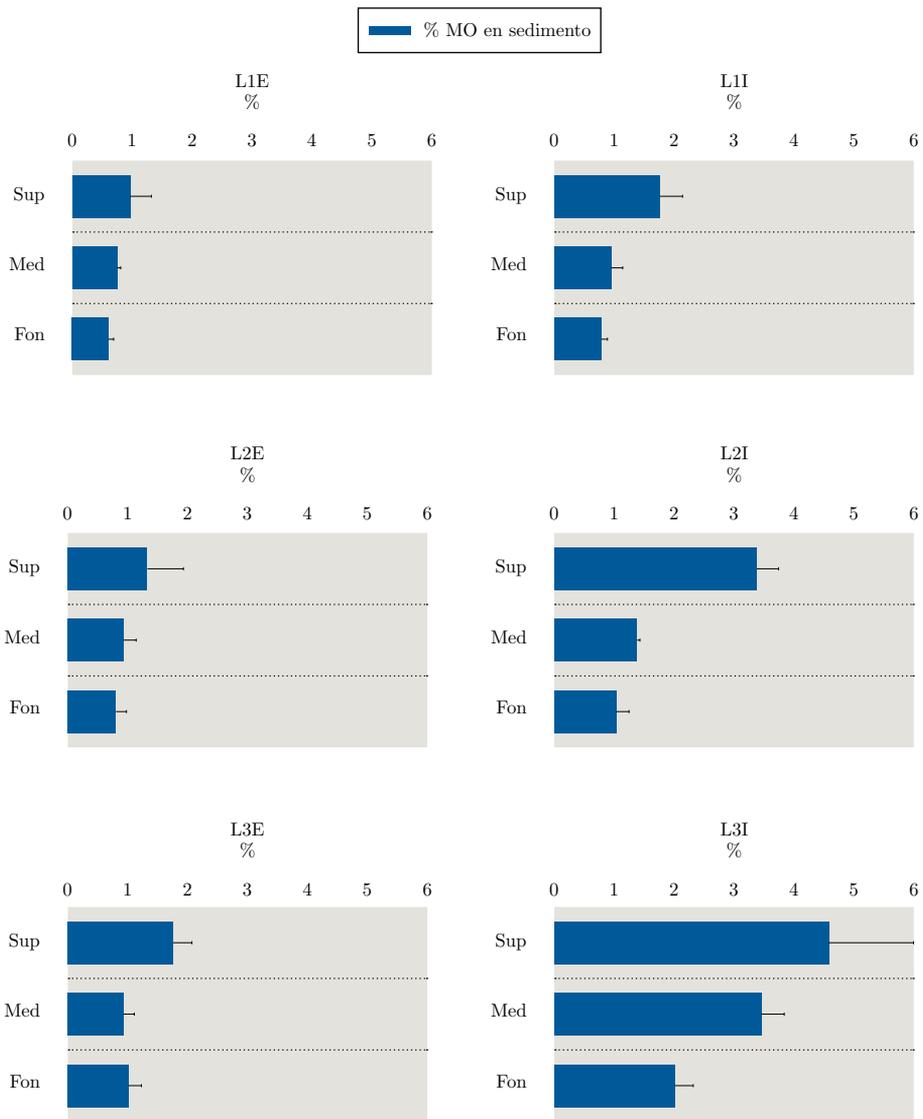
La clorofila-*a* mostró una concentración mayor en la superficie de L2I que en el resto de las muestras superficiales. En el estrato medio no se encontraron diferencias en la concentración de Clorofila-*a* entre estaciones (lenguas). A su vez, esta fue mayor en L3I que en L3E, y en el estrato fondo de L3I fue mayor a todas las otras muestras de fondo (Figura 3, Tabla 1).

Verticalmente se observó una tendencia disminuyendo hacia el fondo de la concentración de MO, clorofila-*a* y feopigmentos (Figura 2, 3).

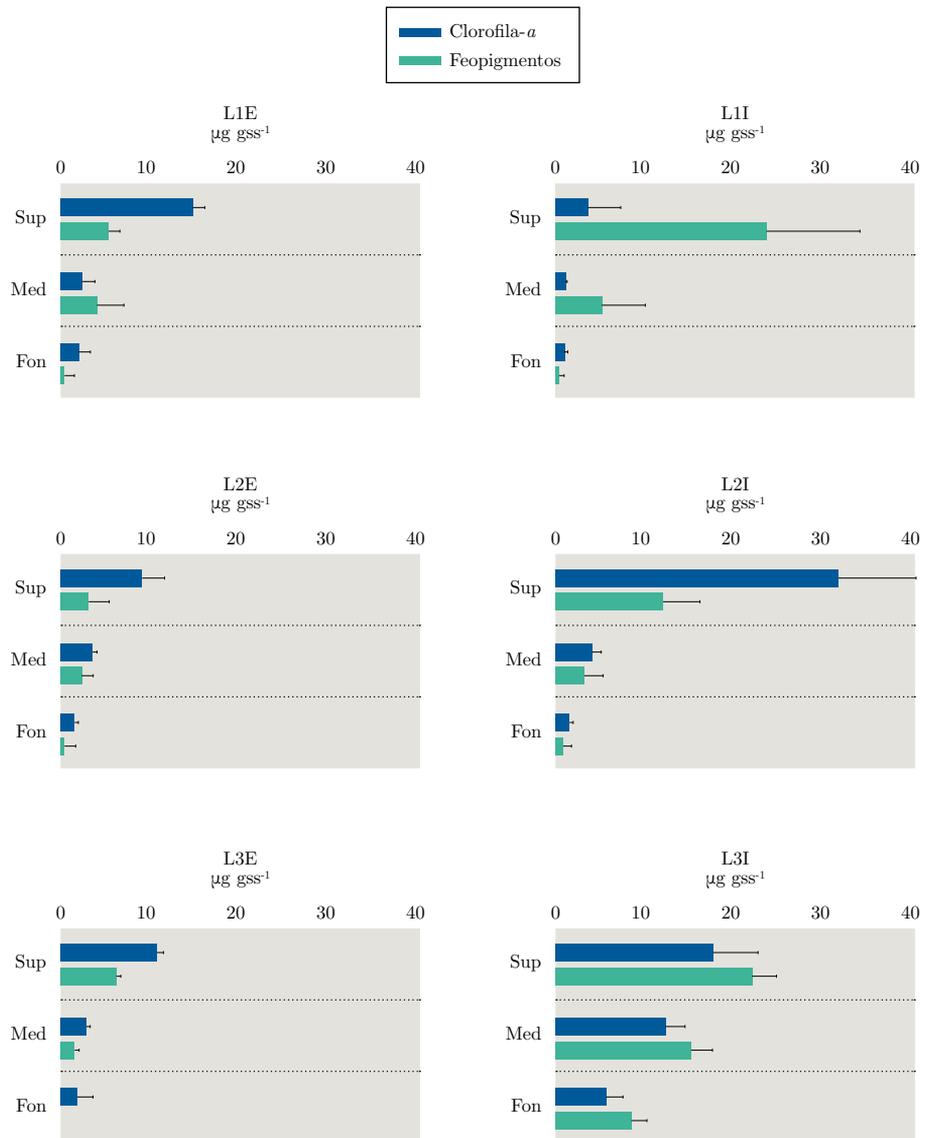
**TABLA 1.** ANOVA de dos vías para evaluar las variaciones entre MO, Clo-*a* y Pt en cada estrato y resultados del test *pos hoc* de Tukey. Donde: CM= Cuadrados medios, Gl= Grados de libertad, MO=porcentaje de materia orgánica total, Clo-*a*=Clorofila-*a*, Sup=superficie, Med=medio, Fon=fondo.

	Efecto	SS	GL	CM	F	P	Tukey	
							CM	GL
MO Sup	L	9,95	2	5,0	10,57	0,002*	0,47	12
	E O I	15,34	1	15,3	32,59	0,000*	0,47	12
	L*E O I	2,95	2	1,5	3,14	0,080	0,47	12
MO Med	L	6,79	2	3,4	38,92	0,000*	0,09	12
	E O I	4,69	1	4,7	53,80	0,000*	0,09	12
	L*E O I	4,96	2	2,5	28,44	0,000*	0,09	12

	Efecto	SS	GL	CM	F	P	Tukey	
							CM	GL
MO Fon	L	2,38	2	1,2	33,03	0,000*	0,04	12
	E O I	0,91	1	0,9	25,18	0,000*	0,04	12
	L*E O I	0,51	2	0,3	7,07	0,009*	0,04	12
Clo-a Sup	L	241,00	2	120,5	8,29	0,005*	14,54	12
	E O I	144,40	1	144,4	9,93	0,008*	14,54	12
	L*E O I	652,10	2	326,1	22,43	0,000*	14,54	12
Raíz Clo-a Med	L	2,99	2	1,5	3,86	0,051	0,39	12
	E O I	4,06	1	4,1	10,48	0,007*	0,39	12
	L*E O I	2,06	2	1,0	2,67	0,110	0,39	12
Clo-a Fon	L	18,02	2	9,0	9,35	0,004*	0,96	12
	E O I	5,38	1	5,4	5,58	0,036*	0,96	12
	L*E O I	23,47	2	11,7	12,17	0,001*	0,96	12
Pt Sup	L	26200,00	2	13100,0	536,30	0,000*	24,41	12
	E O I	16900,00	1	16900,0	693,70	0,000*	24,41	12
	L*E O I	10100,00	2	5057,0	207,20	0,000*	24,41	12
Pt Med	L	7646,00	2	3823,0	37,11	0,000*	103,01	12
	E O I	8734,00	1	8734,0	84,79	0,000*	103,01	12
	L*E O I	4067,00	2	2034,0	19,74	0,000*	103,01	12
Pt Fon	L	189,90	2	95,0	1,12	0,358	84,83	12
	E O I	432,70	1	432,7	5,10	0,043*	84,83	12
	L*E O I	55,70	2	27,9	0,33	0,726	84,83	12

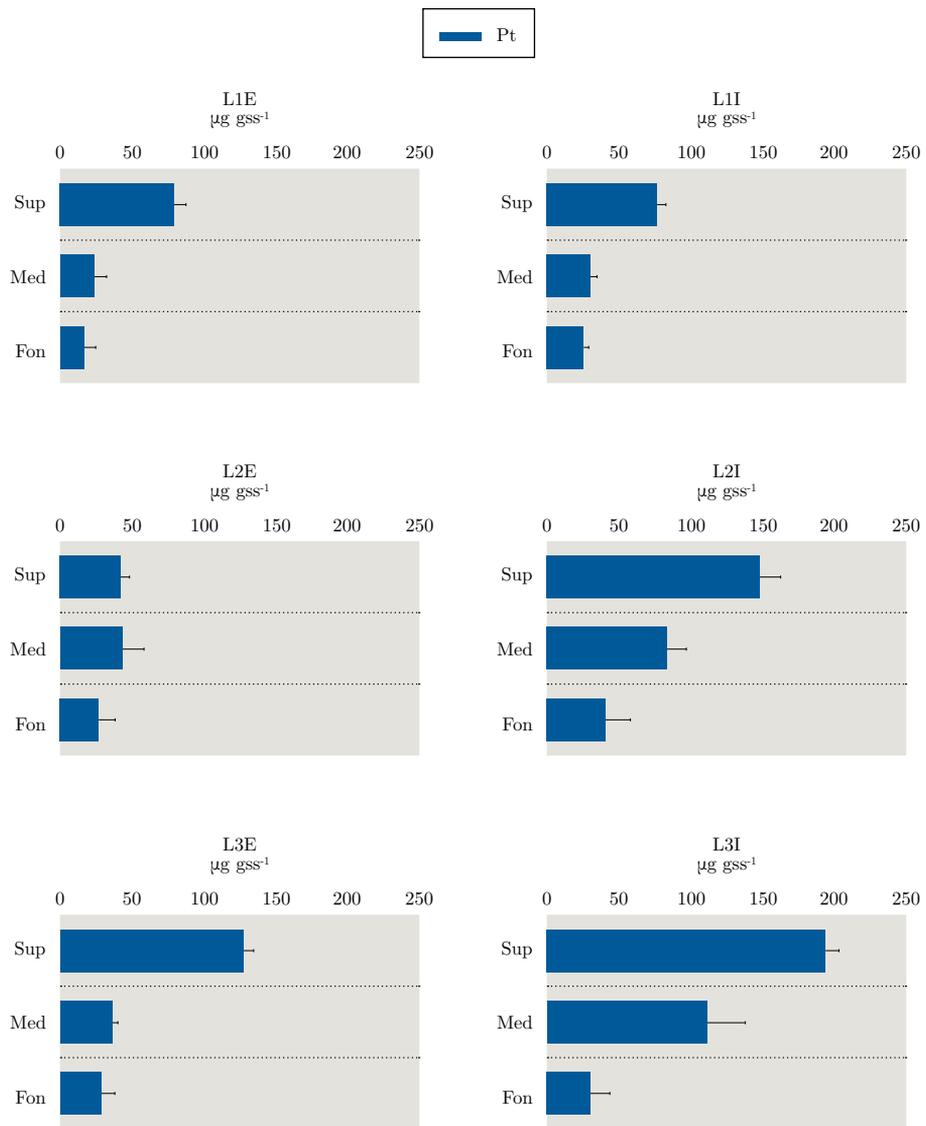


**Figura 2.** Porcentaje de materia orgánica en sedimento analizado por estratos (Sup=superficie, Med=medio y Fon=fondo) en cada estación (L=lengua) en sus dos puntos (E=externo e I=interno).



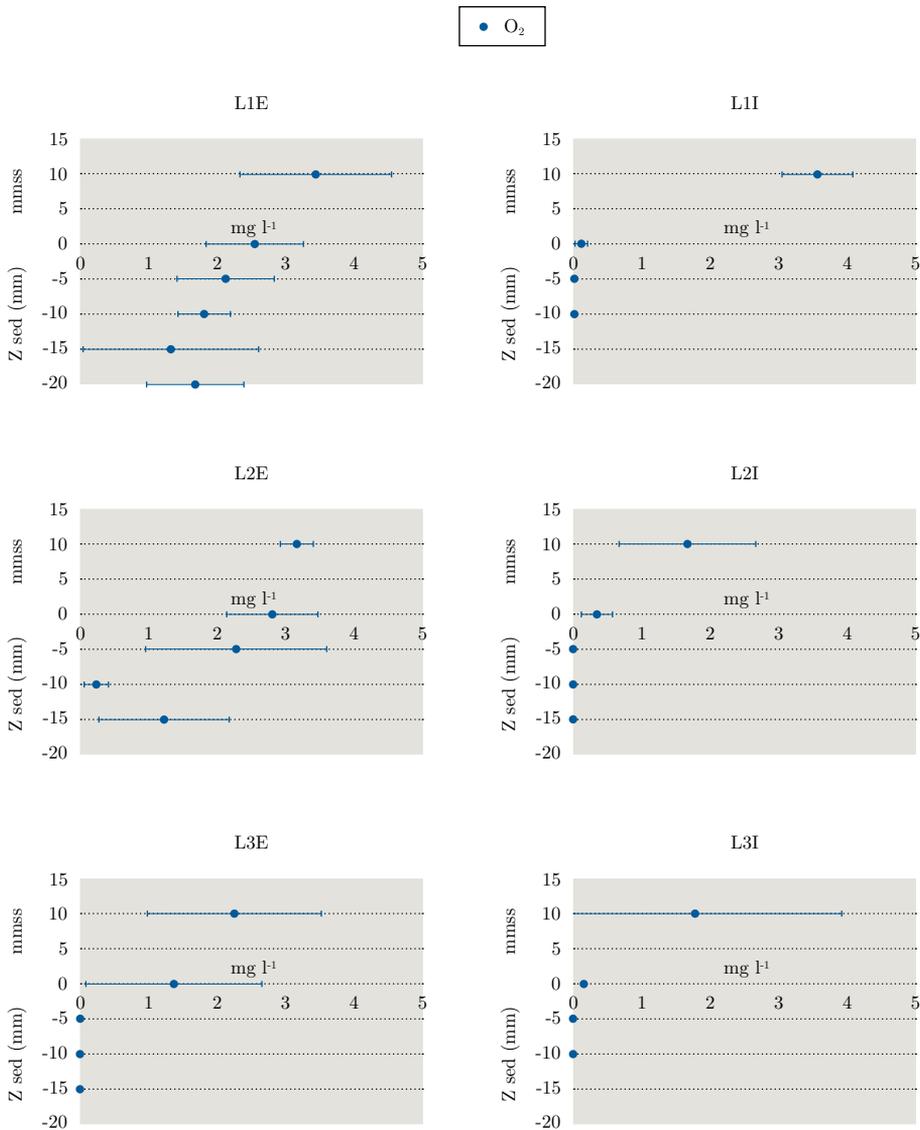
**Figura 3.** Concentración de clorofila-*a* (en azul) y feopigmentos (en verde) en sedimento analizada por estratos (Sup=superficie, Med=medio y Fon=fondo) con sus respectivos desvíos estándar en cada estación (L=lengua) en sus dos puntos (E=externo e I=interno).

El ANOVA para Pt mostró que L3I superficie fue mayor que el resto de las muestras. En medio L3I fue mayor a las demás muestras de este estrato. En el fondo los puntos internos presentaron mayores valores que los externos (Figura 4).



**Figura 4.** Concentración de Fósforo total (Pt) en sedimento ( $\mu\text{g gss}^{-1}$ ) analizada por estratos (Sup=superficie, Med=medio y Fon=fondo) con sus respectivos desvíos estándar en cada estación (L=lengua) en sus dos puntos (E=externo e I=interno).

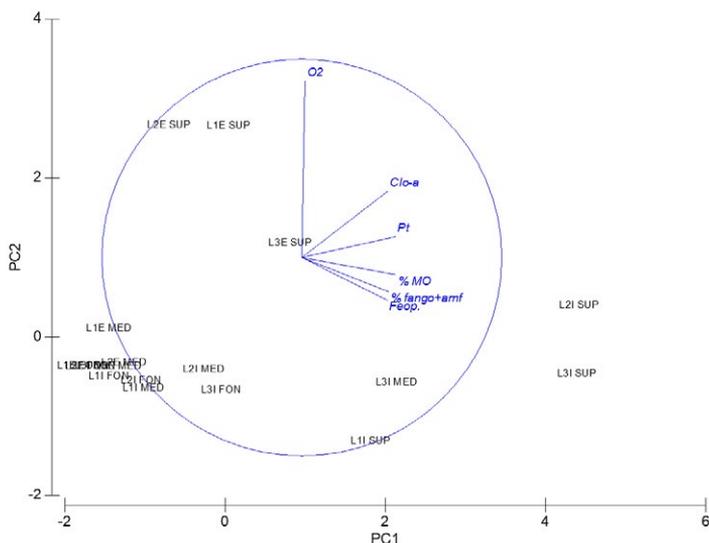
En relación al oxígeno disuelto en el interior de la columna de sedimento se observó que los puntos internos presentaron menores concentraciones que externos, que a su vez disminuyó más acusadamente cuanto mayor fue la profundidad en ambos puntos (Figura 5).



**Figura 5.** Concentración de oxígeno disuelto ( $O_2$ ) en sedimento. Se representa en el eje de ordenadas la altura del agua (por encima del cero, mmss) y la profundidad del sedimento (valores negativos, z sed (mm)); y en el eje de abscisas la concentración ( $mg\ l^{-1}$ ). Cada valor de  $O_2$  se observa con su desviación estándar.

El resultado del PCA con las variables ambientales (Figura 6) explicó un 85% de la varianza considerando los dos primeros ejes. El eje 1 se correlacionó positivamente con el porcentaje de MO, Pt, clorofila-*a*, feopigmentos y porcentaje de fango, explicando el 68% de la varianza, mientras que el eje 2 se correlacionó positivamente

con el O<sub>2</sub> en sedimento, explicando el 17% de la variación de los datos. Las muestras L2I superficial y L3I superficial se diferenciaron del resto por su mayor porcentaje de MO, Pt, clorofila-*a*, feopigmentos y porcentaje de fango. Las muestras de los estratos superficiales correspondientes a las estaciones L1E, L2E y L3E se diferenciaron del resto por sus altas concentraciones de O<sub>2</sub>. A su vez, se observa que las muestras de fondo fueron más similares entre sí desde el punto de vista ambiental, seguidas por las de medio y superficie.



**Figura 6.** Análisis en componentes principales de las variables ambientales para los estratos de cada punto de muestreo (%MO: porcentaje de materia orgánica, Pt: Fósforo total, Clo-*a*: Clorofila-*a*, Feop: Feopigmentos, O<sub>2</sub>: Oxígeno disuelto, % de fango+amf: porcentaje de fango más arena muy fina).

### Patrones macrofaunales

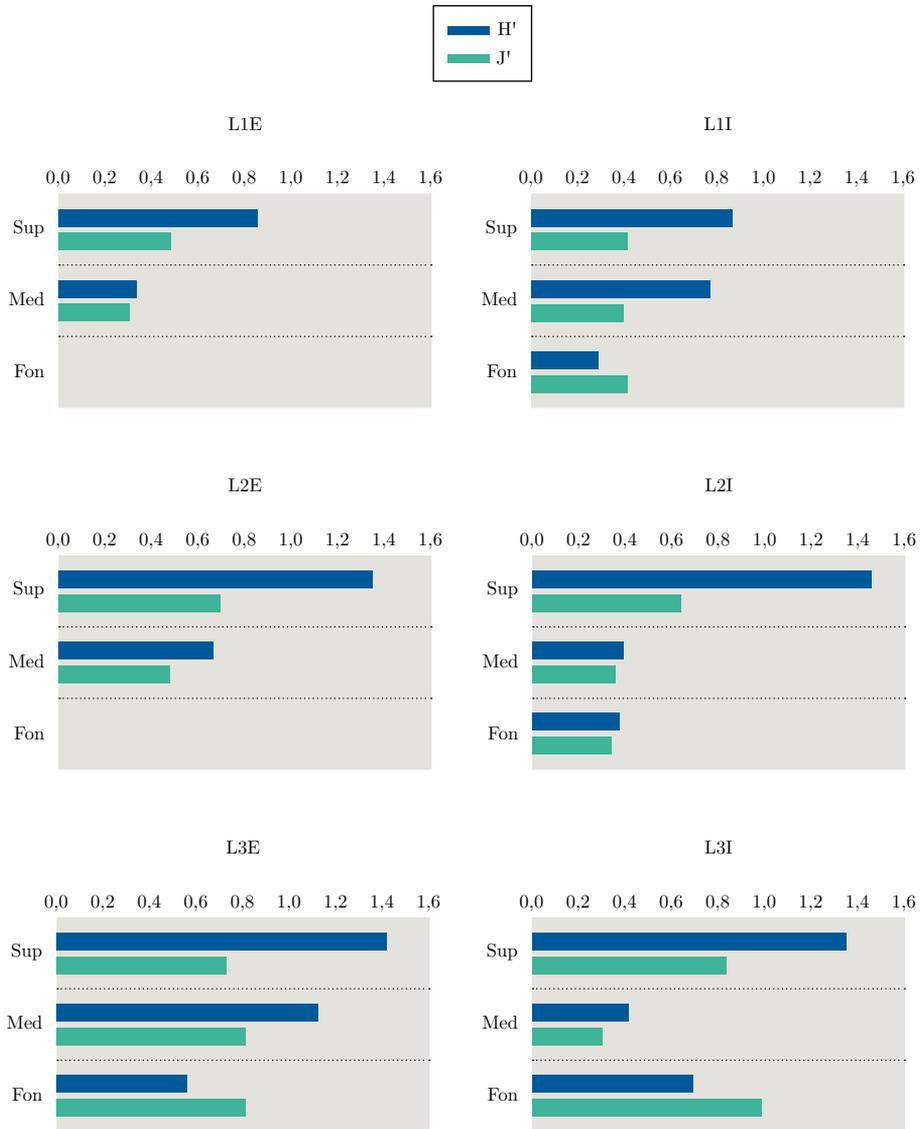
Las tres estaciones presentaron una composición taxonómica similar (Tabla 2), la cual estuvo representada por 13 taxa, típicamente estuarinas. El pequeño gasterópodo *Heleobia australis* dominó en los estratos superficiales de L1, mientras que en las superficies de L2 y L3 predominó el poliqueto *Nephtys fluviatilis*. El poliqueto *Heteromastus similis* presentó mayor abundancia en los puntos internos que en los externos, aumentando desde L1 a L3 y dominando en los estratos medios. Los estratos superficiales se destacaron por presentar las mayores abundancias en todas las estaciones.

Los resultados de los ANOVA evidenciaron que la abundancia (N) superficial fue mayor en L1 que en L3; en el medio los puntos internos presentaron mayor N que los externos y en L3I fue mayor al resto de las muestras. No se observaron diferencias entre las muestras de fondo (Tabla 3). En cuanto a la S y H', no hubo

diferencias en cada estrato analizado (Figura 7, Tabla 3). Los estratos superficiales de L2 y L3 presentaron alta J', mientras que los de L1 presentaron baja, debido principalmente a la dominancia de *H. australis* (Figura 7, Tabla 2).

**TABLA 2.** Abundancia (n. individuos/340 cm<sup>3</sup>) de macrofauna en sedimento analizada por estratos (S=superficie, M=medio y F=fondo) en cada estación (L=lengua) en sus dos puntos (E=externo, I=interno).

Taxa	L1						L2						L3							
	E			I			E			I			E			I				
	SUP	MED	FON	SUP	MED	FON	SUP	MED	FON	SUP	MED	FON	SUP	MED	FON	SUP	MED	FON		
Hirudinea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0		
Oligochaeta	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0		
Annelida Polychaeta	<i>Alitta succinea</i> (Leuckart, 1847)		0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	2	0	0	6	0	0		
	<i>Heteromastus similis</i> (Southern, 1921)		27	34	8	43	45	22	49	23	16	96	53	58	22	10	0	66	149	14
	<i>Laeonereis acuta</i> (Treadwell, 1923)		0	1	0	0	2	0	0	2	0	7	0	4	0	3	2	0	0	0
	<i>Nephtys fluviatilis</i> (Monro, 1937)		32	2	0	27	1	0	99	2	0	130	4	0	42	4	0	70	16	10
Amphipoda	0	0	0	0	0	0	8	0	0	5	0	0	2	0	0	0	0	0		
Crustacea Cirripedia	<i>Balanus</i> sp.		0	0	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Isopoda <i>Pseudosphaeroma</i> sp.		8	0	0	10	1	0	14	1	0	5	0	0	1	0	0	0	0	
	Tanaidacea		11	0	0	13	1	0	7	0	0	14	0	0	9	0	0	42	2	0
Mollusca Bivalvia	<i>Erodona mactroides</i> (Bosc, 1801)		3	0	0	1	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	<i>Tagelus plebeius</i> (Lightfoot, 1786)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	
	Gastropoda <i>Heleobia australis</i> (d'Orbigny, 1835)		270	0	0	349	4	2	10	0	0	28	2	0	7	0	0	24	1	0



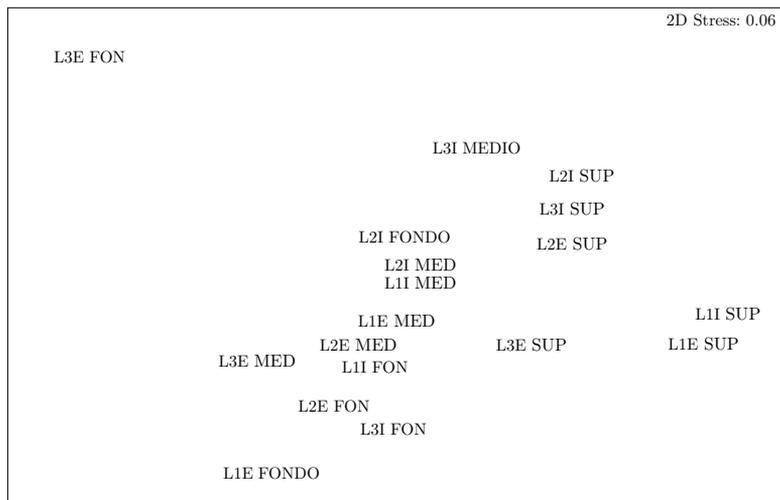
**Figura 7.** Índices de diversidad de Shannon ( $H'$ , en azul, bits/individuos) y equitatividad de Pielou (1966) ( $J'$ , en verde) analizados por estratos (Sup=superficie, Med=medio y Fon=fondo) en cada estación (L=lengua) en sus dos puntos (E=externo e I=interno).

**TABLA 3.** ANOVA de dos vías para evaluar las variaciones entre N, S y H' en cada estrato y resultados del test *pos hoc* de Tukey. Donde: CM = Cuadrados medios, Gl = Grados de libertad, N = Abundancia, S = Riqueza, H' = Diversidad de Shannon, Sup = superficie, Med = medio, Fon = fondo.

	Efecto	SS	GL	CM	F	P	Tukey	
							CM	GL
N Sup	L	22200,00	2	11100,00	6,769	<b>0,011*</b>	1638,40	12
	E O I	5724,00	1	5724,00	3,494	0,086	1638,40	12
	L*E O I	24,00	2	12,00	0,007	0,993	1638,40	12
N Med	L	1037,00	2	518,00	18,81	<b>0,000*</b>	27,56	12
	E O I	2200,00	1	2200,00	79,84	<b>0,000*</b>	27,56	12
	L*E O I	1764,00	2	882,00	32,01	<b>0,000*</b>	27,56	12
N log Fon	L	0,31	2	0,16	0,465	0,639	0,34	12
	E O I	0,27	1	0,27	0,806	0,387	0,34	12
	L*E O I	0,00	2	0,00	0,005	0,995	0,34	12
S Sup	L	17,33	2	8,67	3,467	0,065	2,50	12
	E O I	1,39	1	1,39	0,556	0,470	2,50	12
	L*E O I	1,78	2	0,89	0,356	0,708	2,50	12
S Med	L	0,44	2	0,22	0,138	0,873	1,61	12
	E O I	2,72	1	2,72	1,690	0,218	1,61	12
	L*E O I	1,78	2	0,89	0,552	0,590	1,61	12
S Fon	L	0,78	2	0,39	0,412	0,671	0,94	12
	E O I	0,50	1	0,50	0,529	0,481	0,94	12
	L*E O I	0,33	2	0,17	0,176	0,840	0,94	12
H' Sup	L	0,50	2	0,25	2,980	0,089	0,08	12
	E O I	0,02	1	0,02	0,257	0,621	0,08	12
	L*E O I	0,00	2	0,00	0,002	0,998	0,08	12
H' Med	L	0,03	2	0,02	0,100	0,906	0,16	12
	E O I	0,01	1	0,01	0,051	0,824	0,16	12
	L*E O I	0,32	2	0,16	1,002	0,396	0,16	12
H' Fon	L	0,06	2	0,03	0,554	0,589	0,05	12
	E O I	0,03	1	0,03	0,660	0,432	0,05	12
	L*E O I	0,07	2	0,04	0,731	0,501	0,05	12

Los resultados del análisis SIMPER (similaridad porcentual) mostraron una similaridad del 73% entre el ensamble del estrato de superficie, fundamentalmente debido a la influencia de los poliquetos *N. fluviatilis* y *H. similis*. En el estrato medio y de fondo también la similaridad (68% y 45%, respectivamente) ocurrió por el poliqueto depositívoro *H. similis*. A su vez, el porcentaje de disimilaridad entre los ensambles de superficie y medio fue de 54, donde *H. australis* y *N. fluviatilis* fueron las especies que más contribuyeron. La disimilaridad entre los ensambles de superficie y fondo fue del 73%, con una contribución por igual de *N. fluviatilis* y *H. australis*. Los ensambles de fondo y medio presentaron un 49% de disimilaridad, influenciada por *H. similis* y *N. fluviatilis*. Por lo tanto, las muestras de superficie son las más parecidas biológicamente, seguidas por las de medio y luego las de fondo.

El análisis nMDS mostró que la macrofauna de las 18 muestras presentó bajo nivel de similitud, lo cual se debió, principalmente, a que L3E fondo presentó atributos biológicos muy distintos al resto de las muestras (Figura 8). Esto se debió en particular a la ausencia de *H. similis* en el estrato de fondo de L3E. A pesar de ello, se observaron claramente agrupadas entre sí las muestras de superficie, medio y fondo, a excepción de L3E fondo y L2I fondo. A su vez, las muestras de fondo se encontraron más cercanas a las de medio que a las de superficie, al igual que en el análisis SIMPER.



**Figura 8.** Escalamiento multidimensional no métrico nMDS. Abreviaturas: L1, L2, L3=estaciones (lenguas); E, I=externo e interno respectivamente; SUP=Superficie, MED=Medio, FON=Fondo.

## Discusión

En este trabajo se demostró que existe una variación en la distribución vertical y horizontal de pequeña y microescala en la estructura de las comunidades macrobentónicas en la laguna de Rocha. Las diferencias ambientales observadas entre las estaciones fueron determinantes en la explicación de los patrones de composición y abundancia

del macrobentos. Sin embargo, no se encontraron diferencias en la estructura de los ensamblajes macrobentónicos a un lado y al otro de las distintas estaciones (LE x LI). Se observaron patrones de distribución del macrobentos atendiendo a un gradiente entre las estaciones y de profundidad dentro del sedimento, que se relaciona con los parámetros ambientales obtenidos. Estudios previos mostraron este comportamiento y destacaron la importancia del estrato superficial en cuanto a la abundancia macrobentónica debido a su rol fundamental en la transferencia energética entre el sedimento y la columna de agua (Venturini, et al., 2011; Touhami, et al., 2018).

Los puntos internos y más alejados de la intrusión marina presentaron una hidrodinámica baja que favorece la deposición de sedimentos finos y facilita la acumulación de materia orgánica (Venturini, et al., 2004). Esta materia orgánica acumulada es degradada por parte de bacterias que consumen oxígeno (Muniz, et al., 2013). El porcentaje medio de MO (valores <6%) coincidió con lo obtenido en trabajos previos (Sommaruga y Conde, 1990; Rodríguez-Gallego, 2010; Meerhoff, et al., 2013). Los mayores porcentajes de MO en las estaciones (lenguas) más cercanas a la parte continental posiblemente se relacionan al aporte de desechos urbanos filtrados y conducidos hacia la laguna por las aguas que allí confluyen (Rodríguez-Gallego, 2010).

La clorofila-*a* es un indicador indirecto de la productividad primaria del ambiente y es utilizada como una adecuada partícula traza debido a que indica la rápida reacción de la macrofauna a los cambios en las condiciones ambientales. La abundancia de organismos y la concentración de clorofila-*a* presentaron una alta correlación, esto puede deberse al rol de los organismos como generadores de patrones de bioturbación (Morys, et al., 2017). Las concentraciones de clorofila-*a* fueron, en promedio, menores a las analizadas por Rodríguez-Gallego (2010) para el conjunto de lagunas costeras. La mayor concentración de feopigmentos registrada en los puntos internos indicó el dominio de detritos orgánicos con algún grado de degradación (Fabiano y Danovaro, 1994). A su vez, los valores de fósforo se encontraron dentro del rango de valores observados en el trabajo de Rodríguez-Gallego (2010).

La distribución vertical del macrobentos en los sedimentos marinos puede cambiar a medida que la comunidad responde a la disponibilidad de oxígeno disuelto (Pearson y Rosenberg, 1978). Cuanto mayor fue la abundancia de organismos, mayores fueron las concentraciones de O<sub>2</sub> observadas. La primera respuesta del macrobentos relacionada con el ecosistema a la disminución de las concentraciones de oxígeno implica una disminución de la bioturbación debido al cese de la alimentación y la excavación (Shivarudrappa, et al., 2019).

En cuanto a la comunidad de macroinvertebrados bentónicos presente, los resultados fueron acordes a los patrones generales encontrados en la laguna en estudios previos (Giménez, et al., 2006; Meerhoff, et al., 2013), donde la diversidad no fue alta y se observó la presencia de especies dominantes, como el gasterópodo *Heleobia australis* y los poliquetos *Nephtys fluviatilis* y *Heteromastus similis*.

Se observó una variación horizontal en la estructura de la comunidad entre las distintas estaciones (lenguas). En la lengua más cercana a la intrusión de agua marina la dominancia del gasterópodo epibentónico *H. australis*, especie oportunista de segundo orden (Muniz, et al., 2005), podría deberse a los disturbios

provocados por la apertura de la barra que permite la dominancia de esta especie por recolonización rápida. Este proceso fue observado por Branco et al. (2007) en la laguna Imboassica en Brasil y por Rodríguez-Gallego (2010) en la Laguna de Rocha. Estudios previos, desarrollados en toda el área de la laguna, indican que organismos suspensívoros como *Erodona mactroides* y el depositívoro de superficie *H. australis* tienen densidades máximas limitadas a sedimentos con bajo contenido de fango y materia orgánica (Giménez, et al., 2006).

*H. similis* es un depositívoro subsuperficial (<15 cm) que se alimenta de materia orgánica (Bemvenuti, 1988), y junto con otro depositívoro infaunal, *Laeonereis acuta* (baja abundancia en este estudio), se destacó en estudios previos, en sedimentos con bajo o moderado contenido de fango y niveles intermedios de arena fina y media (Giménez, et al., 2014), lo cual se correlacionó con el patrón encontrado en los estratos de medio y fondo. Este patrón no fue observado en superficie debido a la presencia de *N. fluviatilis*, que podría predear sobre *H. similis* (Bemvenuti, 1994). La mayor presencia de *H. similis* en los puntos internos pudo deberse al mayor contenido orgánico en estos, ya que es una especie indicadora de enriquecimiento orgánico (Raz-Guzmán, 2000). Por otro lado, *N. fluviatilis* muestra un patrón mixto, y se destaca en sitios con bajo contenido de fango pero es común también en sitios fangosos (Giménez, et al., 2006). A su vez, al ser una especie detritívora, de amplia distribución gracias a sus larvas planctónicas, se la encontró asociada a mayores concentraciones de materia orgánica tanto en este trabajo como en anteriores (Arocena y Prat, 2006).

La distribución vertical de la comunidad macrobentónica responde tanto a las condiciones bióticas como a las ambientales. Como estrategia para particionar recursos (e.g. espacio) a microescala y para evitar la depredación, el estrés físico y/o interacciones competitivas por espacio o alimento, la macrofauna utilizaría el enterramiento diferencial (Rodríguez, 2016; Poznańska-Kakareko, et al., 2017). La característica de los organismos de homogeneizar el ambiente (Flach y Heip, 1996; Morys, et al., 2017), así como la competencia entre estos y la mayor compactación del sedimento a medida que aumenta la profundidad, podría explicar que las diferencias ambientales entre los estratos de medio y fondo fueran menores que las biológicas.

Este estudio aportó un abordaje a microescala espacial, que analizó y cuantificó la variación en profundidad de descriptores físicos y comunitarios a lo largo del eje transversal de la Barra Vieja, microambiente particular en el sistema lagunar estudiado. En esta oportunidad la comunidad bentónica se distribuyó verticalmente de acuerdo a las condiciones ambientales reinantes, que condicionan la presencia de las especies presentes.

## RECONOCIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias y al curso de Oceanografía Biológica II por haber brindado la oportunidad de realizar la investigación. También agradecer a los revisores y a la editora por las correcciones y sugerencias realizadas que contribuyeron a enriquecer este trabajo. NV y PM agradecen a SNI-ANII.

## REFERENCIAS

- Arocena, R. y Prat, N., 2006. Efectos de la fertilización en el zoobentos de una laguna costera: experimentos con mesocosmos. En: Tundisi, J.G., Tundisi, T.M. y Galli, C.S., eds. *Eutrofização na América do Sul: causas, consequências e tecnologias para gerenciamento e control*. São Carlos: IIE. pp.387-412.
- Attrill, M., 2002. A testable linear model for diversity trends in estuarios. En: *Journal of Animal Ecology*, 71, pp.262-269.
- Bemvenuti, C.E., 1988. Impacto da predacao sobre *Heteromastus similis* Southern 1921 e *Nephtys fluviatilis* Monro 1937 (Annelida: Polychaeta) em fundos moles estuarinos. En: *Atlántica, Rio Grande*, 10(1), pp.85-102.
- Bemvenuti, C.E., 1994. O Poliqueta *Nephtys fluviatilis* Monro, 1937, como predador da infauna na comunidade de fundos moles. En: *Atlántica*, 16, pp.87-98.
- Blott, S.J. y Pye, K., 2001. Gradistat: a grain size distribution and statistics package for the analysis of unconsolidated sediments. En: *Earth Surface Processes and Landforms*, 26, pp.1237-1248.
- Byers, S.C., Mills, E.L. y Stewart, P.L., 1978. A comparison of methods to determining organic carbon in marine sediments, with suggestion for a standard method. En: *Hydrobiology*, 58, pp.37-43.
- Branco, C.W.C., Kozłowsky-Suzuki, B. y Esteves, F.A., 2007. Environmental changes and zooplankton temporal and spatial variation in a disturbed brazilian coastal lagoon. En: *Brazilian Journal of Biology*, 67(2), pp.251-262.
- Bray, J.R. y Curtis, J.T., 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. En: *Ecological Monographs*, 27, pp.325-349.
- Cardezo, M.J., 1989. *Caracterización de la fauna macrobentónica de la Laguna de Rocha (Uruguay)*. Montevideo: Facultad de Humanidades y Ciencias – UdelaR. (Tesis de grado).
- Clara, M., Faggetti, C., Muzio, J., Picasso, G., Rudolf, J.C. y Vitancurt, J., 1994. *Parque nacional Lacustre Laguna de Rocha. Una zona a proteger*. Rocha: PROBIDES.
- Clarke, K.R. y Gorley, R.N., 2006. *PRIMER v6 user manual/tutorial*. Plymouth: PRIMER-E.
- Conde, D., Bonilla, S., Aubriot, L., de León, R. y Pintos, W., 1999. Comparison of the areal amount of chlorophyll *a* of planktonic and attached microalgae in a shallow coastal lagoon. En: *Hydrobiologia*, 408/409, pp.285-291.
- Conde, D. y Rodríguez-Gallego, L., 2002. Problemática ambiental y gestión de las lagunas costeras atlánticas de Uruguay. En: Domínguez, A., Prieto, R. y Achkar, M., eds. *Perfil ambiental del Uruguay*. Montevideo: Nordan-Comunidad. pp.149-166.
- Conde, D., Rodríguez-Gallego, L. y Rodríguez-Graña, L., 2003. *Análisis conceptual de las interacciones abióticas y biológicas entre el océano y las lagunas de la costa atlántica de Uruguay. Informe final PNUD/GEF/RLA/99/G31*. Montevideo: Facultad de Ciencias, Sección Limnología. (FREPLATA-Ciencias, 8).
- Conde, D., Vitancurt, J., Rodríguez-Gallego, L., de Álava, D., Verrastro, N., Chreties, C., Solari, S., Teixeira, L., Lagos, X., Piñeiro, G., Seijo, L., Caymaris, H. y Panario D., 2015. Solutions for sustainable coastal lagoon management: from conflict to

- the implementation of a consensual decision tree for artificial opening. En: Baztan, Juan, Chouinard, Omer, Jorgensen, Bethany, Tett, Paul, Vanderlinden, Jean-Paul y Vasseur, Liette, eds. *Coastal zones: solutions for the 21st Century*. pp.217-250.
- Conde, D., Solari, S., de Álava, D., Rodríguez-Gallego, L., Verrastro, N., Chreties, C., Lagos, X., Piñeiro, G., Teixeira, L., Seijo, L., Vitancurt, J., Caymaris, H. y Panario, D., 2019. Ecological and social basis for the development of a sand barrier breaching model in Laguna de Rocha, Uruguay. En: *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 219, pp.300-316.
- Day, J.W., Crump, B.C., Kemp, W.M. y Yáñez-Arancibia, A., 2012. *Estuarine ecology*. 2a ed. Hoboken: John Wiley & Sons.
- Fabiano, M. y Danovaro, R., 1994. Composition of organic matter in sediments facing a river estuary (Tyrrhenian Sea): relationships with bacteria and microphytobenthic biomass. En: *Hydrobiologia*, 277, pp.71-84.
- Flach, E. y Heip, C., 1996. Vertical distribution of macrozoobenthos within the sediment of the continental slope of the Goban Spur area (NE Atlantic). En: *Marine Ecology Progress Series*, 141, pp.55-66.
- Folk, R., 1980. *Petrology of sedimentary rocks*. Texas: Hemphil Publishing Company.
- Giménez, L., Dimitriadis, C., Carranza, A., Borthagaray, A. y Rodríguez, M., 2006. Unravelling the complex structure of a benthic community: a multiscale-multianalytical approach to an estuarine sandflat. En: *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 68, pp.462-472.
- Giménez, L., Venturini, N., KandrataVICIUS, N., Huttonb, M., Lanfranconi, A., Rodríguez, M., Brugnoli, E. y Muniz, P., 2014. Macrofaunal patterns and animal-sediment relationships in Uruguayan estuaries and coastal lagoons (Atlantic coast of South America). En: *Journal of Sea Research*, 87, pp.46-55.
- Hammer, O., Harper, D.A.T. y Ryan, P.D., 2001. PAST: Paleontological Statistic software package for education and data analysis. *Paleontologia electrónica*, 4(1), pp.9.
- Kjerfve, B., 1994. Coastal lagoon. En: Kjerfve, B., ed. *Coastal lagoon processes*. Amsterdam: Elsevier. (Oceanography Series, 60), pp.1-8.
- Knoppers, B., 1994. Aquatic primary production in coastal lagoons. En: Kjerfve, B., ed. *Coastal lagoon processes*. Amsterdam: Elsevier. (Oceanography Series, 60), pp.243-285.
- Meerhoff, E., Rodríguez-Gallego, L., Giménez, L., Muniz, P. y Conde, D., 2013. Spatial patterns of macrofaunal community structure in coastal lagoons of Uruguay. En: *Marine Ecology Progress Series*, 492, pp.97-110.
- Morys, C., Powilleit, M. y Forster, S., 2017. Bioturbation in relation to the depth distribution of macrozoobenthos in the southwestern Baltic Sea. En: *Marine Ecology Progress Series*, 579, pp.19-36.
- Muniz, P., Venturini, N., Pires-Vanin, A., Tommasi, L.R. y Borga, A., 2005. Testing the applicability of a Marine Biotic Index (AMBI) to assessing the ecological quality of soft-bottom benthic communities, in the South America Atlantic region. En: *Marine Pollution Bulletin*, 50, pp.624-637.
- Muniz, P., Pires-Vanin, A. y Venturini, N., 2013. Vertical distribution patterns of macrofauna in a subtropical near-shore coastal area affected by urban sewage. En: *Marine Ecology*, 34, pp.233-250.

- Murphy, J. y Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. En: *Analytica Chimica Acta*, 27, pp.31-36.
- Panario, D. y Gutiérrez, O., 2011. Introducción a la geomorfología de lagunas costeras, lagos someros y charcas de Uruguay. En: García Rodríguez, F., ed. *El holoceno en la zona costera de Uruguay*. Montevideo: Universidad de la República, pp.49-64.
- Pearson, T.N. y Rosenberg, R., 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. En: *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, 16, pp.229–311.
- Perillo G. M., 1995. Definitions and geomorphologic classifications of estuaries. En: *Developments in Sedimentology*, 53, pp.17-47.
- Pielou, E.C., 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. En: *Journal of Theoretical Biology*, 13, pp.131-144.
- Poznańska-Kakareko, M., Budka, M., Żbikowski, J., Czarnecka, M., Kakareko, T., Jermacz, L. y Kobak, J., 2017. Survival and vertical distribution of macroinvertebrates during emersion of sandy substratum in outdoor mesocosmes. En: *Fundamental and Applied Limnology*, 190(1), pp.29–47
- Raz-Guzmán, A., 2000. Crustáceos y poliuetos. En: de la Lanza-Espino, G., Pulido, S. H. y Pérez, J.L.C. *Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación (bioindicadores)*. México: Plaza y Valdés. México. pp.265-308.
- Rodríguez-Gallego, L., 2010. *Eutrofización de las lagunas costeras de Uruguay: impacto y optimización de los usos del suelo*. Montevideo: Facultad de Ciencias – UdelaR. (Tesis de Doctorado).
- Rodríguez, P., 2016. *La tercera dimensión en ecología de playas arenosas: distribución vertical de macrofauna y factores abióticos en una playa oceánica de Uruguay*. Montevideo: Facultad de Ciencias – UdelaR. (Tesis de grado).
- Sconfietti, R., Marchini, A., Ambrogi, A.O. y Sacchi, C.F., 2003. The sessile benthic community patterns on hard bottoms in response to continental vs. marine influence in northern Adriatic lagoons. En: *Oceanologica Acta*, 26, pp.47–56.
- Shivarudrappa, S., Rakocinski, C. y Briggs, K., 2019. Vertical distribution of macrobenthos in hypoxia-affected sediments of the northern Gulf of Mexico: applying functional metrics. En: *Estuaries and Coasts*, 42(9), pp.250-263. <https://doi.org/10.1007/s12237-018-0446-z>
- Sommaruga, R. y Conde, D., 1990. Distribución de materia orgánica en los sedimentos recientes de la laguna de Rocha (Rocha, Uruguay). En: *Atlântica*, 12(1), pp.35-44.
- Suguio, K., 1973. *Introdução a sedimentologia*. São Paulo: Edgard Blucher.
- Sundbäck, K., 1983. *Microphytobenthos on sand in shallow brackish water, Öresund Sweden. Primary production, chlorophyll a content and species composition (Diatoms) in relation to some ecological factors*. Lund: University of Lund (Tesis de PhD).
- Touhami, F., Bazairi, H., Badaoui, B. y Benhoussa, A., 2018. Vertical distribution of benthic macrofauna in intertidal habitats frequented by shorebirds at Merja Zerga lagoon. En: *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 34(2), pp.255-265.

- Uruguay. Decreto 260/977, de 11 de mayo de 1977. *Diario Oficial*, 26 de mayo de 1977, p.911.
- Valderrama, J.C., 1981. The simultaneous analysis of total N and total P in natural waters. En: *Marine Chemistry*, 10, pp.109-122.
- Venturini, N., Tommasi, L.R., Bicego, M.C. y Martins, C.C., 2004. Characterisation of the benthic environment of a coastal area adjacent to an oil refinery, Todos os Santos bay (NE-Brazil). En: *Brazilian Journal of Oceanography*, 52, pp.123-134.
- Venturini, N., Pires-Vanin, A.M.S., Salhi, M., Bessonart, M. y Muniz, P. 2011. Polychaete response to fresh food supply at organically enriched coastal sites: Repercussion on bio turbation potential and trophic structure. En: *Journal of Marine Systems*, 88, pp.526-541.
- Vitancurt, J. y Faggetti, C., 1995. *Comunidades de pescadores del departamento de Rocha. Informe diagnóstico, recomendaciones y avances para un proyecto de desarrollo*. Rocha: PROBIDES. (Documentos de Trabajo, 1).
- Wells, P.G. y Daborn, G.R., 1998. *El Río de la Plata. Una revisión ambiental. Un informe de antecedentes del proyecto EcoPlata*. Halifax: Dalhousie University.
- Zar, J.H., 1999. *Biostatistical analysis*. New Jersey: Prentice Hall.

# Evaluación del impacto de nuevas perforaciones en el Sistema Acuífero Guaraní sobre el conjunto de pozos operando en las ciudades de Concordia y Salto

Impact evaluation of new drillings in the Guaraní Aquifer System on the set of operating wells in the cities of Concordia and Salto

RECIBIDO: 4/4/2019 → APROBADO: 27/5/2019 ✉ rbanega@unorte.edu.uy

✎ BANEGA, PABLO RAFAEL (1); GAMAZO, PABLO (1); RAMOS, JULIÁN ANDRÉS (1); ERASUN, VANESSA (1); SAPRIZA, GONZALO (1); BESSONE, LUCAS (1).

(1) DEPARTAMENTO DEL AGUA, CENTRO UNIVERSITARIO REGIONAL LITORAL NORTE SEDE SALTO, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, SALTO, URUGUAY.

## RESUMEN

El Sistema Acuífero Guaraní (SAG), cuya extensión comprende parte de Brasil, Argentina, Paraguay y Uruguay, es uno de los reservorios de agua dulce más grandes del mundo. En las inmediaciones de las ciudades de Concordia y Salto el acuífero se encuentra confinado por aproximadamente un kilómetro de basaltos y es explotado para uso recreacional. En este contexto se generó un modelo de agua subterránea para esa zona, que comprende una totalidad de 15 perforaciones, con base en estudios regionales y locales previamente realizados. Asimismo, se mejoró el modelo geológico del área de estudio mediante la incorporación de información procedente de nuevas perforaciones y estudios geofísicos.

Durante el proceso de calibración se estimaron valores de nivel fijo de contorno compatibles con la piezometría regional y valores de conductividad y de coeficiente de almacenamiento específico que permitieron reproducir la historia de la variación de piezometría. Como resultado, se generó un modelo matemático capaz de reproducir el comportamiento del SAG en el área de estudio. Mediante el modelo se creó un mapa del impacto de nuevas perforaciones que podría ser utilizado por los entes reguladores de permisos de pozos de Argentina y Uruguay para evaluar el impacto de futuras explotaciones.

**PALABRAS CLAVE:** Modelo matemático de agua subterránea, gestión de pozos, ModelMuse, mapa de impacto.

## ABSTRACT

The Guaraní Aquifer System (SAG), which includes parts of Brazil, Argentina, Paraguay, and Uruguay, is one of the largest reservoirs of fresh water in the world. Near the city of Concordia and Salto, the aquifer is confined by proximally a kilometer of basalts and is exploited for recreational use. In this context, a groundwater water model was created for this area, which comprises 15 wells, based on previous regional and local studies. Also, the geological model was updated by considering new drilling information and geophysical studies.

During the calibration process, fixed contour levels, compatible with regional piezometry, conductivity and specific storage values were estimated, in a way that the history of the piezometry variation was recreated. As a result, a mathematical model capable of reproducing the SAG behavior in the study area was generated. Through the model, an impact map for new wells drilling was created which can be used by the regulatory bodies for well permits in Argentina and Uruguay to evaluate the impact of new drillings.

**KEYWORDS:** Groundwater mathematical model, well management, ModelMuse, impact map.

## INTRODUCCIÓN

El Sistema Acuífero Guaraní (SAG), cuya extensión comprende parte de Brasil, Argentina, Paraguay y Uruguay, es uno de los reservorios de agua dulce más grandes del mundo (Figura 1). En el marco del proyecto «Protección Ambiental y Desarrollo Sostenible del Sistema Acuífero Guaraní» (PSAG), desarrollado por los países abarcados por el reservorio, se generaron modelos numéricos de flujo de agua subterránea para áreas definidas como piloto, entre las cuales se encuentra la zona de Concordia (Argentina) y Salto (Uruguay) (Proyecto SAG, 2008a). Desde el año 2015 a la fecha, el Departamento del Agua del Centro Universitario Regional del Noroeste de la Universidad de la República (UdelaR) ha llevado adelante diferentes estudios que mejoran la descripción SAG en el noreste del territorio uruguayo (Ramos, et al., 2015a; Ramos, et al., 2015b; Ramos, et al., 2015c; Ramos et al., 2018). En ese mismo año, la Dirección Nacional de Aguas (DINAGUA) del Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente de Uruguay resolvió desarrollar un nuevo modelo, con apoyo del Departamento del Agua de la UdelaR, en el que se amplió considerablemente su dominio y se incorporó nueva información (Gamazo, et al., 2016).



**Figura 1.** Límites del Sistema Acuífero Guaraní.

En este trabajo se presenta una actualización del modelo incorporando esta nueva información y cambiando el pre y posprocesado del modelo a ModelMuse 3.9 desarrollado por la *United States Geological Survey* (USGS por sus siglas en inglés, 2017). Dicha interface, mucho más moderna que la anterior, ofrece más facilidades para el remallado en particular y para la evaluación de diferentes escenarios de explotación. Mediante la nueva interface se realizó un estudio en el que se desarrolló un mapa de impacto para nuevas perforaciones en el Sistema Acuífero Guaraní sobre el conjunto de pozos en operación, en las ciudades de Concordia y Salto. El mapa permitirá a los entes administradores de permisos de ambos países, la DINAGUA, de Uruguay, y el Ente Regulador de los Recursos Termales de la Provincia de Entre Ríos (ERRTER), de Argentina, identificar las zonas donde la realización de nuevas perforaciones afectaría el funcionamiento de las explotaciones actuales y estimar el impacto sobre ellas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

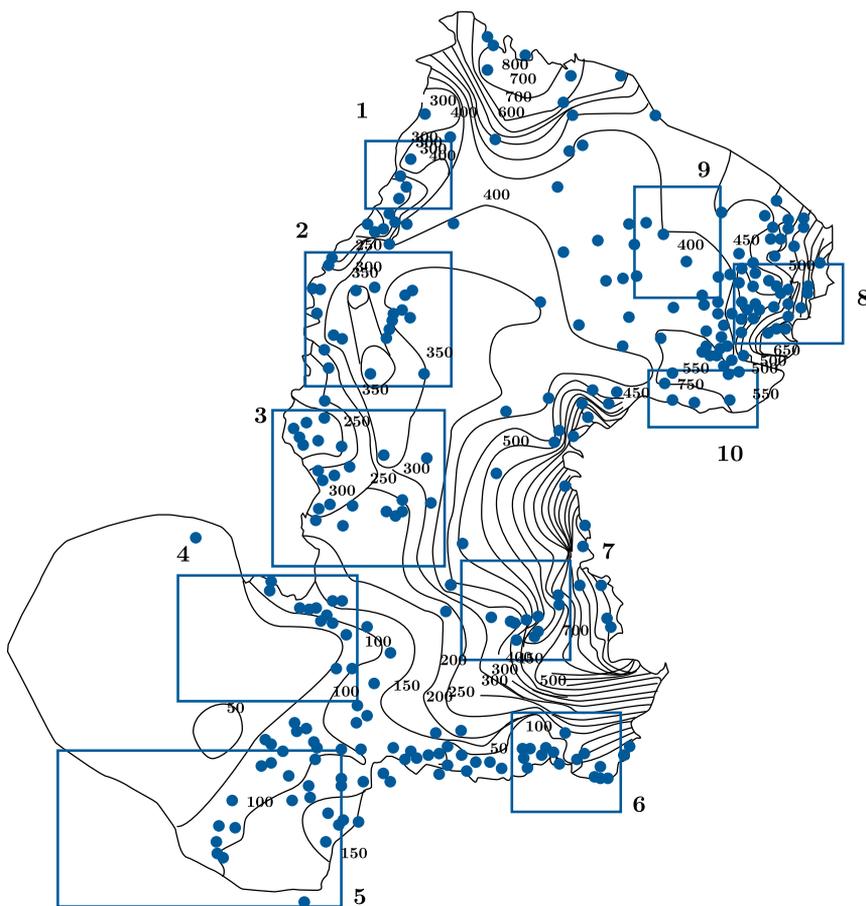
El modelo se desarrolló mediante el software MODFLOW-2005 y la interfaz gráfica ModelMuse versión 3.9, desarrollado por el Servicio Geológico de los Estados Unidos (USGS, 2017).

## Área de estudio

Al igual que en los anteriores modelos del SAG desarrollados para el área estudiada (Proyecto SAG, 2008a; Gamazo, et al, 2016), las formaciones elegidas para modelar fueron únicamente Rivera y Tacuarembó (Jurásico) y Buena Vista (Triásico), debido a que la gran mayoría de los pozos extraen agua únicamente de las mismas.

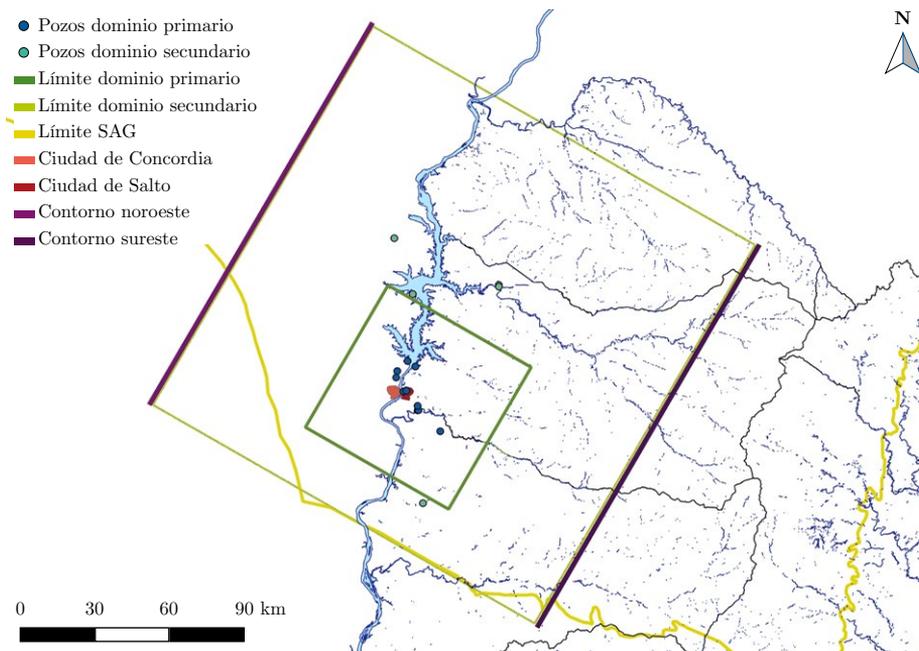
Dentro del PSAG se desarrolló un modelo regional que tomó como base la piezometría del modelo conceptual de LEBAC-UNESP (Proyecto SAG, 2008b). Esta piezometría fue construida mayormente con datos de niveles medidos en el momento de la construcción de los pozos, en consecuencia, abarcan una ventana temporal de 20-30 años a partir del año 1970. Por lo tanto, en los informes del LEBAC-UNESP los técnicos aclaran que la superficie piezométrica resultante no sería representativa de niveles actuales, en particular en zonas de explotaciones significativas.

Cabe mencionar que, para el área piloto Concordia-Salto y sobre un área importante del noreste de Entre Ríos y sureste de Corrientes, la piezometría propuesta por LEBAC tiene un componente principal Este-Oeste en la dirección de flujo resultante y uno menor en dirección Sur-Norte (Figura 2, zona 5).



**Figura 2.** Ubicación de pozos de observación de niveles piezométricos y curvas piezométricas. Fuente: Proyecto SAG (2008a).

Como punto de partida para el desarrollo del modelo se distingue para el área de influencia una dirección de flujo en dirección Este-Oeste con una desviación de la dirección respecto de la horizontal  $30^{\circ}$  hacia el norte. Con base en lo anterior, se definió un dominio cuadrado de 70 km de lado con los contornos suroeste y noreste paralelos a la dirección de flujo predominante y los contornos sureste y noroeste perpendiculares a la misma dirección (Figura 3).



**Figura 3.** Dominios y perforaciones consideradas para el modelo.

Este dominio es el de mayor interés para la gestión, ya que en él se concentran 10 perforaciones infrabasálticas que extraen un caudal total de  $18.912 \text{ m}^3/\text{día}$ . Se le denominó dominio primario, y a los efectos de contextualizarlo en el marco de flujo regional, se extendió el dominio del modelo a un dominio secundario de  $195 \text{ km}^2$ , donde existen otras cinco perforaciones. De esta forma, el límite suroeste del dominio coincide en gran parte con los límites del acuífero donde se considera flujo nulo. El contorno noreste, al estar alineado con la dirección de flujo regional, se consideró de flujo nulo. Los contornos sureste y noroeste se consideraron de nivel fijo. En el límite suroeste del dominio, y en menor medida en el sureste, se definieron celdas como inactivas por estar fuera del dominio del acuífero.

Tanto el valor de los niveles de contorno del modelo, como los valores de conductividad y almacenamiento específico del acuífero, se ajustaron para reproducir la variación histórica de la piezometría en el dominio primario. Para ello se consideraron los niveles estáticos reportados en el momento de la construcción de nuevas perforaciones (estos valores no han sido tomados en todos los pozos). En la Tabla 1 figuran los datos utilizados: fecha de perforación, nivel estático en ese momento y caudal de explotación. Dichos valores fueron facilitados por la DINAGUA y el

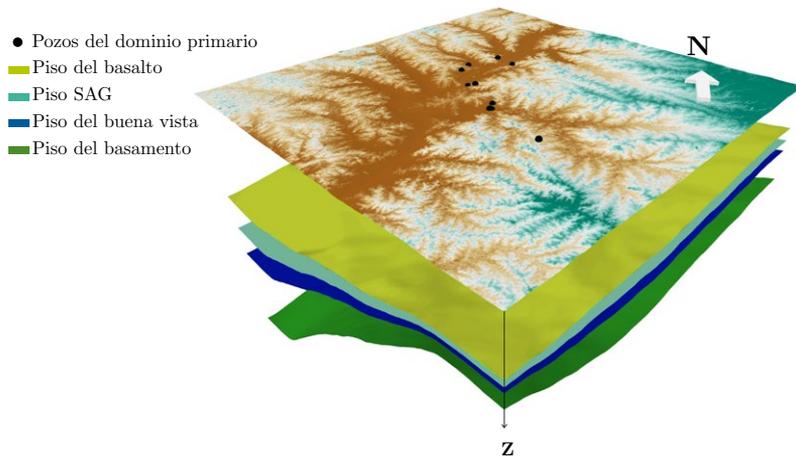
ERRTER. Los valores de cota del terreno fueron obtenidos del modelo digital del terreno ASTER V2 (fasterweb.jpl.nasa.gov).

**TABLA 1.** Información de los pozos utilizada. Los pozos del dominio primario se encuentran en negrita.

Perforación	Nivel de terreno [m]	Nivel estático a boca de pozo [m]	Nivel estático absoluto [m]	Fecha de puesta en marcha y medida del Ne [m]		Caudal [m <sup>3</sup> /d]
<b>Daymán</b>						2080
Arapey						4320
<b>OSE</b>	38	54	92	1992	mayo	0
<b>San Nicanor</b>	69	36,5	105,5	1992	julio	1280
Guaviyú				1992		1920
Federación				1994		6160
<b>Quiroga</b>	34	58	92	1995	marzo	2400
<b>Vertiente</b>	24	66,11	90,11	1996		4352
Chajarí				2000		4800
<b>Remeros</b>	10	68	78	2001	julio	960
<b>Kanarek</b>	16	55	71	2001	agosto	2400
<b>Posada</b>	21	52,82	73,82	2002		1600
<b>Zorraquín</b>				2006		2400
<b>Perilago</b>				2010		1440
Altos Arapey				2013		2400
<b>OSE</b>	38	22	60	2018	enero	0

## Modelo geológico

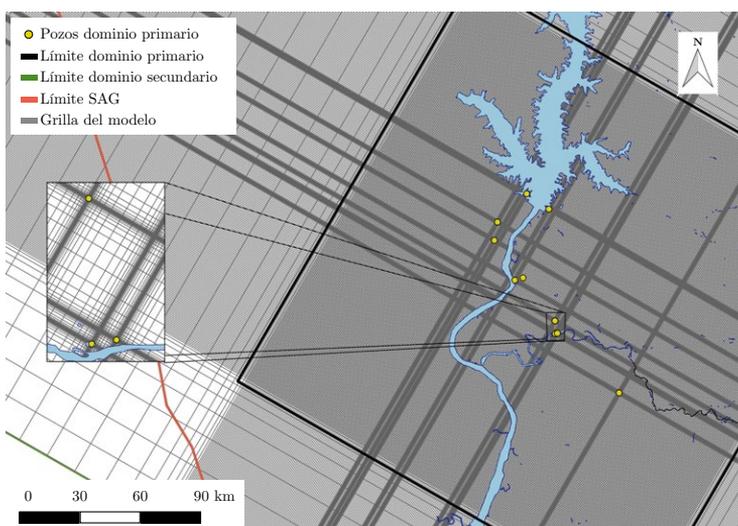
A diferencia de los modelos geológicos considerados para los modelos anteriores, y gracias a la nueva información incorporada, se consideró la hipótesis de que la porción del paquete sedimentario correspondiente al Jurásico y Triásico varía linealmente (en espesor) entre el este y el oeste del dominio, tomando 43% en la frontera de Brasil con Uruguay y 0% a 120 km al oeste de la frontera entre Argentina y Uruguay. Para la diferenciación de los espesores se consideró que el Jurásico y el Triásico toman un 53% y un 47% de la porción, respectivamente (Figura 4). Estas estimaciones no pretenden ser una descripción geológica del sistema, sino una aproximación con el fin de reproducir su comportamiento hidrogeológico.



**Figura 4.** Modelo 3D de la geología utilizada en el dominio primario: estratos del Jurásico, entre verde claro y celeste; estratos de Triásico, entre celeste y azul; basamento, verde oscuro.

### Discretización del modelo

Se definió una discretización gruesa para el dominio secundario (con tamaños de celda de 5.100 m de lado), una discretización media para el dominio primario (celdas de 240 m) refinando en las celdas con pozos (a un tamaño de 1 m). A diferencia del modelo anterior, el refinamiento de malla se realizó de forma automática definiendo como diferencia máxima en el tamaño de celdas un factor de 1,5 (Figura 5), permitiendo generar transiciones suaves entre las zonas con diferente densidad de mado, lo cual mejora la precisión de los resultados.



**Figura 5.** Malla utilizada en el modelo, con acercamiento a la zona de pozos.

## Parámetros y calibración

El proceso de calibración tiene como principal objetivo la estimación de los parámetros efectivos del modelo, aquellos que no pueden medirse de forma directa o de los cuales no se tienen datos. Los parámetros del modelo, estimados en régimen transitorio, fueron la conductividad hidráulica del acuífero, el coeficiente de almacenamiento específico, y los niveles piezométricos de los contornos sureste y noroeste. Se consideró el mismo valor de conductividad hidráulica horizontal para cada capa del modelo (Jurásico y Triásico) y un valor de conductividad vertical igual al 10% del de la dirección horizontal, de acuerdo a las recomendaciones bibliográficas existentes (Todd, 1980).

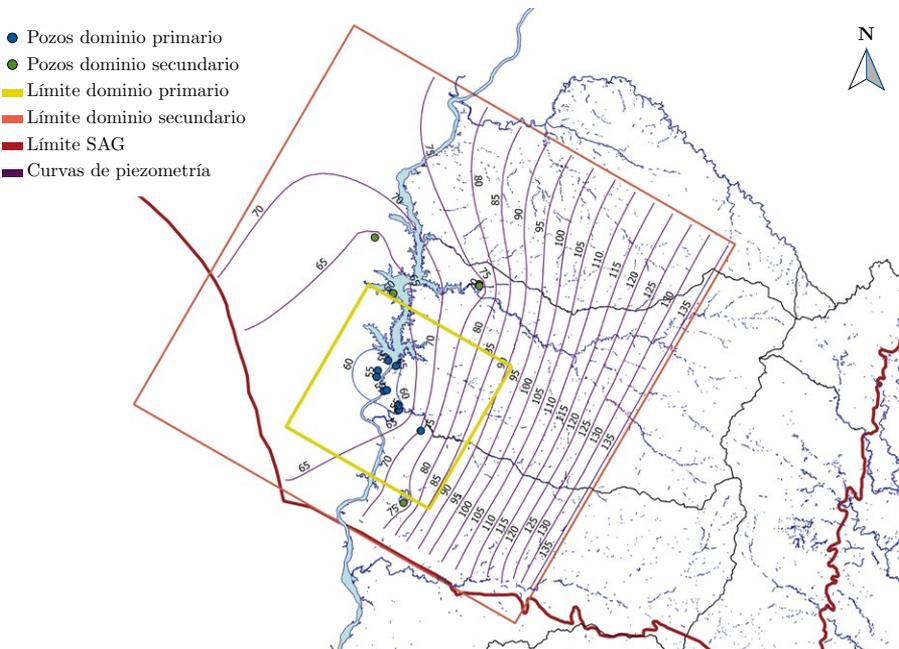
## Evaluación de nuevas perforaciones

Sobre el modelo calibrado, se realizó un estudio para evaluar el impacto de nuevas perforaciones sobre el conjunto de pozos operando en el dominio primario, que cubre las ciudades de Concordia y Salto. La metodología aplicada consistió en ubicar nuevas perforaciones a lo largo del dominio con un caudal de 2.101 m<sup>3</sup>/d (igual al valor medio de explotación del sistema), y evaluar el impacto en los pozos más cercanos.

Para el mapa se definieron tres zonas con distintos niveles de afectación: baja, media y alta. Se consideró como una afectación baja la que produce un descenso entre 3 y 4 m en el pozo más próximo, media cuando la afectación está entre 4 y 6 m, y alta cuando es mayor a 6 m. Los límites de las zonas se trazaron mediante la interpolación.

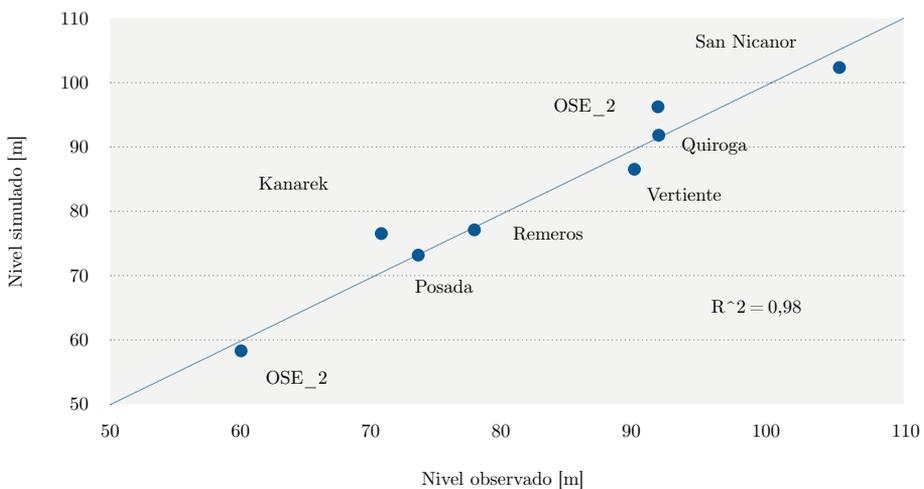
## RESULTADOS

Durante el proceso de calibración se obtuvieron valores de nivel fijo de contorno compatibles con la piezometría regional propuesta (Proyecto SAG, 2008b) y valores de conductividad y de coeficiente de almacenamiento razonables (del orden de los obtenidos en ensayos de bombeo; Gamazo, et al., 2016), logrando reproducir la historia de la variación de piezometría. El valor de conductividad hidráulica horizontal obtenido fue 0,57 m/día, el coeficiente de almacenamiento específico fue 8,84E-8 m<sup>-1</sup> y los valores de nivel en los contornos sureste y noroeste fueron 135,6 m y 70,89 m, respectivamente. En la Figura 6 puede apreciarse la piezometría generada por el modelo para el año 2019.



**Figura 6.** Piezometría resultante del modelo para el año 2019.

Como puede apreciarse en la Figura 7, el ajuste obtenido en el proceso de calibración presentó un valor de coeficiente de correlación  $R^2$  de 0,98, ligeramente superior al obtenido en el modelo del 2015 (Gamazo, et al., 2016). El error en la predicción de los niveles es del orden del error de la cota del modelo digital del terreno, con lo cual el ajuste es aceptable.



**Figura 7.** Ajuste del modelo.

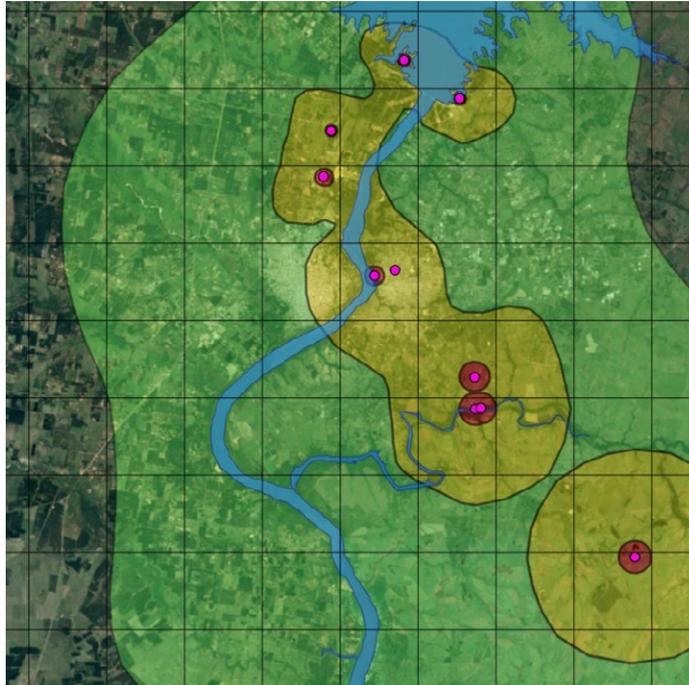
Durante el proceso de calibración también se realizó un análisis de sensibilidad de los parámetros sobre cada pozo de observación, es decir, cuando afecta cada parámetro a la simulación de las observaciones en cada pozo. En la Tabla

2 se puede observar cómo los parámetros más influyentes son las condiciones de contorno, en especial la sureste. Por otro lado, el coeficiente de almacenamiento específico es el de menos sensibilidad, probablemente debido a que las observaciones se encuentran a una gran distancia temporal entre ellas y a los momentos en que se comenzaron a explotar las perforaciones, registrando una serie de estados cuasiestacionarios.

**TABLA 2.** Sensibilidad de los parámetros en los puntos de observación. En la tabla se reporta la derivada del valor simulado de la observación respecto a los parámetros, normalizada por el valor del parámetro (Poeter, et al., 2005).

Pozos de observación	Conductividad hidráulica horizontal	Coefficiente de almacenamiento específico	Nivel fijo noroeste	Nivel fijo sureste
Remeros	21,282	3,468	34,492	67,417
Kanarek	23,957	3,534	31,891	72,887
Posada	26,655	4,221	32,269	72,087
Quiroga	7,146	2,381	35,037	66,100
Vertiente	9,979	3,582	36,207	63,716
San Nicanor	5,698	0,179	28,019	80,543
OSE_1	6,162	0,000	34,165	67,571
OSE_2	43,101	0,892	34,298	67,813

En cuanto a la evaluación del impacto de nuevas perforaciones, se realizó un mapa donde se visualizan las zonas de afectación a los pozos actuales (Figura 8). Allí puede apreciarse que la zona de afectación media (descensos entre 4 y 6 m) conforma un área casi continua que encierra a todas las perforaciones del área de estudio. También puede visualizarse que en la zona de termas del Daymán (ubicada en el centro del mapa) la presencia de tres perforaciones muy próximas produce una zona de afectación alta que es común a los tres pozos. En el resto de las perforaciones las zonas de afectación alta asociadas a cada pozo no se superponen. Asimismo, en el mapa puede apreciarse que las distancias hacia los contornos de las distintas zonas son mayores en los pozos ubicados al suroeste que al noreste. Esto se debe principalmente a la proximidad con el límite del acuífero.



**Figura 8.** Mapa de afectación de nuevas perforaciones.

## CONCLUSIONES

Se desarrolló un modelo matemático operativo y Disponible en: un software de libre distribución para la gestión de perforaciones infrabasálticas del SAG, que reproduce los niveles piezométricos reportados previo a la entrada en operación de nuevos pozos. En comparación con modelos anteriores, el desarrollado en este trabajo presenta un mejor ajuste a los niveles históricos y se compatibiliza de mejor manera con la piezometría regional propuesta por LEBAC y UNESP (Proyecto SAG, 2008b).

El generador de malla incluido en el preprocesador utilizado (ModelMuse) permitió crear una malla en la que las diferencias máximas en el tamaño de celdas presentan un factor de 1,5 (Figura 5). Esto permite obtener transiciones suaves entre las zonas con diferente densidad de mado, mejorando la precisión de los resultados.

El generador facilita también el remallado, lo cual es muchas veces necesario cuando se incorporan nuevos pozos al modelo. Esto, más otras facilidades a la hora de generar y visualizar resultados, hace que el modelo sea más accesible y aumenta la probabilidad de que sea utilizado por las administraciones tanto de Argentina como de Uruguay para dar soporte a las tomas de decisiones vinculadas a la gestión de las perforaciones.

El análisis de sensibilidad realizado indicó que el modelo presenta una mayor sensibilidad respecto a la condición de contorno sureste y menor afectación del coeficiente de almacenamiento específico. Esto puede deberse a que las observaciones se encuentran a una gran distancia temporal entre ellas y a los momentos en que se comenzaron a explotar las perforaciones, registrando una serie de estados cuasiestacionarios.

A partir del nuevo modelo se desarrolló un mapa de fácil lectura para evaluar el impacto de nuevas perforaciones en el SAG sobre el conjunto de pozos que operan en las ciudades de Concordia y Salto. Dicho mapa no sustituye al modelo a la hora de evaluar el impacto de nuevas perforaciones, pero brinda a los tomadores de decisión una herramienta rápida para evaluar la ubicación de nuevas perforaciones y sus efectos sobre las que ya están operando.

A pesar de que estas herramientas están disponibles, es necesario realizar más estudios sobre el sistema, en particular para mantener un monitoreo continuo de caudales y presiones en los pozos. También son necesarios estudios hidrogeológicos centrados en las formaciones subyacentes al SAG y su conexión hidráulica con él. Estos estudios permitirán ampliar y mejorar la capacidad predictiva del modelo, lo cual sin duda contribuirá a un mejor y sustentable aprovechamiento del recurso termal.

## REFERENCIAS

- Gamazo, P., Ramos, J., Olivera, M., Sapriza, G., Batista, L., Lacués, X. y Manganelli, A., 2016. Modelo matemático del Acuífero Guaraní para la gestión de explotaciones termales en la zona de Concordia (Entre Ríos, Argentina) y Salto (Uruguay). En: *IX Congreso Argentino de Hidrogeología y VII Seminario Hispano-Latinoamericano Sobre Temas Actuales de la Hidrología Subterránea*. San Fernando del Valle, Argentina (20-23 de setiembre de 2016). San Fernando del Valle: [s.n.]
- Poeter, E.P., Hill, M.C., Banta, E.R., Mehl, Steffen y Christensen, Steen, 2005. UCODE\_2005 and six other computer codes for universal sensitivity analysis, calibration, and uncertainty evaluation constructed using the JUPITER API [En línea]. Washington: USGS. (Techniques and Methods, 6-A11). [Consulta: 21 de mayo de 2019]. Disponible en: <http://pubs.er.usgs.gov/usgspubs/tm/tm6A11>.
- Proyecto SAG, 2008a. *Avances en el conocimiento del Sistema Acuífero Guaraní: tomo 1. Geología y geofísica (regional y áreas piloto) Volumen 1 y Tomo 5. Modelos numéricos hidrogeológicos* [En línea]. Montevideo: CeReGAS. [Consulta: 10 de abril de 2019] Disponible en: <http://www.ceregas.org/publicaciones/proteccion-ambiental-y-desarrollo-sostenible-del-sistema-acuifero-guarani-sag/>.
- Proyecto SAG, 2008b. *Avances en el conocimiento del sistema Acuífero Guaraní: Tomo 4. Climatología, hidrología e hidrogeología Volumen 4* [En línea]. Montevideo: CeReGAS. [Consulta: 10 de abril de 2019] Disponible en: <http://www.ceregas.org/publicaciones/proteccion-ambiental-y-desarrollo-sostenible-del-sistema-acuifero-guarani-sag/>.
- Ramos, J., Gamazo, P. y Saracho, A., 2015a. *Campaña de sondeos magnetotérmicos (AMT-MT) para el estudio geofísico profundo en Salto*. Informe inédito. Departamento del Agua, CenUR Litoral Norte, sede Salto.
- Ramos, J., Gamazo, P. y Saracho, A., 2015b. *Realización de sondeos audio-magnetotérmicos en la cuenca del río Cuareim y elaboración de mapa piezométrico en las ciudades de Artigas y Quaraí*. Informe inédito. Departamento

- del Agua, CenUR Litoral Norte, sede Salto.
- Ramos, J., de Souza, R., Blanco, C., Saravia, C., Betancur, O., Ferreira, Á. y de los Santos, J., 2015c. *Utilización de la energía geotérmica para calefacción de invernaderos*. Informe inédito. Departamento del Agua, CenUR Litoral Norte, sede Salto.
- Ramos, J., de Los Santos, J., Gamazo y P. Saracho, A., 2018. *Campaña sondeos magnetoteléuticos Gobernador Mansilla, Entre Ríos, Argentina*. Informe inédito. Departamento del Agua, CenUR Litoral Norte, sede Salto.
- Todd, D.K., 1980. *Groundwater hydrology*. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons. 535p.
- USGS, 2017. *ModelMuse: a graphical user interface for groundwater models* [En línea]. Versión 3.9. Washington: USGS. [Consulta: 10 de abril de 2019]. Disponible en: <https://www.usgs.gov/software/modelmuse-a-graphical-user-interface-groundwater-models>.

# Herramientas para el mantenimiento de la almeja amarilla *Mesodesma mactroides* en condiciones experimentales de cautiverio

## Tools for handling the Yellow clam *Mesodesma mactroides* under experimental captivity conditions

RECIBIDO: 22/3/2019 → APROBADO: 21/5/2019 ✉ [lercari@fcien.edu.uy](mailto:lercari@fcien.edu.uy)

✉ PROVERBIO, CARLOS (1), CARNEVIA, DANIEL (2), JORGE-ROMERO, GABRIELA (1), LERCARI, DIEGO (1)

(1) UNDECIMAR, FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY.

(2) FACULTAD DE VETERINARIA, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY.

---

### RESUMEN

Tradicionalmente en Uruguay, la almeja amarilla *Mesodesma mactroides* ha sido explotada artesanalmente en la costa oceánica. Su consumo se ha valorado notoriamente y se ha convertido en un producto gastronómico codiciado. Para obtener un producto seguro y de calidad se realiza un proceso de depuración (de arena), manteniendo las almejas en tanques de agua marina por un corto período. Sin embargo, no existen estudios acerca de los efectos de este proceso ni un análisis de las condiciones óptimas de depuración. El objetivo de este trabajo fue evaluar experimentalmente técnicas que permitan mantener en buen estado a ejemplares de *M. mactroides* en condiciones de cautiverio. Se realizaron ensayos en los que se evaluó marcaje por etiquetado, dietas, tipos de agua marina artificial, posición anatómica de los organismos y sustrato utilizado en cautiverio. Los resultados mostraron que el método de marcaje no afectó la sobrevivencia y no se alteró la legibilidad de las marcas. La *Spirulina* seca resultó adecuada como dieta alternativa. El agua artificial aumentó significativamente la sobrevivencia luego de la primera semana de experimentación. Mantener a los individuos en posición vertical aumentó significativamente la sobrevivencia respecto a la posición horizontal. Estos resultados tienen aplicabilidad experimental inmediata y contribuyen a mediano plazo al desarrollo de la especie en cautiverio.

**PALABRAS CLAVE:** *Mesodesma mactroides*, cautiverio, largo-plazo.

## ABSTRACT

Bivalve mollusks are important aquaculture and fisheries resources. On the Atlantic coast of Uruguay, the yellow clam *Mesodesma mactroides* has been traditionally exploited by hand. In recent years, its consumption has been notoriously valued, becoming a gastronomic product for regional restaurants. To obtain a quality product, a process of sand purification is carried out, keeping the clams in seawater tanks for short periods. However, there is no knowledge about the effects of this process or an analysis of the optimal conditions of purification. The goal of this paper was to experimentally evaluate several techniques that allow keeping *M. mactroides* state under laboratory conditions. Survival tests were performed to evaluate labeling, diets, types of artificial marine water (AMW), anatomical position of the organisms in captivity and substrate. The results showed that survival was not affected by the marking method and the legibility of the labels was not altered. Dry *Spirulina* was adequate as an alternative diet. The AMW of simpler composition and lower cost significantly increased survival after the first week of experimentation. Keeping individuals upright significantly increased survival compared to a horizontal position. These results have immediate applicability, contributing in the medium term to the development of the species in captivity.

**KEYWORDS:** *Mesodesma mactroides*, captivity, long-term.

## INTRODUCCIÓN

Los bivalvos filtradores (entre ellos las almejas) cumplen un importante rol en el flujo de materia y energía, impactando de manera significativa en los procesos fisicoquímicos de los ecosistemas en que habitan. Son entonces componentes fundamentales de la salud de estos sistemas y brindan importantes servicios ecosistémicos (Coen, 2007; Dame, 2012).

La explotación de los bivalvos por el hombre como fuente de alimento de calidad se remonta a los orígenes de la humanidad. En la actualidad las poblaciones sujetas a explotación sufren los mismos problemas que otros recursos pesqueros: sobreexplotación y deterioro de las condiciones ambientales debido a la contaminación, eutrofización y cambio climático (Defeo y de Alava, 1995; Lercari, et al., 2002; Ortega, et al., 2012).

El proceso de comercialización de bivalvos para consumo humano en general implica un procesamiento previo de eliminación de arena y posibles contaminantes, exigido por la legislación internacional o nacional como medio para proteger a los consumidores garantizando un producto seguro (National Shellfish Sanitation Program - NSSP, 2009; FAO, 2010; Richards, 2010). La depuración es el proceso realizado en condiciones de cautiverio por el cual se eliminan contaminantes microbianos y químicos de los moluscos bivalvos, asegurando el suministro de agua limpia para que lleven a cabo su actividad normal de filtración y bombeo durante períodos variables de tiempo. El éxito de este procedimiento implica la reanudación de la actividad filtradora por parte de los individuos de la especie objetivo. Para ello

se debe asegurar la provisión constante de agua marina natural o artificial con los adecuados parámetros fisicoquímicos y microbiológicos para el correcto desarrollo del proceso de depuración. El tiempo necesario para lograr la eliminación efectiva total o parcial del contaminante depende de su naturaleza, de la especie en cuestión y de las condiciones del proceso de depuración (FAO, 2010).

La almeja amarilla *Mesodesma mactroides* es un molusco bivalvo infaunal habitante de la zona intermareal en playas de la costa Atlántica de América del Sur, desde Santos (Brasil, 24° S) hasta Río Negro (Argentina, 41° S) (Fiori y Morsán, 2004). *M. mactroides* vive enterrada en la arena en posición vertical a profundidades mayores a los 10,0 cm (Celentano, et al., 2019), preferentemente en la zona intermareal de playas disipativas, un ambiente rico en nutrientes y oxígeno, pero a la vez dinámico. En Uruguay, la pesca artesanal de *M. mactroides* se desarrolla en una franja de costa de 22 km de extensión entre la Coronilla y Barra de Chuy (Gianelli, et al., 2015). En una primera etapa (1960-1987), la extracción se realizó bajo régimen de acceso abierto al recurso, lo que llevó a su sobreexplotación, colapso y cierre de la pesquería por 32 meses (de abril de 1987 a noviembre de 1989) (Defeo, et al., 1992). Desde el año 2009 la explotación se realiza bajo régimen de co-manejo (Gianelli, et al., 2015), se otorgan cuotas de pesca y se busca la comercialización viva del recurso para consumo humano (Defeo, 2015) y su posicionamiento como producto gourmet.

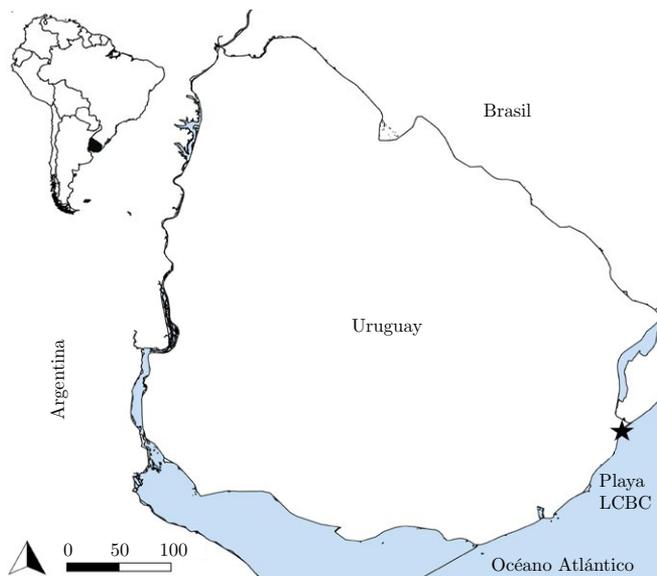
Pese a la importancia de *M. mactroides* en la región y su potencial interés acuícola (Carnevia, 2007), no existen estudios para maximizar el tiempo de sobrevida de la especie fuera de su medio natural, ya sea con fines experimentales o comerciales. En Uruguay, el tratamiento previo a la comercialización de *M. mactroides* implica la depuración de arena en recipientes de 700 L con agua marina tomada de la costa y durante un período de 48 horas. Los actuales usuarios de este recurso se enfrentan a una serie de problemas entre los cuales se destacan el suministro de agua de depuración, las constantes vedas por marea roja y la imposibilidad de mantener con vida y en buenas condiciones a las almejas capturadas por relativamente largos períodos de tiempo, con el fin de disponer de un stock de comercialización. Actualmente la investigación más básica acerca de las condiciones de cría de este recurso resulta insuficiente. Al respecto, son desconocidas las condiciones óptimas en cuanto a la calidad y tipo de agua, opciones básicas de alimentación natural o artificial, y métodos de marcaje e identificación individual de los organismos vivos, entre otros aspectos. Este estudio incorpora herramientas y métodos experimentales sencillos ampliamente utilizados en acuicultura, de bajo costo y tecnología básica, para evaluar su aplicación en *M. mactroides*.

Dado el incipiente conocimiento acerca del mantenimiento de *M. mactroides* fuera de su medio natural, este trabajo evalúa técnicas básicas que permitan la sobrevivencia a largo plazo de los organismos en condiciones controladas de laboratorio, minimizando los cambios en la condición fisiológica. La estrategia del estudio consistió en la implementación de experimentos factoriales donde se evaluaron los efectos en la sobrevivencia y condición corporal de diferentes tipos de agua marina artificial (AMA), dietas, posición anatómica de los organismos y el sustrato, e identificación individual de los organismos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestreo

La extracción de las almejas se realizó en la franja costera arenosa comprendida entre La Coronilla y Barra del Chuy (LCBC), en la costa oceánica del departamento de Rocha, Uruguay (Figura 1). Los organismos fueron extraídos manualmente. Se registró la salinidad y temperatura *in situ* con termosalinómetro YSI EC300. Las almejas extraídas se acondicionaron para su transporte, enterradas en recipientes con arena seca. En el laboratorio las almejas fueron enjuagadas en agua marina artificial (AMA) (salinidad =  $21,9 \pm 0,1$ ) y colocadas 5' sobre papel secante. Se midió la longitud máxima del eje antero posterior con vernier Stronger y su masa (MHTi) en balanza digital de precisión OHAUS Adventurer. El acondicionamiento previo a las experiencias se realizó en un tanque de 100 L con AMA *Sera marine basic salt* y se mantuvieron las características ambientales: salinidad  $21,9 \pm 0,1$  (Carvalho, et al., 2015), pH =  $8,00 \pm 0,15$  temperatura  $12,0 \pm 1,0$  C. El período de acondicionamiento fue de seis días, y las almejas se colocaron horizontales sin suficiente sustrato para enterrarse y sin alimento (Sauco, et al., 2013). Se contó con un sistema de recirculación a través de filtro físico y biológico y luz UV. Se suministró aireación constante a niveles de saturación de oxígeno. En todas las experiencias se utilizaron almejas sin roturas y talla comercial ( $\geq 50$  mm; Gianelli, et al., 2015), con excepción de los experimentos de marcaje en los cuales los individuos fueron clasificados en dos tallas:  $< 50$  mm (juveniles y no comerciales) y  $\geq 50$  mm (adultos comerciales).



**Figura 1.** Ubicación de la playa La Coronilla - Barra del Chuy (LCBC) en la costa atlántica uruguaya, lugar de la extracción de los ejemplares de *M. mactroides* utilizados en los experimentos.

## Método de marcaje

Se marcaron 20 almejas, 10 de tamaño < 50 mm y 10 mayores a 50 mm. Se comparó su sobrevivencia respecto a almejas de los mismos rangos de tamaño no marcadas. Las marcas consistieron en etiquetas de nylon transparentes numeradas con marcador indeleble y adheridas a las valvas con pegamento de cianoacrilato. El tiempo de manipulación para el marcaje con etiquetas fue de aproximadamente 1 minuto por individuo. Los organismos se colocaron en el tanque experimental común de 100 L con recirculación de agua y se registró la mortalidad durante seis días. Se analizaron las curvas de sobrevivencia (método Kaplan-Meier, método Log-rank) para todos los tratamientos experimentales.

## Dietas

El diseño experimental consistió en seis tratamientos con 10 unidades experimentales (UE) individuales cada uno. Estas consisten en contenedores plásticos de 0,5 L con AMA comercial (salinidad  $21,0 \pm 0,5$ ) y aeración a saturación donde se colocó una sola almeja; en total se colocaron 60 almejas  $\geq 50$  mm. Los tratamientos evaluados fueron: C: control sin alimentación; S: alimentación con *Spirulina* deshidratada (0,021 g/día); K: alimentación con harina de krill (0,021 g/día); SS: alimentación con *Spirulina* deshidratada (0,021 g/día) + sacarosa (0,071 g/día); KS alimentación con harina de krill (0,021 g/día) + sacarosa (0,071 g/día).

Se registró la mortalidad diariamente y se evaluaron las curvas de sobrevivencia y el tiempo medio de sobrevivencia. Los cambios en la condición corporal se evaluaron mediante el índice  $IC = \text{Masa Seca de Pulpa (MSP, g)} / \text{Masa Seca Total (MST, g)}$ , que puede ser estimado utilizando instrumentos y cálculos simples (Galvao, et al., 2015). La obtención de la MST se realizó secando las muestras en estufa a  $45 \pm 5$  °C hasta obtener una masa constante. La MSP se obtuvo separando la pulpa de las valvas. Antes del inicio del experimento se determinó el IC a una muestra de 17 almejas a los efectos de comparar el estado inicial y final.

Para evaluar cambios en variables de calidad del agua durante el desarrollo de los experimentos se realizaron medidas semanales al azar en tres UE de cada tratamiento; se determinaron los sólidos sedimentables (SS) (Avnimelech, 2009) y el pH mediante un medidor portátil de pH. El amoníaco  $\text{NH}_3$  se midió mediante un test kit colorimétrico semicuantitativo para acuarios marinos Sera ®, pero no fue posible la realización de medidas repetidas en cada instancia.

Las funciones de sobrevivencia se compararon globalmente y de a pares (método Kaplan-Meier, método Log-rank, Kaplan y Meier, 1958). Se ajustó el modelo de regresión de Cox por el método Efron a los efectos de determinar si existieron efectos significativos de los tratamientos sobre el tiempo de sobrevivencia y los riesgos relativos en comparación con el control. Se realizó un ANOVA de una vía para evaluar las diferencias entre la media del tiempo de sobrevivencia y el IC entre cada tratamiento del factor dieta.

## Agua marina artificial

Se compararon los costos y la sobrevivencia de la especie en dos aguas marinas artificiales, un agua marina comercial (*Sera Marine Basic Salt*®) y un AMA preparada según una fórmula provista por FAO (2010). El costo en plaza por litro de las aguas artificiales es similar: AMA comercial 0,19 US\$/L; AMA fórmula FAO (FAO, 2010) 0,17 US\$/L.

El diseño experimental consistió en dos tratamientos con 10 UE individuales cada uno, en contenedores de plástico de 0,5 L: 10 con AMA comercial y 10 AMA FAO (salinidad  $21,0 \pm 0,5$ ) y aeración a saturación, donde se colocó una sola almeja. En total se colocaron 20 almejas de talla comercial ( $\geq 50$  mm). Se registró la mortalidad durante 30 días y se obtuvieron y compararon las curvas de sobrevivencia según la regresión de Cox por el método Efron. Se registró la media de los tiempos de sobrevivencia para ambas aguas artificiales y se compararon utilizando un ANOVA de una vía para el factor tipo de agua marina artificial.

## Posición de vida y sustrato

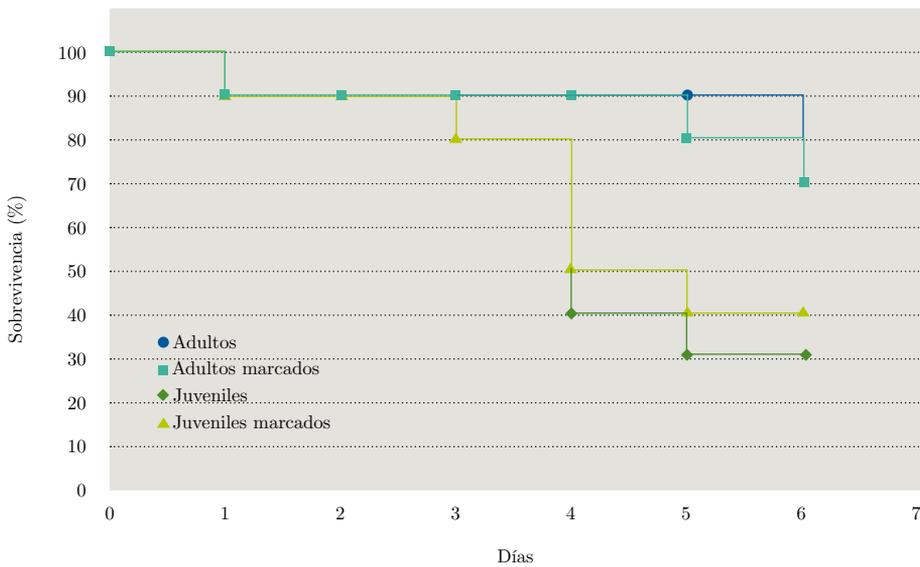
El diseño experimental consistió en tres tratamientos con 10 UE individuales cada uno, que difirieron en la posición de los organismos. Las UE consistieron en un contenedor plástico de 0,5 L con AMA comercial y aeración a saturación donde se colocó una sola almeja. Los tratamientos fueron: almejas en posición horizontal en el fondo, almejas en posición vertical con los sifones hacia arriba soportadas por un tubo de PVC y almejas enterradas en arena como sustrato. Se registró la mortalidad durante 30 días; se construyeron y compararon curvas de sobrevivencia globales y de a pares (método Kaplan-Meier, método Log-rank, Kaplan y Meier, 1958).

Los análisis de sobrevivencia se realizaron en el programa estadístico R (R Development Core Team, 2008), utilizando el paquete R commander (Fox, 2005) y el plugin RcmdrPlugin.survival (Fox y Carvalho, 2012). Las curvas de sobrevivencia se compararon por el método Log-rank (Molinero, 2001).

## RESULTADOS

### Método de marcaje

Durante los seis días del experimento de marcaje no se perdieron marcas y todas fueron legibles. Tanto para juveniles como para adultos no existieron diferencias significativas en las funciones de sobrevivencia de almejas marcadas y sin marcar (Figura 2). Se observaron diferencias significativas entre tallas, independientemente de las marcas: para la talla  $\geq 50$  mm fue mayor la probabilidad de sobrevivencia luego del segundo día de experimentación (Tabla 2).



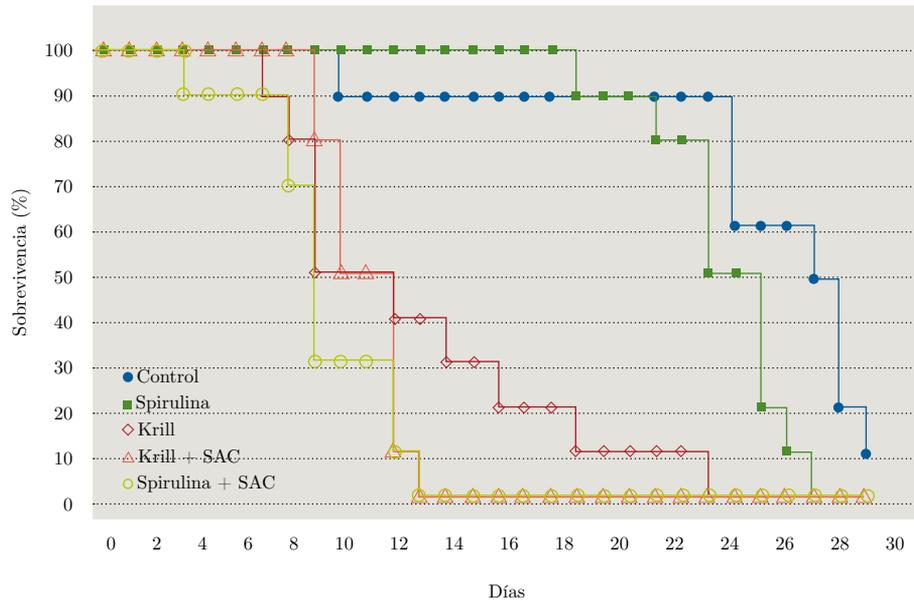
**Figura 2.** Funciones de sobrevivencia de la almeja amarilla para los experimentos de evaluación de marcas.

**TABLA 1.** Comparación de las funciones de sobrevivencia de la almeja amarilla durante seis días. N: tamaño de la muestra. Los p-valores significativos se detallan en negrita.

Factor	N	Muertes	chi <sup>2</sup>	p-valor
<b>Talla/Tratamiento</b>				
Juvenil + Marca	9	6	5	0,174
Juvenil – Marca	9	5		
Adulto + Marca	9	3		
Adulto – Marca	9	2		
<b>Tratamiento</b>				
Marca	18	9	0,4	0,548
Sin Marca	18	7		
<b>Talla</b>				
Juvenil	18	11	4,5	<b>0,033</b>
Adulto	18	5		

## Dietas

La comparación de las funciones de supervivencia mostró diferencias significativas entre dietas (Figura 3 y Tabla 3). El ajuste de los datos al modelo de regresión de Cox por el método Efron se muestra ordenado desde un riesgo relativo de muerte menor a mayor, en comparación con el tratamiento control (Tabla 2).



**Figura 3.** Curvas de supervivencia de la almeja amarilla para los diferentes tratamientos de alimentación.

**TABLA 2.** Resultados de la comparación pareada de las funciones de supervivencia de la almeja amarilla. Los p-valores significativos se detallan en negrita.

Tratamiento	Control	<i>Spirulina</i>	Krill	<i>Spirulina</i> + Sacarosa
Control	---			
Spirulina	<b>5,87E-03</b>	---		
Krill	<b>4,06E-05</b>	<b>1,88E-04</b>	---	
<i>Spirulina</i> + Sacarosa	<b>7,94E-05</b>	<b>5,91E-06</b>	0,131	---
Krill + Sacarosa	<b>7,08E-05</b>	<b>8,70E-06</b>	0,079	0,960

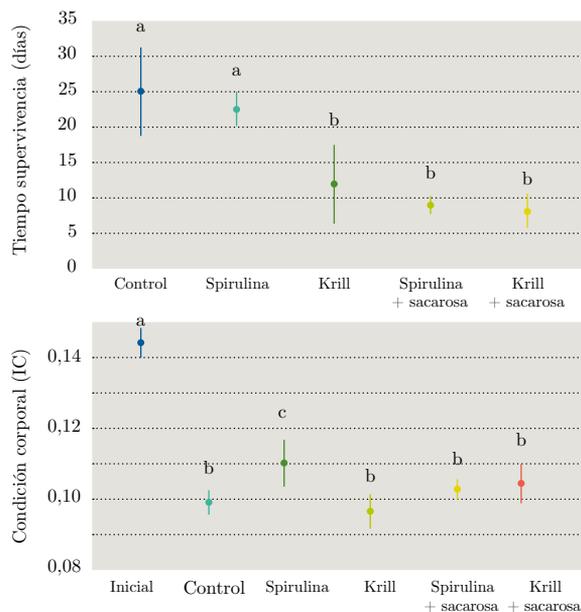
Todos los tratamientos influyeron significativamente sobre la probabilidad de supervivencia dentro de sus respectivos intervalos de confianza (Tabla 4). El modelo ajustó para cualquiera de los criterios de bondad: test de razón de verosimilitud

( $p=3,79e^{-12}$ ), test de Wald ( $p=7,47e^{-08}$ ) y test Score ( $p=4,59e^{-11}$ ), con una concordancia=  $0,81 \pm 0,05$  ( $R^2=0,65$ ). No hubo evidencia significativa de que se viole la hipótesis de riesgos proporcionales.

**TABLA 3.** Resultados de modelo de Cox para los tratamientos de alimentación de la almeja amarilla. R: riesgo relativo de cada tratamiento, tomando el tamaño de la muestra como referencia. Los p-valores significativos se detallan en negrita.

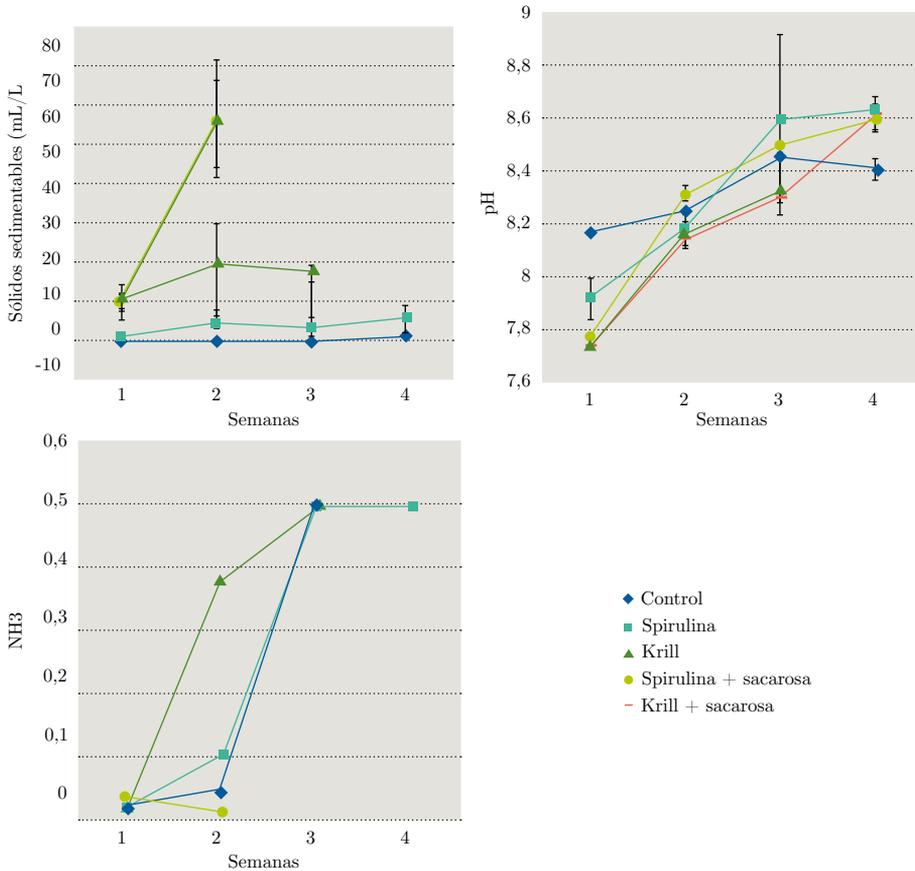
Tratamiento	R	95% IC	p-valor
Control	---	---	---
<i>Spirulina</i>	4,6	1,4-15,2	<b>0,012</b>
Krill	35,1	8,4-146,6	<b>1,00E-06</b>
<i>Spirulina</i> + Sacarosa	109,5	21,9-547,5	<b>1,10E-08</b>
Krill + Sacarosa	121,0	24,6-594,4	<b>3,60E-09</b>

La comparación del tiempo medio de supervivencia para los tratamientos de alimentación y el IC (Figura 4) mostró que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos Control y *Spirulina*, pero sí entre estos y el resto. A su vez, todos los tratamientos resultaron en un menor IC en relación al estado inicial. El ANOVA mostró un efecto significativo de los tratamientos sobre el IC  $F(6,66)=8,44$ ,  $p=8,39E^{-07}$ . El tratamiento S fue el que produjo una menor disminución del IC.



**Figura 4.** Tiempo de supervivencia (Media  $\pm$  DE, arriba) e Índice de Condición Corporal (Media  $\pm$  DE, abajo) de la almeja amarilla para los tratamientos de dieta.

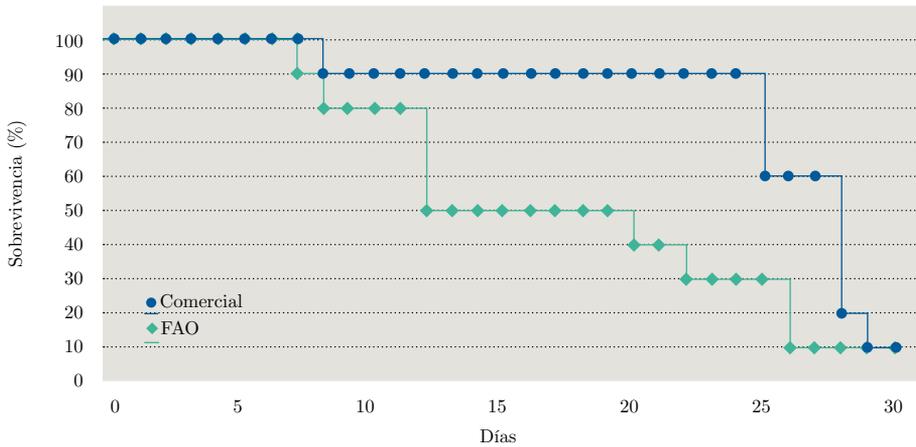
Los cambios en variables de calidad del agua durante el transcurso del experimento se muestran en la Figura 5.



**Figura 5.** Sólidos sedimentables (Media  $\pm$  DE), pH (Media  $\pm$  DE) y NH<sub>3</sub> (Media) para los tratamientos de dieta de la almeja amarilla. Nótese que debido al método de medición de NH<sub>3</sub> no se contó con una estimación de variabilidad dentro de las semanas.

## Agua marina artificial

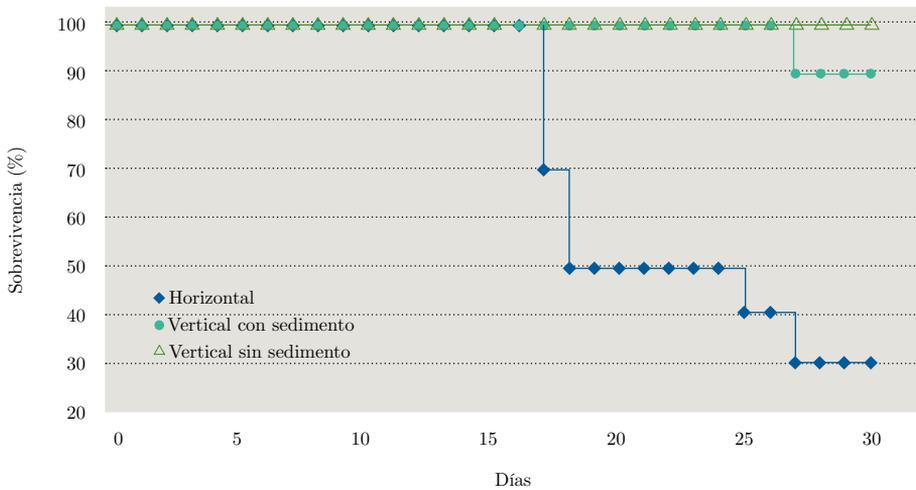
La comparación de las curvas de sobrevivencia (Figura 6) para las AMAs no mostró diferencias significativas entre ellas ( $\chi^2=1,9$  en 1 grado de libertad, p-valor=0,168). El ANOVA mostró un efecto significativo del tipo de agua sobre el tiempo promedio de sobrevivencia ( $F(1,18)=5,737$ , p-valor=0,028); la media del tiempo de sobrevivencia en el tratamiento con AMA comercial fue mayor que en AMA FAO (2010).



**Figura 6.** Curvas de supervivencia de la almeja amarilla para los tratamientos AMA comercial y AMA FAO (2010).

### Posición de vida y sustrato

El análisis pareado de las curvas de supervivencia (Figura 7) mostró diferencias significativas entre los tratamientos vertical y horizontal ( $\chi^2=13,5$  en 2 grados de libertad,  $p\text{-valor}=0,001$ ), pero no entre los verticales con y sin sedimento ( $\chi^2=1$  en un grado de libertad,  $p\text{-valor}=0,317$ ).



**Figura 7.** Curvas de supervivencia para los experimentos de posición anatómica: almejas en posición horizontal en el fondo, almejas en posición vertical con los sifones hacia arriba soportadas por un tubo de PVC y almejas enterradas en arena como sustrato.

## DISCUSIÓN

En este trabajo se exploraron de manera satisfactoria algunas condiciones de sustento artificial para la almeja amarilla *M. mactroides* mediante la evaluación de diferentes técnicas aplicadas al mantenimiento a largo plazo de la especie en laboratorio.

### Método de marcaje

La evaluación de métodos de marcaje en *M. mactroides* demostró que la técnica elegida no produce un efecto negativo sobre la sobrevivencia para ninguna de las tallas probadas y que permite el seguimiento individual durante toda la experiencia. El método seleccionado es inocuo y efectivo, además es económico y ha sido probado en varias especies de moluscos bivalvos (Todolí, 2014; Riley, et al., 2010). Sin embargo, es necesario remarcar que el procedimiento es demandante en cuanto al tiempo de manipulación y adicionalmente es incierta la permanencia de las marcas en un medio natural altamente abrasivo como las playas arenosas. Por consiguiente, si se requiere marcar una muestra relativamente grande y/o el tamaño de los individuos es pequeño, existen otros métodos de marcaje cuya implementación podría ser más adecuada, como los descriptos por Lepore et al. (2009).

Independientemente de las marcas, se observó un efecto significativo de la talla sobre la probabilidad de sobrevivencia, que fue mayor en los organismos adultos de talla comercial. La menor sobrevivencia de las tallas juveniles podría deberse a distintos factores, como los estados fisiológicos y la sensibilidad a condiciones ambientales diferenciales entre tallas. La mayor susceptibilidad de estados tempranos de desarrollo en bivalvos ha sido observada anteriormente (Griffith, et al., 2019).

### Dietas

Los tiempos de sobrevivencia más prolongados se logran con el tratamiento control, donde no se le suministró alimento a los animales y en el que la concentración de  $\text{NH}_3$  aumenta hacia el final de la experiencia. En experiencias anteriores se observó una gran tolerancia a largos períodos de inanición en moluscos bivalvos (84 días), al mantener una buena calidad de agua (Albentosa, et al., 2006). Sin embargo, el tratamiento con *Spirulina* no mostró diferencias significativas con el control en cuanto al tiempo de sobrevivencia, en tanto que produjo menores pérdidas en el IC.

La mayor probabilidad de sobrevivencia del tratamiento con *Spirulina* probablemente esté relacionada a la calidad y tamaño de partícula del alimento. Mientras la *Spirulina* parece ser consumida por *M. mactroides*, la harina de krill no, ya que no se observaron diferencias en el volumen de sólidos sedimentables en los tratamientos de harina de krill con y sin almeja. El tamaño de partícula podría ser la causa de esta diferencia en el consumo entre ambas raciones. El rango de tamaño de partícula consumido por los bivalvos varía entre 1 a 100  $\mu\text{m}$  (Mamat, 2010), mientras que la harina de krill utilizada tiene un tamaño de 100 a 150  $\mu\text{m}$ . Por su parte, la *Spirulina* tiene un tamaño de célula de entre 6 y 16  $\mu\text{m}$  (Ali, 2012). No se han

encontrado referencias anteriores sobre el rango de tamaño de partícula consumido por *M. mactroides*. Existen experiencias previas de utilización de *Spirulina* en la alimentación de moluscos bivalvos en etapas de *hatchery* o con fines experimentales (Benemann, 1992; Berthet, et al., 1992; Coutteau y Sorgeloos 1992, Coutteau, et al., 1993; Bonner y Rockhill, 1994; Arney, et al., 2015), con resultados variables según la especie objetivo y la etapa de desarrollo. No se ha encontrado bibliografía previa sobre la utilización de *Spirulina*, otras dietas alternativas o algas vivas en la alimentación de *M. mactroides*, con fines experimentales o de cultivo.

No se obtuvieron buenos resultados respecto a la sobrevivencia en los tratamientos con sacarosa. La probabilidad de sobrevivencia fue más baja y el riesgo relativo superior al resto de los tratamientos. Aunque se logró mantener baja la concentración de  $\text{NH}_3$ , el rápido aumento de los sólidos sedimentables podría explicar la baja probabilidad de sobrevivencia en los tratamientos con sacarosa. En los moluscos bivalvos es conocido el efecto negativo de la turbidez sobre el fitness, la respiración, la abundancia y la sobrevivencia (Steele-Petrovic, 1975; Murphy, 1985; Ellis, et al., 2001; Newell, 2004). La producción de biofloc implica la resuspensión continua de las partículas en la columna de agua, por lo cual es un punto clave el control de los sólidos en suspensión para el éxito del cultivo de algunas de las especies objetivo (Ray, et al., 2010; Schweitzer, et al., 2013). El suministro de sacarosa no aportó a la producción de biofloc, como ha sido observado en otros estudios (Huang, et al., 2017).

Debido al suministro diario de alimento y a la ausencia de recambio de agua durante los experimentos, se evidenció un aumento de la concentración de amoníaco, indicador del deterioro progresivo de la calidad del agua y al mismo tiempo una disminución de la probabilidad de sobrevivencia de los individuos. Varias especies de moluscos bivalvos muestran una gran tolerancia a la exposición a altas concentraciones de amoníaco, durante tiempos relativamente cortos (Epifanio y Srna, 1975; Reddy y Menon, 1979), pero los efectos sobre la sobrevivencia aumentan con la exposición prolongada a concentraciones no tan altas como las registradas durante los experimentos (Zischke y Arthur, 1987; Hickey y Martin, 1999).

## Agua marina artificial

La utilización de agua artificial elaborada a partir de la fórmula proporcionada por la FAO (2010), de menor costo que las sales a disposición en el mercado, no es recomendable en manejos que requieran tiempos mayores a siete días, debido a la disminución de la probabilidad de sobrevivencia. Sin embargo, podría ser una alternativa para el manejo a corto plazo, como un proceso de depuración de 48 horas. El agua artificial FAO (2010) es ampliamente utilizada para el almacenamiento de langostas y en la depuración de la ostra japonesa (*Crassostrea gigas*) y la almeja *Mercenaria mercenaria*, pero su uso parecería no ser fácilmente generalizable, por lo cual debe probarse específicamente. Los resultados sugieren que la composición del agua comercial elaborada a partir de una mayor mezcla de sales se adecuaba mejor a los requerimientos fisiológicos de *M. mactroides*. Sin embargo, existe poca información

sobre los requerimientos específicos de la especie, por lo que sería recomendable realizar estudios fisiológicos y testear AMAs con otras formulaciones disponibles.

## Posición de vida y sustrato

El acondicionamiento de reproductores en algunas especies de moluscos bivalvos infaunales se realiza en bandejas que contienen un sustrato para permitir que se entierren adoptando su posición de vida. Esto facilita la filtración, alimentación y respiración, y tiene importantes consecuencias fisiológicas (FAO, 2006). Por ejemplo, *Panopea generosa* es acondicionada para su transporte viva sujetando las valvas con una banda elástica. La presión ejercida reduce el esfuerzo realizado por los músculos aductores para mantener las valvas cerradas, permitiendo conservar las almejas en mejores condiciones por mayor tiempo. Los efectos fisiológicos de permitir a los animales adoptar la posición de vida parecen ser más determinantes para la sobrevivencia en *M. mactroides* que la presencia de un sustrato que ejerza presión sobre las valvas. En futuros manejos experimentales será fundamental permitir o colocar a los animales en la posición de vida, y una solución para ello será suministrar un sustrato. Sin embargo, el uso de arena u otro sustrato particulado acarrearía dificultades a tener en cuenta en los sistemas de recirculación de agua para la depuración de estos animales (e.g. anoxia). La utilización de sustratos artificiales (e.g. espuma sintética inerte e inocua) podría ofrecer una solución a estos problemas.

## CONCLUSIONES

El uso de etiquetas plásticas numeradas pegadas con cianoacrilato mostró ser un método de marcaje inocuo, efectivo y económico, y su utilización es viable como herramienta experimental en esta especie.

La *Spirulina* ofrece buenas perspectivas como alimento o como parte de una dieta alternativa, si bien aún faltan estudios fisiológicos que brinden información sobre aspectos nutricionales de *M. mactroides*.

La calidad del agua es fundamental para la sobrevivencia en esta especie como lo es en otras de moluscos bivalvos. La gestión de los residuos nitrogenados y los sólidos en suspensión es por lo tanto un requisito indispensable para su mantenimiento en buenas condiciones.

La utilización de un AMA de menor costo podría ser una alternativa en un proceso de depuración corto como el que se realiza en la actualidad, aunque no sería recomendable su utilización en procesos o manejos que requieran tiempos más prolongados debido a la disminución de la sobrevivencia.

Otra consecuencia de aplicación inmediata para el manejo de esta especie *in vitro* es el efecto de la posición sobre la sobrevivencia. Cualquier manejo a mediano y largo plazo deberá permitir a los animales adoptar la posición de vida.

## RECONOCIMIENTOS

Se agradece a los pescadores de almeja amarilla de La Coronilla y Barra del Chuy, en especial a Nancy Schuch y Gabriel Rocha, de la empresa Almejas Palmares. Al Servicio ECCA de la Intendencia Municipal de Montevideo, en especial al Dr. Gustavo Saona. Se agradece el apoyo económico del «Programa de Vinculación Universidad - Sociedad y Producción» y del «Programa de Grupos de Investigación (Grupo 32)» de la Comisión Sectorial de Investigación Científica de la Universidad de la República.

## REFERENCIAS

- Albentosa, M., Fernández-Reiriz, M., Labarta, U. y Pérez-Camacho A., 2006. Response of two species of clams, *Ruditapes decussatus* and *Venerupis pullastra*, to starvation: Physiological and biochemical parameters. En: *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part B 146, pp.241-249.
- Ali, S., y Saleh, M., 2012. Spirulina—An overview. En: *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(3), pp.9-15.
- Arney, B., Liu, W., Forster, I., McKinley, R. y Pearce, C., 2015. Feasibility of dietary substitution of live microalgae with spray-dried *Schizochytrium* sp. or *Spirulina* in the hatchery culture of juveniles of the Pacific geoduck clam (*Panopeagenerosa*). En: *Aquaculture*, 444, pp.117-133.
- Avnimelech, Y., 2009. *Biofloc technology: a practical guide book*. Sorrento: World Aquaculture Society.
- Benemann, J., 1992. Microalgae aquaculture feeds. En: *Journal of Applied Phycology*, 3(4), pp.233-245.
- Berthet, B., Amiard, J., Amiard-Triquet, C., Martoja, M. y Jeantet, A., 1992. Bioaccumulation, toxicity and physico-chemical speciation of silver in bivalve molluscs: ecotoxicological and health consequences. En: *The Science of the Total Environment*, 125, pp.97-122.
- Bonner, T. y Rockhill, R., 1994. Ultrastructure of the Byssus of the Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*, Mollusca: Bivalvia). En: *American Microscopical Society*, 113(3), pp.302-315.
- Carnevia, D., 2007. *Análisis de las oportunidades de cultivo de especies acuáticas en Uruguay*. Montevideo: DINARA.
- Carvalho, Y., Romano, L. y Poersch, L., 2015. Effect of low salinity on the yellow clam *Mesodesma mactroides*. En: *Brazilian Journal of Biology*, 75(1), pp.8-12.
- Celentano, E., Lercari, D., Maneiro, P., Rodríguez, P., Gianelli, I., Ortega, L., Orlando, L. y Defeo, O., 2019. The forgotten dimension in sandy beach ecology: Vertical distribution of the macrofauna and its environment. En: *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 217, pp.165-172.
- Coen, L., Brumbaugh, R., Bushek, D., Grizzle, R., Luckenbach, M., Posey, M., Powers, S. y Tolley, G., 2007. Ecosystem services related to oyster restoration. En: *Marine Ecology Progress Series*, 341, pp.303-307.

- Coutteau, P. y Sorgeloos, P., 1992. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. En: *Journal of Shellfish Research*, 11(2), pp.467-476.
- Coutteau, P., Dravers, M., Dravers, P., Léger, P. y Sorgeloos, P., 1993. *Manipulated yeasts diets and dried algae as a partial substitute for live algae in the juvenile rearing of the Manila clam *Tapes philippinarum* and the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Production, environment and quality*. Gante: European Aquaculture Society. (Special Publication, No.18).
- Dame, R., 2012. *Ecology of marine bivalves an ecosystem approach*. 2a ed. Boca Ratón: CRC Press,
- Defeo, O., 2015. *Enfoque ecosistémico pesquero. Conceptos fundamentales y su aplicación en pesquerías de pequeña escala de América Latina*. Roma: FAO. (Documento técnico de pesca y acuicultura, 592).
- Defeo, O., Ortiz, E. y Castilla, J., 1992. Growth, mortality and recruitment of the yellow clam *Mesodesma mactroides* on Uruguayan beaches. En: *Marine Biology*, 3(114), pp.429-437.
- Defeo, O. y de Alava A., 1995. Effects of human activities on long-term trends in sandy beach populations: the wedge clam *Donax hanleyanus* in Uruguay. En: *Marine Ecology Progress Series*, 123, pp.73-82.
- Ellis, J., Cummings, V., Hewitt, J., Thrush, S. y Norkko, A., 2001. Determining effects of suspended sediment on condition of a suspension feeding bivalve (*Atrina zelandica*): results of a survey, a laboratory experiment and a field transplant experiment. En: *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 267, pp.147-174.
- Epifanio, C. y Srna, R., 1975. Toxicity of Ammonia, Nitrite Ion, Nitrate Ion, and Orthophosphate to *Mercenaria mercenaria* and *Crassostrea virginica*. En: *Marine Biology*, 33(3), pp.241-246.
- FAO, 2006. *Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico*. Roma: FAO. (Documento técnico de pesca, 471).
- FAO, 2010. *Depuración de bivalvos: aspectos fundamentales y prácticos*. Roma: FAO. (Documento técnico de pesca, 511).
- Fiori, S. y Morsán, E., 2004. Age and individual growth of *Mesodesma mactroides* (Bivalvia) in the southernmost range of its distribution. En: *ICES Journal of Marine Science*, 61, pp.1253-1259.
- Fox, J., 2005. The R Commander: A Basic Statistics Graphical User Interface to R. En: *Journal of Statistical Software*, 14(9), pp.1-42.
- Fox, J. y Carvalho, M., 2012. The RcmdrPlugin.survival package: extending the R commander interface to survival analysis. En: *Journal of Statistical Software*, 49(7), pp.1-32.
- Galvao, P., Longo, R., Machado, J. y Malm, O., 2015. Estimating the potential production of the brown Mussel *Perna perna* (Linnaeus, 1758) reared in three tropical bays by different methods of condition indices [En línea]. En: *Journal of Marine Biology*, Article ID 948053, pp.11. [Consulta: 14 de noviembre de 2018] Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/jmb/2015/948053/>

- Gianelli, I., Martínez, G. y Defeo, O., 2015. An ecosystem approach to small-scale co-managed fisheries: the yellow clam fishery in Uruguay. En: *Marine Policy*, 62, pp.196-202.
- Hickey, C. y Martin, M., 1999. Chronic toxicity of ammonia to the freshwater bivalve *Sphaerium novaezelandiae*. En: *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1(36), pp.38-46.
- Griffith, A.W., Shumway, S.E. y Gobler, C.J., 2019. Differential mortality of North Atlantic bivalve molluscs during harmful algal blooms caused by the Dinoflagellate, *Cochlodinium (aka Margalefidinium) polykrikoides*. En: *Estuaries and Coasts*, 42(1), pp.190-203.
- Huang, J., Yang, Q., Ma, Z., Zhou, F., Yang, L., Deng, J. y Jiang, S., 2017. Effects of adding sucrose on *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) growth performance and water quality in a biofloc system. En: *Aquaculture Research*, 48(5), pp.2316-2327.
- Kaplan, E. L. y Meier, P., 1958. Nonparametric estimation from incomplete observations. En: *J. Amer. Statist. Assoc.*, 53(282), pp.457-481.
- Lepore, M., Penchaszadeh, P., Alfaya, J. y Herrmann, M., 2009. Aplicación de calceína para la estimación del crecimiento de la almeja amarilla *Mesodesma mactroides* Reeve, 1854. En: *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 44(3), pp.767-774.
- Lercari, D., Defeo, O. y Celentano, E., 2002. Consequences of a freshwater canal discharge on the benthic community and its habitat on an exposed sandy beach. En: *Marine Pollution Bulletin*, 44, pp.1397-1404.
- Mamat, N., 2010. *Nutrition and broodstock conditioning of the New Zealand Pipi, Paphies australis* [En línea]. Auckland: Auckland University of Technology. Disponible en: <https://openrepository.aut.ac.nz/bitstream/handle/10292/1029/MamatN.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Maneiro, P., 2014. *Patrones de distribución vertical y transversal de la almeja amarilla Mesodesma mactroides en una playa disipativa de Uruguay* [En línea]. Montevideo: UdelaR. (Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas). Disponible en: <https://www.colibri.udelar.edu.uy>
- Moliner, L., 2001. *Modelos de regresión de Cox para el tiempo de sobrevivencia*. Madrid: Sociedad Española de Hipertensión.
- Murphy, R., 1985. Factors affecting the distribution of the introduced bivalve, *Mercenaria mercenaria*, in a California lagoon - The importance of bioturbation. En: *Journal of Marine Research*, 43, pp.673-692.
- Newell, R., 2004. Ecosystem influences of natural and cultivated populations of suspension-feeding bivalve molluscs: a review. En: *Journal of Shellfish Research*, 23(1), pp.51-61.
- National Shellfish Sanitation Program (NSSP), 2009. *Guide for the control of molluscan shellfish*. Maryland: Food and Drug Administration.
- Ortega, L., Castilla, J.C., Espino, M., Yamashiro, C. y Defeo, O., 2012. Effects of fishing, market price, and climate on two South American clam species. En: *Marine Ecology Progress Series*, 469, pp.71-85.

- R Development Core Team, 2008. *R: A language and environment for statistical computing*. Viena: R Foundation for Statistical Computing. ISBN 3-900051-07-0.
- Ray A., Venero J., Browdy C. y Leffler J., 2010. *Simple settling chambers aid solids management in biofloc system*. New Hampshire: Global Aquaculture Alliance.
- Reddy, N. y Menon, N., 1979. Effects of ammonia and ammonium on tolerance and byssogenesis in *Pernaviridis*. En: *Marine Ecology-Progress Series*, 1, pp.315-321.
- Richards, G., McLeod, C. y Le Guyader, F., 2010. Processing strategies to inactivate enteric viruses in shellfish. En: *Food and Environmental Virology*, 2(3), pp.183-193.
- Riley, L., Baker, S. y Philips, E., 2010. Self-adhesive wire markers for bivalve tag and recapture studies. En: *American Malacological Bulletin*, 28(2), pp.183-184.
- Sauco, S., Gómez, J., Barboza, F., Lercari, D. y Defeo, O., 2013. Modified whole effluent toxicity test to assess and decouple wastewater effects from environmental gradients [En línea]. En: *PLOS ONE*, 8(6). Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0066285>
- Schweitzer, R., Arantes, R., Costódio, P., do Espírito Santo, C., Arana, L., Seiffert, W. y Andreatta, E., 2013. Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. En: *Aquacultural Engineering*, 56, pp.59-70.
- Steele-Petrovic, H., 1975. An explanation for the tolerance of brachiopods and relative intolerance of filter-feeding bivalves for soft muddy bottoms. En: *Journal of Paleontology*, 49(3), pp.552-556.
- Todoí, J., 2014. *Propuesta de un sistema de marcaje para el estudio del crecimiento de tellina (Donax trunculus) en el área de explotación de la Cofradía de Gandia*. Gandia: Universidad Politécnica de Valencia. Escuela Politécnica Superior de Gandia.
- Zischke, J. y Arthur, J., 1987. Effects of elevated ammonia levels on the fingernail clam, *Musculium transversum*, in outdoor experimental streams. En: *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 16(2), pp.225-231.

# Desarrollo y optimización de una metodología para la determinación de metales y semimetales en cabello

Development and optimization of a methodology to determinate metals and semimetals in hair

RECIBIDO: 8/4/2019 → APROBADO: 20/5/2019 ✉ fiaquinta@fq.edu.uy

✉ IAQUINTA, FIORELLA (1); ÁLVAREZ, CRISTINA (2); COUSILLAS, ADRIANA (2); MAÑAY, NELLY (2)

(1) ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA, DEPARTAMENTO ESTRELLA CAMPOS, FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY

(2) CEQUIMTOX, ÁREA TOXICOLOGÍA, DEPARTAMENTO ESTRELLA CAMPOS, FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY

---

## RESUMEN

La determinación de niveles de elementos traza en cabello como alternativa a otras matrices biológicas está siendo ampliamente utilizada en programas de biomonitorio como biomarcadores de exposición crónica a contaminantes ambientales y para evaluar patologías asociadas al exceso o carencia de determinadas sustancias. El cabello es una matriz compleja para análisis de trazas que presenta importantes desafíos analíticos y preanalíticos. Se presenta el desarrollo y validación de una metodología para la determinación de mercurio (Hg), plomo (Pb), arsénico (As) y manganeso (Mn) por espectrometría de absorción atómica. La digestión de la muestra se realizó mediante digestión asistida por microondas. El mercurio se determinó utilizando vapor frío (CV-AAS) y la generación de hidruros (HG-AAS) fue utilizada para el caso del arsénico. Las determinaciones de manganeso y plomo se realizaron por atomización electrotérmica (ET-AAS). Los parámetros de desempeño evaluados fueron rango lineal, límites de cuantificación y detección, precisión a tres niveles y veracidad. Este último fue evaluado utilizando un material de referencia certificado de cabello n°13 Human Hair, del Instituto Nacional de Estudios Ambientales (NIES) de Japón. La validación de esta metodología es de gran utilidad para el estudio de la exposición a estos analitos, dada la simplicidad de la obtención de la muestra.

**PALABRAS CLAVE:** Pelo, metales, semimetales, toxicología, espectrometría.

## ABSTRACT

Hair is an alternative biological matrix widely used in biomonitoring programs. It is used as a biomarker of chronic exposure to environmental contaminants and to evaluate pathologies related to the excess or shortage of certain substances. Hair is a complex matrix for the evaluation of toxics in low levels. This matrix is an analytic and pre-analytic challenge. In this work, the development and validation of a methodology for the determination of mercury (Hg), lead (Pb), arsenic (As) and manganese (Mn) by atomic absorption spectrometry is presented. The sample treatment was carried out by microwave assisted digestion. The determination of Hg was carried out using cold vapor (CV-AAS) and hydride generation (HG-AAS) was used for As. Mn and Pb were analyzed by electrothermal atomization (ET-AAS). The figures of merit evaluated were linear range, limits of quantification and detection, accuracy at three levels and veracity. The latter was evaluated using a hair reference material (No. 13 Human Hair, from the National Institute of Environmental Studies-NIES, Japan). The validation of this methodology is very useful for the study of exposure to these analytes, because of the simplicity of sample obtention.

**KEYWORDS:** Hair, metals, semimetals, toxicology, spectrometry.

## INTRODUCCIÓN

A lo largo de la evolución, los organismos han incorporado elementos inorgánicos en sus sistemas biológicos. Dado que muchos de esos sistemas dependen de la presencia de estos elementos, se han considerado esenciales para el desarrollo de la vida. Un elemento es esencial cuando su ausencia o defecto causa problemas para el desarrollo del organismo, pero es capaz de revertirlos cuando se lo vuelve a incorporar en la dieta. La presencia de estos elementos debe ser equilibrada, ya que su exceso puede ser tóxico para la salud (Casarett, 2005).

El arsénico (As), el plomo (Pb) y el mercurio (Hg) son los tres primeros elementos de la lista prioritaria de sustancias peligrosas debido a su frecuencia, toxicidad y potencial de exposición humana en sitios contaminados (ATSDR, 2017). Estos elementos se consideran tóxicos sistémicos que inducen múltiples lesiones de órganos y varias enfermedades, que van desde problemas neurológicos a pigmentaciones o irritaciones en la piel, incluso a niveles bajos de exposición.

En el caso del As, hay varios estudios que correlacionan la exposición inorgánica del As con el desarrollo de cáncer de pulmón y de piel (Mañay, 2013), lo que ha llevado a que la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (IARC) lo clasifique como cancerígeno para el hombre (IARC, 2018).

La toxicidad del plomo está ampliamente estudiada. Entre los efectos más característicos se encuentran la alteración de la síntesis del grupo hemo, que provoca la inhibición de la formación de hemoglobina, y problemas neurológicos. En el caso de los niños es una problemática de interés ya que provoca un comportamiento alterado, retraso mental, hiperactividad y sordera, entre otros trastornos. Estos efectos son

debidos a que el plomo cruza la barrera hematoencefálica más fácilmente en niños que en adultos (Casarett, 2005).

La exposición al Hg puede causar insuficiencia renal y pulmonar, e incluso la muerte. En su forma metilada es un agente teratogénico, ya que es capaz de cruzar la barrera placentaria, causando malformaciones en el feto (Colangelo, 2013). Otros estudios que correlacionan la exposición al metal demuestran sus propiedades de mutagénesis. Algunos trabajos correlacionan la exposición al metal con aberraciones cromosómicas (Azevedo, et al., 2003).

Otros oligoelementos metálicos como el Mn son nutrientes esenciales requeridos para diversas funciones bioquímicas y fisiológicas en dosis adecuadas. Sin embargo, altas concentraciones de Mn pueden causar problemas neurológicos (Menezes-Filho, et al., 2009). La intoxicación por este metal puede afectar las funciones motoras, causando un síndrome similar al Parkinson (Tokar, 2013).

La concentración de estos elementos en cabello es útil como biomarcador de exposición en programas de biomonitoreo como *screening*, o mapeo de riesgos para la salud de la población (WHO, 2015). El cabello se puede utilizar como una muestra muy conveniente para la evaluación de la exposición crónica, lo que muestra su gran potencial como herramienta clínica de evaluación de exposición histórica a ciertas sustancias a lo largo del tiempo (ATSDR, 2001). Otro de los beneficios del uso de esta matriz es la sencillez de su obtención, ya que no es una muestra invasiva como la sangre. Varios estudios se han realizado con esta matriz, principalmente para evaluación a la exposición ambiental (Tirado, et al., 2015; Liang, et al., 2017), pero también en estudios entre niños con autismo y sus madres (Adams, 2006).

Desde el punto de vista analítico, al ser una matriz compleja presenta un gran desafío preanalítico, porque se debe asegurar que los resultados obtenidos corresponden exclusivamente a la excreción del organismo y no a la exposición exógena. Para ello es necesario establecer un riguroso protocolo de toma y lavado de la muestra.

A los efectos de contar con niveles de referencia de estos metales/metaloides, el máximo nivel de As en el pelo es  $1 \mu\text{g g}^{-1}$  según la Agencia para las sustancias tóxicas y registro de enfermedades (ATSDR; ATSDR, 2007). Sin embargo, los niveles de Pb en cabello de referencia no están bien definidos porque cambian según la región de estudio. En Latinoamérica, algunos trabajos realizados en Venezuela y Chile consignaron niveles entre  $5,28$  y  $7,70 \mu\text{g g}^{-1}$  (Marcano, et al., 2009; Valdebenito, 2008). En el caso del Hg, las Naciones Unidas sugieren niveles  $1$  a  $2 \mu\text{g g}^{-1}$  para las personas que no han consumido pescado recientemente, mientras que valores de  $10 \mu\text{g g}^{-1}$  pueden esperarse en personas que sí lo hicieron (Naciones Unidas, 2010).

En este trabajo se presenta el desarrollo, optimización y validación de una metodología para la determinación de As, Pb, Mn y Hg. La metodología requiere también la elaboración de un protocolo de muestreo y de preparación de muestras, que en este caso será asistida por microondas. Como se ha mencionado, esta matriz es ampliamente utilizada en programas de biomonitoreo, por lo cual su validación es de gran utilidad para evaluar los niveles de exposición poblacional.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Reactivos

Las disoluciones se prepararon a partir de una disolución *stock* de 1000 mg L<sup>-1</sup> de cada analito Merck. Se utilizó ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) ppa. Merck para las curvas de calibración y para digestión de la muestra en diluciones de 0,028 mol L<sup>-1</sup> (0,2% v/v) y 10,5 mol L<sup>-1</sup> (25% v/v), con agua tipo 2.

El modificador usado es fosfato de amonio monobásico (NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), Carlos Erba. Para HG-AAS y CV-AAS, se utilizó borohidruro de sodio (NaBH<sub>4</sub>) Aldrich, hidróxido de sodio (NaOH) pa. Panreac y ácido clorhídrico (HCl) pa. J. T. Baker. Para la reducción del As también se usó ioduro de sodio (NaI) Dolder.

### Muestra

Para el desarrollo de la metodología se utilizó cabello donado por adultos sanos, no expuestos ocupacionalmente. Para evaluar algunas cifras de mérito se usó un material de referencia certificado, número 13 de cabello humano, del Instituto Nacional de Estudios Ambientales (NIES) de Japón.

### Parámetros analíticos y equipos

La validación se realizó en el Centro Especializado de Química Toxicológica (CEQUIMTOX). La determinación de los elementos se hizo por espectrometría de absorción atómica. La determinación de Hg y As se llevó a cabo utilizando un equipo de espectrometría de absorción atómica Varian 55B, con un sistema de flujo de generación de vapor VGA 77 Agilent para cada elemento. La determinación de Hg se realizó por CV-AAS, y la de As por HG-AAS. Para la determinación se trabajó a 253,6 nm y a 193,7 nm, respectivamente.

Mn y Pb fueron analizados mediante ET-AAS utilizando un equipo de espectrometría de absorción atómica Thermo iCE serie 3000, con automuestreador y corrección de fondo Zeeman. La determinación se realizó en las líneas 283,3 nm y 279,5 nm, respectivamente.

### Limpieza y digestión de las muestras

La limpieza de las muestras fue adaptada de Menezes et al. (2009). Se tomó una muestra de pelo de la nuca, de aproximadamente 0,5 cm de diámetro, y se cortó lo más próximo posible al cuero cabelludo con una tijera quirúrgica de acero inoxidable. Se tomó el centímetro de pelo del extremo del cuero cabelludo y se lo colocó en baño de ultrasonido durante 20 minutos con TritonX-100 al 1% m/v. La muestra se enjuagó con agua desionizada hasta que desapareciera la espuma. Luego se colocó nuevamente en un baño de ultrasonido durante 10 minutos con HNO<sub>3</sub> 1N y se enjuagó al menos tres veces con agua desionizada. A continuación se colocó

en una estufa a 80 °C durante 24 horas y posteriormente se almacenó en una bolsa plástica hasta su digestión.

Para la digestión de las muestras se evaluó el contenido de HNO<sub>3</sub> necesario para obtener una solución límpida y sin suspensiones. Se utilizaron diferentes concentraciones de HNO<sub>3</sub> (100% v/v, 50% v/v y 25% v/v). Finalmente, la digestión se realizó con 25 mg de pelo y 10 mL de HNO<sub>3</sub> 25% v/v, utilizando el método de digestión diseñado para cabellos incluido en el equipo de horno microonda Mars 6, CEM. El programa de temperaturas se presenta en la Tabla 1.

**TABLA 1.** Temperaturas del programa Hair.

Etapa	Tiempo (minutos)	Temperatura (°C)
Rampa de calentamiento	15	Hasta 180
Mantenimiento	15	180
Enfriamiento	15	40-50

## Parámetros de desempeño

Debido a los niveles admitidos para los diferentes analitos se evaluó un rango lineal de 0 a 12,5 µg L<sup>-1</sup> para cada elemento. Se realizaron fortificaciones antes de las digestiones para evaluar la veracidad, además del uso del material de referencia certificado. El modelo de mejor ajuste se evaluó mediante inspección visual, coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) y la prueba *lack of fitness* (LOF). El efecto matriz fue evaluado con el material de referencia certificado para Pb, Hg y Mn (n=8). Dada la baja concentración del As en material de referencia, que no puede ser detectada por estas técnicas (EAA), la veracidad se evaluó mediante una prueba t-Student.

Los límites de cuantificación (LOQ) y límites de detección (LOD) se calcularon con los blancos (n=10), utilizando el criterio 10s y 3s (Eurachem, 2014). La precisión como repetibilidad se evaluó en tres niveles de concentración (3, 6 y 9 µg L<sup>-1</sup>, n=10). La precisión intermedia se estudió para la variable tiempo comparando los valores medios. La veracidad se evaluó con un material de referencia certificado para el caso de Mn y Hg (n=8); para el As y Pb fue evaluada utilizando la recuperación en dos niveles diferentes de concentración (n=2), debido a la baja cantidad de As en el material, y al efecto matriz en Pb. La evaluación de la incertidumbre se realizó mediante el protocolo PLB05 del CEQUIMTOX, que establece que, en caso de contar con interlaboratorios, la incertidumbre (U) se calcula como el doble de la desviación estándar de la precisión intermedia.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Condiciones CV-AAS

Se probaron las condiciones de generación de vapor frío utilizadas habitualmente en el CEQUIMTOX para la determinación de Hg en orina. Como los resultados eran adecuados (estabilidad y altura máxima de la señal) se utilizaron las mismas condiciones: flujo: 6 mL min<sup>-1</sup>, HCl: 40% v/v, NaBH<sub>4</sub> 0,6% m/v en NaOH 0,5% m/v. Debido a la toxicidad de Hg es necesario preparar una trampa de Hg con permanganato de potasio para la captura del vapor de Hg.

### Condiciones HG-AAS

Al igual que con CV-AAS, tanto la reducción de la muestra como las condiciones para la generación del hidruro se evaluaron por primera vez mediante la realización del protocolo utilizado habitualmente para la determinación de As en orina. Como los resultados fueron adecuados (estabilidad y altura máxima de la señal), las condiciones se mantuvieron: flujo: 6 mL min<sup>-1</sup>, HCl 5N, NaBH<sub>4</sub> 0,6% m/v en NaOH 0,5% m/v. La reducción de As (V) a As (III) fue realizada agregando 1 mL de NaI 27% m/v y 1 mL de HCl conc. cada 10 mL de muestra.

### Optimización de ET-AAS

Las condiciones de ET-AAS se optimizaron para Mn y Pb. No se necesitó ningún modificador de matriz para Mn, pero en el caso de Pb se utilizó fosfato de amonio de 5 g L<sup>-1</sup>. Las temperaturas óptimas de pirólisis y atomización fueron 800/1900 °C, y 800/2200 °C para Mn y Pb, respectivamente. En las Tablas 2 y 3 se presentan los programas de temperatura utilizados.

**TABLA 2.** Programa de temperaturas mediante ET-AAS para la determinación de Mn.

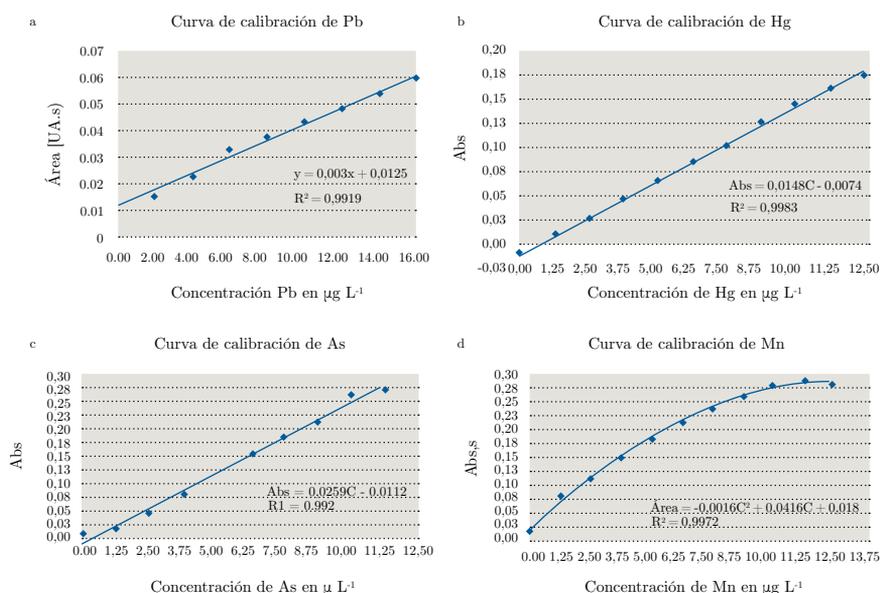
Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Rampa	Flujo de gas (L/min)	Etapas
100	30	10	0,2	Secado
800	20	150	0,2	Pirólisis
1900	3	0	Apagado	Atomización
2000	3	0	0,2	Limpieza

**TABLA 3.** Programa de temperaturas mediante ET-AAS para la determinación de Pb.

Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Rampa	Flujo de gas (L/min)	Etapa
95	10	4	0,2	Secado
100	20	4	0,2	
130	5	2	0,2	
450	30	84	0,2	
800	5	5	0,2	Pirólisis
2200	2	0	Apagado	Atomización
2300	1	170	0,2	Limpieza

### Rango de estudio

El rango de estudio fue de 0 a 12,5  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Debido a la falta de los valores límite del plomo en cabello se utilizaron como referencia los niveles encontrados en la región, de 6 a 8  $\mu\text{g g}^{-1}$ . En el caso de As, Hg y Mn se utilizaron los valores de referencia antes mencionados, que están incluidos dentro del rango de estudio. La Figura 1 a-d muestra el mejor modelo de ajuste para cada elemento. Pb, Hg y As tienen un comportamiento lineal, pero el Mn presenta un modelo del mejor ajuste cuadrático. La Tabla 4 presenta los resultados obtenidos luego de realizar el LOF; como los resultados obtenidos (U) son menores al F, los modelos de ajuste elegidos son correctos.



**Figura 1.** Curvas de calibración: a) Pb, b) Hg, c) As, d) Mn.

**TABLA 4.** Prueba de mejor ajuste (LOF).

	As	Pb	Hg	Mn
U	2,444	2,571	2,333	2,750
F, 0,95	3,049	3,160	3,049	3,049

### Efecto matriz

Con el fin de evaluar el efecto matriz del As, se realizó una prueba t-Student comparando la curva de calibración en 0,2% v/v HNO<sub>3</sub> y la curva realizada con cabello y adiciones estándar a lo largo del rango lineal de estudio (n=3). Los resultados del test se presentan en la Tabla 5 e indican que no hay efecto matriz, por lo tanto, a efectos del análisis de rutina, la curva se realizará en esta disolución.

En el Pb se evaluó el efecto matriz utilizando el material de referencia certificado. El análisis se realizó en diferentes diluciones del material en HNO<sub>3</sub> 0,2% por duplicado, en curva de calibración de la misma disolución. Los resultados presentados en la Tabla 6 muestran que los valores de recuperación obtenidos para las distintas diluciones no se encuentran dentro del rango de aceptación estipulado (75-125% de recuperación), lo que evidencia el efecto matriz. Sin embargo, se realizó un estudio de coincidencia de matriz, *matrix match* (n = 7), utilizando el test de Chow, que indica que no hay diferencia alguna entre los diferentes cabellos, por lo que para realizar la curva de calibración se deberá utilizar cabello de población no expuesta (Tabla 7).

**TABLA 5.** Prueba *t* de dos colas para evaluar efecto matriz del As.

<i>t-estadístico</i>	<i>t-crítico</i>
1,13646784	2,77644511

Para Hg y Mn el efecto matriz también se evaluó utilizando el material de referencia certificado. Se hizo un duplicado de las diluciones y se interpoló en una curva de calibración en HNO<sub>3</sub> 0,2%, que se muestra en la Tabla 6, donde se pueden ver los porcentajes de recuperación de las diferentes diluciones, mostrando que no se evidencia efecto matriz.

### Límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ)

LOD y LOQ se calcularon siguiendo los criterios 3s y 10s, según la guía Eurachem (Eurachem, 2014), donde s es la desviación estándar de 10 medidas de blanco. La Tabla 8 presenta los resultados obtenidos. Los límites de As, Pb y Hg son adecuados para el uso de esta metodología de *screening*. Sin embargo, para el caso del Mn, el límite de cuantificación obtenido está por encima del valor con el que se ha encontrado la aparición de efectos adversos de 3 µg g<sup>-1</sup> de pelo en niños de Montreal (Menezes-Filho, et al., 2009). De todas formas, por ser la primera metodología

desarrollada para la determinación de este metal en cabello del país, se utilizará como *screening* mientras se trabaja para disminuirlo.

**TABLA 6.** Evaluación del efecto matriz.

	Mn		Pb		Hg	
	NIES 1	NIES 2	NIES 1	NIES 2	NIES 1	NIES 2
Dilución	% REC	% REC	% REC	% REC	% REC	% REC
1 / 20	87,80	96,15	-587,99	-471,50	50,72	93,84
1 / 15	131,71	115,38	17,26	43,63	86,81	99,40
1 / 10	97,56	105,77	45,27	57,22	95,04	108,83
1 / 9	96,59	108,17	24,54	50,32	112,01	118,84
1 / 8	109,27	115,38	44,60	63,03	113,19	121,11
1 / 7	105,85	111,06	43,82	66,82	116,38	122,23
1 / 6	105,37	98,08	38,91	60,82	122,05	121,79
1 / 5	100,00	105,77	23,85	50,08	129,58	116,97
1 / 4	101,46	100,00	47,59	66,47	126,58	118,85
1 / 3	93,66	100,96	49,28	68,99	131,63	106,94
1 / 2	81,95	78,85	45,70	59,47	132,66	95,03

**TABLA 7.** Estadístico de Chow para evaluar efecto matriz del Pb.

F	F <sub>crit</sub>
1,08E - 15	2,8

### Precisión

La precisión como repetibilidad se determinó a tres niveles (3, 6, 9  $\mu\text{g L}^{-1}$ , n=10) para As y Hg. Para Mn y Pb, se determinó a dos niveles (6, 9, n=10 para Mn y n=7 para Pb), debido a que el LOQ era superior a 3  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Se evaluó utilizando el coeficiente de variación (CV%) y los resultados que se muestran en Tabla 8 son adecuados para la metodología.

En el caso de la precisión intermedia, se realizó un test de comparación de valores medios.

### Veracidad

Para Mn y Hg, la veracidad se estimó utilizando el material de referencia NIES (n=8), como se muestra en la Tabla 8. La recuperación fue del 105,6% y 108,1%,

respectivamente. En el caso del As, este parámetro se estimó usando muestras de cabello fortificadas (n=4) a 3 y 6 µg L<sup>-1</sup>. La recuperación en este caso fue de 106,5%. Debido al efecto de matriz en las curvas de calibración de Pb, no fue posible determinar la veracidad utilizando el material de referencia. La recuperación se estimó utilizando muestras fortificadas (n=4) a diferentes niveles, 6,25 y 12,50 µg L<sup>-1</sup>. La recuperación obtenida para este analito fue del 91,9%.

## Incertidumbre

Se evaluó en la metodología para tres niveles de concentración distintos, los mismos que fueron utilizados para precisión: 3, 6 y 9 µg L<sup>-1</sup>. Los resultados se encuentran en la Tabla 8.

**TABLA 8.** Parámetros de desempeño.

Elemento	As	Pb	Hg	Mn
LOD (µg g <sup>-1</sup> )	0,121	0,961	0,249	1,319
LOQ (µg g <sup>-1</sup> )	0,403	3,204	0,830	3,860
Precisión (CV%, n=10) (3 µg g <sup>-1</sup> )	6,6	-	6,4	-
Precisión (CV%, n=10) (6 µg g <sup>-1</sup> )	7,0	10,9 (n = 7)	7,8	4,9
Precisión (CV%, n=10) (9 µg g <sup>-1</sup> )	5,5	6,4 (n = 7)	5,1	4,06
Veracidad (% recuperación)	106,5*	94,9**	108,1**	105,6*
Incertidumbre (µg L <sup>-1</sup> ) (3, 6, 9 µg L <sup>-1</sup> )	0,4	-	0,3	-
	0,7	2,3	3,7	0,59
	1,3	2,6	0,9	0,85

\* Material de referencia certificado Human Hair NIES; \*\* fortificaciones

## CONCLUSIONES

Desde el punto de vista analítico, se logró desarrollar y validar un método de digestión y de determinación de cuatro elementos en una sola etapa de preparación de la muestra. Esto hace que se pueda contar con una herramienta analítica para estudios poblacionales en Uruguay.

Los elementos determinados en este estudio en la matriz cabello son ampliamente utilizados a nivel internacional como biomarcadores de exposición crónica, por lo cual se debe seguir avanzando e intentar mejorar los límites de detección y cuantificación, principalmente para el Pb y Mn en relación a los valores de referencia.

Se plantea como próximo desafío realizar un estudio preliminar en la población local para establecer los valores basales de estos elementos en cabello, propios de la población uruguaya.

## REFERENCIAS

- Adams, L.B., Holloway, C.E., George, F. y Quig, D., 2006. Analyses of toxic metals and essential minerals in the hair of arizona children with autism and associated conditions, and their mothers. En: *Biological Trace Element Research*, 110(3), pp.193-209.
- ATSDR, 2007. *Toxicological profile for arsenic* [En línea]. Atlanta: ATSDR. [Consulta: 17 de noviembre, 2017]. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp2.pdf>
- ATSDR, 2017. *CERCLA Priority list of hazardous substances* [En línea]. Atlanta: ATSDR. [Consulta: 12 de marzo, 2019]. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/previous/07list.html>
- ATSDR, 2001. *Summary report hair analysis panel discussion exploring the state of the science* [En línea]. Atlanta: ATSDR. [Consulta: 5 de noviembre, 2017]. Disponible en: <https://www.ATSDR.cdc.gov/>
- Azevedo, F.A., de Souza Nascimento, E. y de MattaChasin, A. A., 2003. Mercurio. En: *Metals gerenciamento da toxicidade*. [s.l.]: Atheneu.
- Casarett, L.J. y Doull, J., 2005. *Fundamentos de toxicología*. Santiago de Compostela: Mc Graw-Hill/ Interamericana.
- Colangelo, C. H., 2013. Mercurio. En: Rojas Martínez, Maritza, coord. *Toxicología ambiental y ocupacional*. Bogotá: Universidad del Rosario. pp. 237-256
- Eurachem, 2014. *The fitness for purpose of analytical methods. A laboratory guide to method validation and related topics* [En línea]. 2a ed. Torino: Eurachem. [Consulta: 15 de diciembre, 2017]. Disponible en: <https://eurachem.org/index.php/publications/guides/mv>
- IARC, 2018. *List of classification, volume 1-123* [En línea]. Lyon: IARC. [Consulta: 3 de marzo, 2018] Disponible en: <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications-volumes/>
- Liang, G., Pan, L. y Liu, X., 2017. Assessment of typical heavy metals in human hair of different age groups and foodstuffs in Beijing, China. En: *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(914), pp.1-10.
- Mañay, N., 2013. Arsénico y cadmio. En: Rojas Martínez, Maritza coord. *Toxicología ambiental y ocupacional*. Bogotá: Universidad del Rosario. pp. 257-276
- Marcano, E., Labady, M., Gomes, C., Aguiar, G. y Laine, J., 2009. Altos niveles de mercurio y plomo detectados por análisis de cabello en dos ambientes venezolanos. En: *Acta Amazonica*, 39(2), pp.315-318.
- Menezes-Filho, J.A., Paes, C.R., de Pontes, A., Moreira J.C., Sarcinelli, P.N. y Mergler, D., 2009. High levels of hair manganese in children living in the vicinity of a ferro-manganese alloy production plant. En: *Neurotoxicology*, 30(6), pp.1207-1213.
- Naciones Unidas, 2010. *Informe relativo a la información sobre los sistemas armonizados para medir la carga corporal de mercurio* [En línea]. Estocolmo: UNEP. [Consulta: 25 de marzo, 2018]. Disponible en: [http://www.mercuryconvention.org/Portals/11/documents/meetings/inc2/spanish/INC2\\_6\\_s.doc](http://www.mercuryconvention.org/Portals/11/documents/meetings/inc2/spanish/INC2_6_s.doc)

- Tirado Amador, L.R., González- Martínez, F.D., Martínez Hernández, L.J., Wilches Vergara, L. A. y Celedón-Suárez, J.N., 2015. Niveles de metales pesados en muestras biológicas y su importancia en salud. En: *Rev. Nac. de Odont.*, 11(21), pp.1-30.
- Tokar, E.J., Boyd, W.A., Freedman, J.H. y Waalkes, M.P., 2013. Toxic effects of metals. En: *Toxicology. The basic science of poisons*. 8va ed. Santiago de Compostela: Mc Graw-Hill.
- Valdebenito, G. A., 2008. *Desarrollo de un método para la determinación directa de Pb mediante espectrometría de absorción atómica electrotrémica (ETAAS) en suspensiones de pelo y uña («slurries») como biomarcadores de exposición* [En línea]. [s.l.]: Universidad de Chile. (Tesis de pregrado). [Consulta: 11 de noviembre, 2017]. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/105699>
- WHO, 2015. *Human biomonitoring: facts and figures*. CopenhagEn: WHO Regional Office for Europe.