



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Ecología, Genética y Evolución

**Implicancias de las variables físicas y químicas sobre el
balance oxidativo del bivalvo invasor *Corbicula fluminea* y
su colonización en el Delta Bonaerense**

Tesis presentada para optar al título de Doctora de la Universidad de
Buenos Aires, área de Ciencias Biológicas

Lic. Tatiana Noya Abad

Director de Tesis: Dr. Sebastián E. Sabatini.

Co-director de Tesis: Dr. Javier A. Calcagno.

Consejera de estudio: Dra. Haydée Pizarro.

Lugar de trabajo: Laboratorio de Enzimología, Estrés Oxidativo y Metabolismo (LEEM), Departamento de Química Biológica, Instituto de Química Biológica (IQUIBICEN) de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEyN), Universidad de Buenos Aires (UBA), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Bs. As., Arg; y Centro de Ciencias Naturales, Ambientales y Antropológicas (CCNAA), Universidad Maimonides, Bs. As., Arg.

Fecha de presentación: Buenos Aires, 14/07/2023.

“La ciencia no es cara, cara es la ignorancia” Bernardo Houssay.

“La concientización debe originarse en las personas de ciencia, pero solo puede transformarse en la acción necesaria a través de los dirigentes políticos” Juan Domingo Perón.

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis fue realizada con beca doctoral cofinanciada por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), y Universidad Maimónides - Centro de Ciencias Naturales, Ambientales y Antropológicas (CCNAA), Centro de Estudios Biomédicos Básicos, Aplicados y Desarrollo (CEBBAD).

Agradezco a todas aquellas personas que de una forma u otra fueron parte de este proyecto y por ende, también de mi vida. Hasta el texto de agradecimiento más largo quedaría corto para expresarles mi gratitud, pero no quiero dejar de nombrar a los pilares de estos años:

- Al Departamento de Química Biológica (QB) de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEyN) por permitirme el uso de las instalaciones y equipamiento. Lugar donde me siento como en casa.

- Al Departamento de Evolución, Genética y Ecología (EGE) de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEyN) por aceptarme para realizar el doctorado, con un gran cariño y agradecimiento especial a Gra, por su buena predisposición y acompañamiento en todo lo que involucre presentación de papeles.

- A Javi Calcagno, mi papá de la ciencia, por aceptarme como su becario, proponer a Seba como el otro director, comprender ciertas elecciones, por sus observaciones, cada corrección, cada uno de sus aportes, consejos y críticas que ayudaron a que esta tesis resultara en lo que es. Además de llevarme a la FCEyN-UBA y abrirme otra puerta.

- A Seba Sabatini, mi mamá de la ciencia, con todo lo que implica ese título, ese rol y su significado. Gracias por aceptarme del día uno, por enseñarme cada cosa que aprendí en estos años, por prepararme para los que vienen, por escucharme, aconsejarme, cuidarme, preocuparte y ocuparte. Gracias por querer siempre lo mejor para mi, por querer que crezca y darme siempre las oportunidades para que así sea. Gracias por conocerme y reconocer mis días buenos como también los malos, teniéndome paciencia; por enseñarme gran parte de las cuestiones que se de la ciencia y muchas otras sobre la vida. Gracias por ser el mejor jefe/director y sobretodo una gran persona. Te elegiría una y otra vez como mi director. Agradezco que las cuestiones de la vida te hayan puesto en mi camino.

- Al Pela (Martín Fea) por cada mate y almuerzo, por el acompañamiento de cada día, haciendo de todos los días una día más ameno y divertido, logrando que el día sea distinto solo con su presencia, por su gran amistad, por estar siempre que lo necesito y cuando no también. Gracias

por los cientos de eppendorfs agujereados y cada encendedor conseguido para poder determinar daño oxidativo a lípidos sin que me corte los dedos o me queme jaja.

- A Marisol Yusseppone, la Negra, gracias por estar siempre predispuesta a enseñarme distintas determinaciones con cada detalle, punta a puesta y cada secretito, por hacerme parte de sus proyectos y estar buscando la forma de que podamos seguir colaborando. Vamos por más mediciones en equipo llenas de música y baile, con buena vibra.

- A Juli Peluso por enseñarme a medir los parámetros físicos y químicos en agua, por medirlos juntas en equipo para cada uno de los muestreos, por la ayuda brindada, por sus valiosos aportes, por el gran compañerismo, por el ida y vuelta que tenemos, por hacerme sentir en su lugar de trabajo como si también fuera el mío, por estar siempre para cualquier necesidad e intercambio para la tesis y/o trabajo científico, suma de experiencia en general, y hasta más de una vez para cuestiones de la vida.

- A cada integrante del labo QB 78, el labo de cada día, un hogar. A Henri, Maga, Gabi, Daissy, María del Carmen, Renata, por el acompañamiento de cada día, por escuchar, por la preocupación, por festejar mis logros, delegar y confiar en mi trabajo.

- A Roxi, Noe, Pauli, Sofi, Juli, Nadia, mis amigas de la vida y que me ha dado la facu, siempre presentes, aportando de una forma u otra en cada uno de mis logros, como también obstáculos y pasos de la vida. Gracias por estar siempre a pesar de la distancia y mantener nuestra amistad como si nos viéramos todos los días.

- A mi familia política por su cariño, acompañamiento, interesarse en mi trabajo y estar orgullosos de tener una bióloga en la familia.

- A mi papá por tratar cada día de entender un poco más lo que hago, a que me dedico, preguntando, interesándose y estando orgulloso simplemente por encontrar trabajos míos publicados en internet.

- A mi mamá, por sentar las bases firmes de lo que soy hoy, por su apoyo y aliento incondicional, por siempre pensar que puedo y estoy para más, por haber hecho posible que esté acá y por ende que haya llegado a establecer toda una vida lejos de mis pagos. Gracias por formarme como persona e incentivarme a que con trabajo duro, dedicación y pasión se puede lograr lo que uno se proponga. Gracias a mi abuelo y abuela por ser un gran pilar de toda esta enseñanza. A mi tío Arcio por contribuir con gran aporte en la formación de mis bases.

- A mis hermanos y hermanas, por ser la gran motivación de mi vida, por empujarme a ser siempre mejor en todos los aspectos de la vida, para ser como hermana mayor, un buen ejemplo

para ellos, estando presente, ayudándolos en todo lo que me sea posible y más. Gracias por su amor desmedido, por siempre estar esperando mi visita a Roca y al ir creciendo venir cada vez más a casa. Gracias a Ben y Euge por su gran acompañamiento, la unión que hemos construido, las charlas, la gran hermandad, el vínculo que hemos logrado. A Ben por confiar en mi y querer compartir conmigo su próxima etapa. A Euge por darme una sobrina hermosa.

- A Lucas, por ser el gran compañero de mamá, el mejor padrastro que se puede tener, por estar siempre para lo que sea necesario, cuidarnos, preocuparse, ocuparse, siempre estar bien predisposto para nosotros. Muchas gracias, por trabajar y fomentar el vínculo de hermanos con Fausti a pesar de la distancia.

- A Walter, mi marido, mi gran compañero y amor de mi vida. Gracias por ser parte clave de cada muestreo, por formar parte de este proyecto, por siempre alentarme a más y estar seguro de que puedo lograr lo que me proponga. Cuantas cosas hemos vivido durante estos años de doctorado, tantas vivencias hermosas y algunas dolorosas, que nos han construido como pareja y nos hacen parte de los que somos hoy. El doctorado trasciende años importantes en nuestras vidas. Gracias por transitar todo este camino juntos y trabajar tu paciencia para hacerlo jeje.

- A Pupi, nuestra perra-hija, que me acompaña desde el primer año viviendo en Buenos Aires, pasando toda la licenciatura y doctorado. Gracias a su amor incondicional y su carácter tan particular, evitando que me vuelva en los primeros años y haciendo que sociabilice. Una relación que pocos saben entender, tan profunda como pocas. Gracias a ella conocí a Gra y Fabio, grandes amigos y padres adoptivos que siempre están. Son 13 años juntas, viviendo tanto y conociendo a nuestro gran amor humano-papa y marido jeje. Vamos Pipi, nos queda la postdoc.

- A todas las personas que no he citado y que de alguna u otra forma han contribuido en esta tesis colaborando con su trabajo o brindado su cariño día a día, como en el caso de Fran, Miriam, Carlos y Nati.

Índice de contenido

RESUMEN	10
ABSTRACT	13
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	16
DELTA BONAERENSE	16
BIVALVOS.....	18
<i>Corbicula fluminea</i>	20
<i>Diplodon delodontus</i>	22
BIOMARCADORES.....	24
ANTECEDENTES EN EL ÁREA DE ESTUDIO	26
OBJETIVO GENERAL, OBJETIVOS E HIPÓTESIS ESPECÍFICAS.....	28
METODOLOGÍA	30
ÁREA DE ESTUDIO	30
DISEÑO EXPERIMENTAL	33
CAPÍTULO 1	37
CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DEL AGUA.....	37
INTRODUCCIÓN	38
OBJETIVOS E HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	41
METODOLOGÍA	41
Determinación de parámetros físicos y químicos	41
Análisis estadísticos.....	42
RESULTADOS	43
Determinación de parámetros físicos y químicos	43
DISCUSIÓN	55
CAPÍTULO 2	61
CUANTIFICACIÓN DE METALES Y PESTICIDAS EN AGUA Y ÓRGANO.....	61
INTRODUCCIÓN	62
OBJETIVOS E HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	64
METODOLOGÍA	64
Determinación de metales totales en agua y órgano	64
Determinación de pesticidas en agua	66
Determinación del índice de calidad de agua	67

Análisis estadísticos.....	68
RESULTADOS	69
Concentración de metales en agua	69
Concentración de pesticidas en agua.....	73
Índice de calidad del agua	74
Concentración de metales en glándula digestiva de <i>C. fluminea</i>	75
Concentración de metales en glándula digestiva de <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	80
DISCUSIÓN	80
CAPÍTULO 3	89
DETERMINACIÓN MORFOLÓGICA E HISTOLÓGICA	89
INTRODUCCIÓN	90
Branquias.....	91
Glándula digestiva	92
Manto	92
OBJETIVOS E HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	93
METODOLOGÍA.....	94
Cálculo de índices morfométricos.....	94
Evaluación histológica de la glándula digestiva en <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	94
Análisis histomorfométrico de la glándula digestiva en <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	95
Análisis estadísticos.....	96
RESULTADOS	97
Índices morfométricos de <i>C. fluminea</i>	97
Índices morfométricos de <i>D. delodontus</i>	101
Análisis morfométrico comparativo entre <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i> del río Paraná de las Palmas	101
Evaluación histológica de la glándula digestiva en <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	103
Análisis histomorfométrico de la glándula digestiva en <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	105
DISCUSIÓN.....	107
CAPÍTULO 4	109
DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS METABÓLICOS EN <i>C. fluminea</i> Y <i>D. delodontus</i>	109
INTRODUCCIÓN	110
OBJETIVOS E HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	114

METODOLOGÍA.....	114
Diseño Experimental	114
Preparación de homogenatos	115
Estatus energético.....	116
Parámetros metabólicos	117
Análisis estadísticos.....	120
CAPÍTULO 4 A.....	121
VARIACIÓN DE LOS PARÁMETROS METABÓLICOS DE <i>Corbicula fluminea</i> EN FUNCIÓN DE LOS SITIOS POR FECHA DE MUESTREO	121
RESULTADOS	121
Estatus energético en <i>C. fluminea</i>	121
Parámetros metabólicos en <i>C. fluminea</i>	123
DISCUSIÓN.....	130
CAPÍTULO 4 B.....	133
ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE <i>Corbicula fluminea</i> Y <i>Diplodon delodontus</i> EN EL RÍO PARANÁ DE LAS PALMAS	133
RESULTADOS	133
Estatus energético en <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	133
Parámetros metabólicos en <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	135
DISCUSIÓN.....	140
CONCLUSIONES GENERALES	144
RECOMENDACIONES A FUTURO	147
BIBLIOGRAFÍA.....	148

Índice de figuras

Figura 1. Delta del Paraná.....	17
Figura 2. <i>Corbicula fluminea</i>	20
Figura 3. <i>Diplodon delodontus</i>	23
Figura 4. Biomarcadores.	25
Figura 5. Área de estudio.	32
Figura 6. Sitios de muestreo.	33
Figura 7. Aclimatación en laboratorio.....	34
Figura 8. Armado, instalación y extracción de las jaulas.	36
Figura 9. ACP de parámetros físicos y químicos incluyendo todos los muestreos.	45
Figura 10. ACP de parámetros físicos y químicos en septiembre 2018.....	47

Figura 11. ACP de parámetros físicos y químicos en diciembre 2018..	48
Figura 12. ACP de parámetros físicos y químicos en marzo 2019.	49
Figura 13. ACP de parámetros físicos y químicos en junio 2019.	50
Figura 14. ACP de parámetros físicos y químicos en septiembre 2019.....	51
Figura 15. ACP de parámetros físicos y químicos en diciembre 2019.	52
Figura 16. ACP de parámetros físicos y químicos de todos los sitios.	54
Figura 17. ACP de metales en agua y en <i>C. fluminea</i>	79
Figura 18. ACP de metales en agua, <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	81
Figura 19. Esquema de un molusco bivalvo.....	93
Figura 20. Mediciones morfométricas	94
Figura 21. Índices morfométricos <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	102
Figura 22. Glándula digestiva de <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	104
Figura 23. Tipos de túbulos digestivos en <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	105
Figura 24. Metabolismo oxidativo.....	112
Figura 25. Reacción de la peroxidación lipídica.	119
Figura 26. Proteínas (mg/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	134
Figura 27. Glucógeno (mg de glucógeno/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	135
Figura 28. Catalasa (U CAT/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	136
Figura 29. Glutación-S-transferasa (U GST/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i> ..	137
Figura 30. Glutación reducido (nmoles GSH/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i> . 138	
Figura 31. Daño a lípidos (nmoles MDA/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i>	139
Figura 32. Integración de los resultados.....	146

Índice de tablas

Tabla 1. Características hidrológicas de los sitios.	31
Tabla 2. Parámetros físicos y químicos del agua superficial.	44
Tabla 3. Índice de Calidad del Agua.	68
Tabla 4. Clasificación del valor ICA.....	68
Tabla 5. Concentración de metales (mg de metal/L de agua) en agua superficial.	72
Tabla 6. Concentración de pesticidas (µg/L) en agua superficial.	74
Tabla 7. ICA y clasificación de los sitios por fecha de muestreo.....	75
Tabla 8. Metales (mg/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i> en diciembre 2018.....	76
Tabla 9. Metales (mg/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i> en marzo 2019.....	76
Tabla 10. Metales (mg/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i> en junio 2019.....	77
Tabla 11. Metales (mg/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i> en septiembre 2019..	78
Tabla 12. Metales (mg/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i> en diciembre 2019.....	78
Tabla 13. Metales (mg/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i> y <i>D. delodontus</i> en junio y septiembre 2019.....	80
Tabla 14. Morfometría de <i>C. fluminea</i>	98
Tabla 15. Índices morfométricos de <i>C. fluminea</i>	100
Tabla 16. Morfometría de <i>D. delodontus</i>	101
Tabla 17. Índices morfométricos de <i>D. delodontus</i> ..	101
Tabla 18. Proteínas (mg/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i> ..	122
Tabla 19. Glucógeno (mg/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i>	123
Tabla 20. Catalasa (U de CAT/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i>	125
Tabla 21. Glutación-S-transferasa (U de GST/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i>	126
Tabla 22. Glutación reducido (nmoles de GSH/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i>	128
Tabla 23. Daño a lípidos (nmoles de MDA/g de peso húmedo) en <i>C. fluminea</i>	129

RESUMEN

La tesis se conformó por tres ejes principales: 1) las variables físicas y químicas (incluyendo metales y pesticidas) de distintos cuerpos de agua de la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense, 2) dos especies de bivalvos (*Corbicula fluminea* y *Diplodon delodontus*) con mayor énfasis en *C. fluminea*, y 3) los biomarcadores. A lo largo de esta se profundizó en cada uno de ellos, desde lo macro a lo micro, parándonos en el ambiente para buscar respuestas que expliquen la dispersión de *C. fluminea* en detrimento de *D. delodontus*. Por ello, el objetivo general fue interpretar el efecto de los cambios en las distintas variables físicas y químicas del medio acuático sobre el metabolismo redox de *C. fluminea*, con el objeto de ser utilizadas para explicar la dispersión y colonización de esta especie invasora en detrimento de *D. delodontus* en la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense, mediante un enfoque multidisciplinario a través de experimentación a campo.

Se establecieron cinco sitios de muestreo con diferentes características hidrológicas, distinto tipo y grado de impacto antrópico: río Capitán, río Paraná de las Palmas, Río de la Plata, canal Arias y río Luján. Mediante varios muestreos piloto se confirmó la presencia de *C. fluminea* en todos los sitios. Sin embargo, su disposición espacial gregaria, enterramiento, la profundidad de los cuerpos de agua y falta de visibilidad bajo el agua, dificultó la recolección estacional directa del número de individuos necesarios para el cumplimiento de los objetivos planteados. Por esto, previo al inicio del experimento se extrajeron un total de 2160 ejemplares adultos de *C. fluminea* en el Río de la Plata. Estos fueron transportados al laboratorio, aclimatados y posteriormente repartidos en 360 jaulas experimentales, con un total de seis animales por unidad. Las jaulas fueron distribuidas de manera equitativa, 60 en cada uno de los cinco sitios de muestreo. En el Río de la Plata y Paraná de las Palmas, se incorporaron individuos de *D. delodontus* (18 jaulas con un individuo, en cada sitio), dado que es la especie nativa que comparte nicho ecológico con la invasora en estos dos cuerpos de agua. Durante 15 meses, se tomaron estacionalmente (cada tres meses) en cada sitio, muestras de agua para el análisis de parámetros físicos y químicos, además de cinco jaulas de *C. fluminea* para determinar la bioacumulación de metales y alteraciones histológicas en glándula digestiva, modificaciones morfométricas y parámetros metabólicos en tres de sus

órganos (branquias, glándula digestiva y manto). La especie nativa *D. delodontus* fue extraída tras 9 y 12 meses de exposición, en ella se realizaron las mismas determinaciones.

Los parámetros físicos y químicos, incluyendo las concentraciones de metales y pesticidas en el agua, se vieron afectados negativamente en asociación a la disminución del nivel hídrico, caudal, intensidad, fenómeno de sudestada y tipo de actividad antrópica en los distintos cuerpos de agua, observándose entre ellos un patrón espacial y temporal. Los valores más elevados de perturbación, según los parámetros físicos y químicos, fueron observados en el río Luján mientras que los más bajos en el río Capitán o Paraná de las Palmas según la estación del año. El Río de la Plata y canal Arias presentaron valores intermedios a ellos. Las concentraciones más altas de metales en agua resultaron en el río Paraná, canal Arias, Río de la Plata, seguido del Luján. Por su parte, la bioacumulación en glándula digestiva fue mayor en el Río de la Plata, canal Arias y río Luján. En cuanto a los pesticidas, salvo en el Río de la Plata y canal Arias, en los demás sitios se determinó la presencia de alguno de ellos en algún tiempo de muestreo. Azoxistrobin, malatión, glifosato y AMPA en el río Capitán, acetoclor y azoxistrobin en el Paraná, atrazina y deltametrin en el Luján.

Con respecto a la morfología e histología en órganos de *C. fluminea* y *D. delodontus*, se observaron alteraciones en los sitios asociados a altas concentraciones de contaminantes, evidenciadas a través del aumento en el peso de la glándula digestiva e índice hepatosomático en los individuos del río Luján. Por otra parte, los parámetros metabólicos para ambas especies también se vieron afectados en respuesta a las alteraciones ocurridas en su hábitat, siendo más evidente en *C. fluminea*, debido a la respuesta metabólica inmediata presentada por esta especie.

Los resultados obtenidos en el presente estudio contribuyen al conocimiento del estado ambiental reciente de la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense y sus efectos sobre las respuestas metabólicas en *C. fluminea* y *D. delodontus*. Las mayores diferencias espaciales y temporales de los parámetros físicos y químicos del agua (incluyendo metales y pesticidas) en los distintos sitios, están en relación directa con las características, régimen hidrológico del cuerpo de agua e intensidad diferencial y tipo de actividad antrópica que se

realizan en su curso o afluentes. Mientras que las repuestas morfológicas, histológicas y metabólicas de *C. fluminea*, sumado a las diferencias observadas entre las respuestas de esta especie y *D. delodontus* en el río Paraná de las Palmas, contribuyen a explicar los patrones actuales de distribución, abundancia y supervivencia de la especie invasora como también la plasticidad mostrada para dispersarse y colonizar nichos contaminados.

Palabras claves: Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense, *Corbicula fluminea*, *Diplodon delodontus*, estrés oxidativo, parámetros físicos y químicos, metales, pesticidas.

ABSTRACT

Implications of physical and chemical variables on the invasive bivalve *Corbicula fluminea* and their colonization in the Buenos Aires Delta.

The thesis consisted of three main axes: 1) the physical and chemical variables (including metals and pesticides) of different water bodies of the First Section of the Bonaerense Delta Islands, 2) two species of bivalve molluscs (*Corbicula fluminea* and *Diplodon delodontus*), with greater emphasis on *C. fluminea*, and 3) biomarkers. Throughout the study, each of it was studied in detail, from the macro to the micro, standing at the environment perspective to search for answers that explain the spread of *C. fluminea* to the detriment of *D. delodontus* in that region. Therefore, the general objective was to understand the effect of changes in the different physical and chemical variables of the aquatic environment on the redox metabolism of *C. fluminea* to explain the spread and colonization of this invasive species to the detriment of the native species *D. delodontus* in the First Section of the Bonaerense Delta Islands, using a multidisciplinary approach through field experiments.

Five sampling sites were established with different hydrological characteristics and different types and degrees of anthropogenic impact: Capitán River, Paraná de las Palmas River, Río de la Plata, Arias Canal and Luján River. Several pilot surveys confirmed the presence of *C. fluminea* in all sampling sites. However, its dense distribution, burial behavior, water depths and the lack of underwater visibility made it difficult to collect by hand the seasonal numbers of individuals required to meet the objectives established. Therefore, prior to the start of the experiment, a total of 2160 adult *C. fluminea* specimens were collected from the Río de la Plata. Individuals were transported to the laboratory, acclimatized and then distributed in 360 experimental cages, with a total of six animals per unit. Cages were evenly distributed, 60 in each of the five sampling sites. In the Río de la Plata and Paraná de las Palmas, individuals of *D. delodontus* were included (18 cages with one individual per site), as native species that shares an ecological niche with the invasive species in these two sampling sites. Finally, for 15 months, water samples were taken

seasonally (every three months) at each site for the analysis of physical and chemical parameters, in addition to five cages of *C. fluminea* to determine the bioaccumulation of metals and histological changes in the digestive gland, morphological changes in the digestive gland and the presence of the invasive species.

The physical and chemical parameters, including concentrations of metals and pesticides in the water were negatively affected in relation to the decrease in water level, flow, intensity, the “sudestada” phenomenon influence and the type of anthropic activities in the different water bodies, with a spatial and temporal pattern being observed between them. The highest values of disturbance, according to physical and chemical parameters, were observed in the Luján River, while the lowest values were observed in the Capitán or Paraná de las Palmas River, according to the year’s season. The Río de la Plata and the Arias Canal showed intermediate values. The highest metals concentrations in water were found in the Paraná River, Arias Canal, Río de la Plata, followed by the Luján River. Bioaccumulation in the digestive gland was higher in the Río de la Plata, Arias Canal and Luján River. Regarding pesticides, except for the Río de la Plata and the Arias Canal, the presence of some of them was detected at some sampling times in the other sampling sites. Azoxystrobin, malathion, glyphosate and AMPA in the Capitán river, acetochlor and azoxystrobin in the Paraná, atrazine and deltamethrin in the Luján river.

Respecting organ morphology and histology of *C. fluminea* and *D. delodontus*, alterations were observed at sites associated with high concentrations of pollutants, evidenced by an increase in digestive gland weight and hepatosomatic index in individuals from the Luján River. Furthermore, metabolic parameters for both species were also affected in response to the alterations occurred in their habitat, being more evident in *C. fluminea*, due to the immediate metabolic response presented by this species.

The results obtained in the present study contribute to the knowledge of the recent environmental status of the First Section of the Bonaerense Delta Islands and its effects on metabolic responses in *C. fluminea* and *D. delodontus*. The major spatial and temporal differences in the physical and chemical parameters of the water (including metals and pesticides) in the different sites are directly related to the characteristics, hydrological

regime of the water body and differential intensity and type of anthropogenic activities carried out in its main course or tributaries rivers. Whereas morphological, histological and metabolic responses of *C. fluminea*, along with the differences observed between the responses of this species and *D. delodontus* in the Paraná de las Palmas River, contribute to explain the current patterns of distribution, abundance and survival of the invasive species, as well as the plasticity shown for the distribution, abundance and survival of *D. delodontus* in the Paraná de las Palmas River.

Keywords: First Section at Islands of the Delta Bonaerense, *Corbicula fluminea*, *Diplodon delodontus*, oxidative stress, physical-chemical parameters, metals, pesticides.

INTRODUCCIÓN GENERAL

DELTA BONAERENSE

Los humedales son reservorios vitales de biodiversidad y constituyen el hábitat de numerosas especies. Algunos de ellos están entre los ecosistemas más productivos del planeta y brindan importantes beneficios económicos y sociales, llamados “bienes y servicios ecosistémicos”. Entre los que se encuentran la estabilización de la línea de costa, reducción de la capacidad erosiva del agua, disminución del impacto de las inundaciones en áreas vecinas, el mejoramiento de la calidad el agua, la recarga de acuíferos, atenuación de los extremos climáticos, retención de contaminantes, secuestro de carbono en suelo, acumulación de carbono orgánico, sostén de cadenas tróficas, provisión de hábitats, provisión de recursos para uso y consumo humano (Kandus *et al.*, 2010). Sin embargo, según Kandus *et al.*, en el 2006 ya se encontraba entre los ecosistemas más amenazados del planeta, debido a la aceleración en el consumo mundial de agua, la modificación del hábitat y el cambio climático.

El Delta del Paraná es el último macrosistema de una compleja red de humedales de extensión regional, conocida como el corredor fluvial Paraná-Paraguay del Sistema del Plata. El río Paraná es considerado por su extensión, tamaño de la cuenca y caudal, el segundo en importancia de Sudamérica y el cuarto del mundo. En sus últimos 300 km, la región del Delta ocupa cerca de 17500 km² desde el sur de la ciudad de Diamante (Entre Ríos) hasta las cercanías de la ciudad de Buenos Aires (Kandus *et al.*, 2010) (Figura 1). El Delta presenta condiciones ambientales diferentes a la de su entorno regional, debido a la interacción entre los distintos procesos geomorfológicos y el régimen hidrológico actual (modelado fluvial) y pasados (ingresiones y regresiones marinas holocénicas), que determinan su heterogeneidad interna y elevada biodiversidad, de origen tanto subtropical como templado (Kandus *et al.*, 2006; Darrigan *et al.*, 2014). Su régimen hidrológico es complejo, está determinado por inundaciones periódicas de distinto origen: crecientes de los ríos Paraná, Uruguay y Gualeguay, mareas y sudestadas del Río de la Plata (Darrigan *et al.*, 2014).

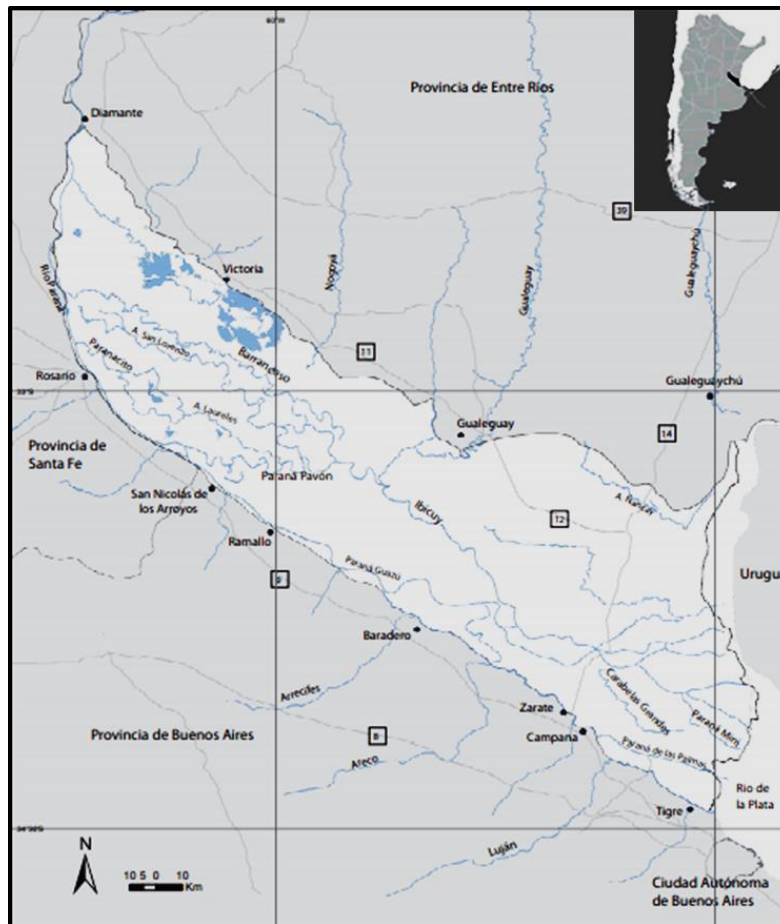


Figura 1. Delta del Paraná (Kandus *et al.*, 2011).

En el Delta Bonaerense, la Primera Sección de Islas corresponde al partido Tigre y presenta una superficie de 220 km² (Homberg *et al.*, 2016). Cuenta con numerosos bienes y servicios de importancia local, como es la provisión de recursos (madera, alimento, forraje para el ganado), y global como es la regulación climática a partir del secuestro de carbono, entre otros (Kandus *et al.*, 2006, 2010; Ceballos *et al.*, 2014). Desde el 2014 (Athor) y hasta el día de hoy (observación personal al vivir en la zona), las actividades humanas más importantes son los servicios relacionados con el asentamiento urbano, el turismo, las actividades recreativas, la pesca deportiva, la navegación de buques mercantes, la forestación y el cultivo en parcelas pequeñas propias de una economía de tipo familiar. En muchos casos, las actividades que se realizan no consideran la compatibilidad con las funciones naturales del ambiente, no tienen en cuenta la sustentabilidad, y se basan en su transformación (construcción de terraplenes, diques, drenajes) resultando en la pérdida del

recurso o valor original e integridad ecológica del ecosistema. En muchos otros, los beneficios que brinda no son reconocidos por la sociedad, lo cual puede resultar en la pérdida de los mismos como consecuencia de la sobreexplotación, contaminación y manejo irresponsable (Kandus *et al.*, 2010; Ceballos *et al.*, 2014). A su vez, la introducción accidental o deliberada y posterior propagación de organismos exóticos e invasores también se ha convertido en un serio problema ecológico en el lugar, generando grandes impactos que suponen una amenaza para la biodiversidad, las funciones del ecosistema e incluso la salud humana (Mack *et al.*, 2000).

BIVALVOS

Los bivalvos comprenden un grupo de moluscos que se caracterizan por poseer el cuerpo comprimido y rodeado por dos estructuras duras denominadas valvas, que recubren, protegen las partes blandas del animal y cumplen un rol fundamental en la fijación de los músculos responsables del cerrado de las valvas, que fijan el manto y permiten la movilidad de diferentes partes del cuerpo del animal. Las valvas se encuentran articuladas entre sí, pudiéndose abrir y cerrar mediante una estructura llamada charnela. Al estar abiertas, parte del cuerpo, como el pie y los sifones, pueden ser externalizados de manera temporal, permitiendo la locomoción, alimentación, intercambio gaseoso, liberación de gametas y eliminación de productos de desecho. Al cerrarse, activan un mecanismo de protección contra la depredación y la deshidratación (Zelaya y Güller, 2014).

Los bivalvos son el componente principal en los ecosistemas acuáticos, donde el entorno bentónico es fuerte, ya que a través de su alimentación activa de materia orgánica particulada mediante una elevada tasa de filtración de agua, controlan la producción primaria, la claridad del agua, el ciclo de nutrientes, las cadenas tróficas y las tasas de sedimentación de partículas (Yamamuro y Koike, 1994; Gerritsen *et al.*, 1994; Phelps, 1994; Ricciardi *et al.*, 1997; Kohata *et al.*, 2003; Ruesink *et al.*, 2005). Estos organismos desempeñan un papel importante en el acople de las cadenas alimentarias pelágicas y bentónicas, cumplen una parte importante de la producción primaria de fitoplancton desde la columna de agua a los sedimentos, redistribuyendo el flujo de energía a través de las

redes tróficas y el ciclado de materia (Gardner *et al.*, 1995). Los bivalvos presentan mecanismos de preselección de las partículas, de manera que la eficiencia en la ingestión es modulada tanto por la cantidad como por la calidad del alimento disponible (Velasco y Navarro, 2003). Una vez ingerido el alimento, la absorción de este depende de la calidad de las partículas y de la capacidad enzimática para metabolizarlas. Ambos procesos, ingestión y absorción, determinan el costo energético y tendrá efectos sobre la composición bioquímica de los bivalvos (Faría *et al.*, 2010), principalmente sobre los lípidos de membrana y los de reserva, que influyen en el crecimiento, la reproducción, los sistemas de defensa, detoxificación y la fisiología de los organismos (Parrish *et al.*, 2009).

Los cambios en las variables físicas y químicas del medio acuático, naturales y de origen antrópico, alteran la disponibilidad y el tipo de alimento, produciendo una modificación de la tasa de filtración de los bivalvos (Velasco y Navarro, 2003). Estas alteraciones también afectan el crecimiento, la reproducción y el metabolismo de los organismos (Parrish *et al.*, 1986). Es posible cuantificar la respuesta de los bivalvos a los contaminantes a través de la determinación de parámetros metabólicos (en branquias, glándula digestiva y manto), como la sobreproducción de especies reactivas del oxígeno (EROs) y los indicadores de estrés oxidativo, que constituyen un método validado y sirven como alerta temprana de cambios, efectos adversos y daños resultantes de la exposición a sustancias químicas y alteración de los parámetros físicos y químicos ambientales (temperatura, pH, disponibilidad de oxígeno) (Van der Oost *et al.*, 2003).

Las alteraciones en el ambiente impactan sobre las poblaciones nativas de bivalvos como *D. delodontus*, mientras que las actividades humanas y el impacto negativo que producen se solapa con la introducción voluntaria o involuntaria de especies exóticas como *C. fluminea* (Torres *et al.*, 2013).

Corbicula fluminea

Corbicula fluminea (Müller, 1774) (Figura 2) es una especie nativa de Asia que fue detectada por primera vez en Argentina en el Río de la Plata en 1979, estimando su introducción en los 70 (Ituarte, 1994). Esta y su posterior dispersión en los 80 a lo largo de todas las regiones litorales, en una gran variedad de ambientes en todo el mundo (Sousa *et al.*, 2008), es el resultado de diversas actividades humanas (transporte de agua de lastre, fuente de alimento, utilización de especímenes como carnada de pesca, liberaciones de acuarios, transporte de juveniles y adultos como curiosidad turística) (McMahon, 2002; Darrigran, 2002; Lee *et al.*, 2005). Además, este bivalvo, tiene amplias capacidades para la dispersión natural por las corrientes fluviales o mareas, siendo transportado también en las patas o plumas de aves acuáticas (Prezant y Chalermwat, 1984; McMahon, 2002). Actualmente, en Argentina, se distribuye a lo largo de toda la Cuenca del Plata (provincias de Chaco, Santa Fe, Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Buenos Aires, Córdoba) y por fuera de ella, en el arroyo Santa Catalina, río Sauce Grande (Buenos Aires), Dique San Roque (Córdoba), río Colorado y río Negro (Río Negro) (Hunicken, 2020). Es la especie invasora de agua dulce más ampliamente distribuida (Darrigran *et al.*, 2020). Una revisión de varios estudios demuestra que la invasión de *C. fluminea* ha impactado negativamente en la abundancia y diversidad de los bivalvos nativos en América del Norte y los ecosistemas de agua dulce de Europa (Araujo *et al.*, 1993; Aldridge y Muller, 2001; McMahon, 2002; Sousa *et al.*, 2005, 2008).



Figura 2. *Corbicula fluminea*.

Los impactos económicos y ecológicos causados por *C. fluminea* son importantes. Generan un costo negativo en la industria por el mantenimiento de las tomas, filtros de agua y las pérdidas en el turismo (Pimental *et al.*, 2005). Por otro lado, el enterramiento y la bioturbación que produce *C. fluminea* en los sedimentos puede desplazar o reducir el hábitat y/o limitar la disponibilidad de alimento en el plancton para los bivalvos nativos (Araujo *et al.*, 1993). La elevada concentración de nutrientes en su excreción y la mineralización de sus heces puede afectar los procesos biogeoquímicos (Sousa *et al.*, 2008), aumentando las concentraciones de nitrógeno inorgánico, amonio, nitrato, necesarios para la nitrificación y desnitrificación, teniendo un efecto significativo en estos procesos (Chen *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2011; Turek, 2013). Por otro lado, es una de las especies más tolerantes a las altas concentraciones de nutrientes y contaminantes asociados con la urbanización, lo cual repercute negativamente en la diversidad y riqueza (Walsh *et al.*, 2005).

Es una especie de plasticidad fenotípica, hermafrodita con alta tasa de fecundidad, dispersión de pequeñas larvas y posible resuspensión de juveniles, maduración de tres a nueve meses y/o cuando la longitud de la valva alcanza de 6 a 10 mm, rápido crecimiento, de uno a tres eventos reproductivos, de uno a cinco años de vida, ciclo de vida corto, con un tamaño adulto de 1 a 5 cm, que se encuentra en hábitats lóticos y lénticos (tanto vírgenes como contaminados) en sustratos blandos de 30 a 50 cm de profundidad, con capacidad de filtrar grandes volúmenes de agua, resistente al estrés ambiental (Doherty *et al.*, 1987; Cataldo y Boltovskoy, 1999; McMahon, 2002; Darrigran, 2002; Sousa *et al.*, 2008).

En la actualidad, en conjunto con las actividades antrópicas, la introducción de especies exóticas es la causa principal de la disminución de la diversidad biológica (Darrigan y Arcaria, 2009). Por su parte, una teoría clásica sugiere que las especies exóticas tendrán un mayor éxito de adaptación en el nuevo ambiente si éste se encuentra impactado por acción antrópica, en comparación con un ambiente prístino (Elton, 1958). Darrigan y Arcaria (2009), atribuyen este proceso adaptativo principalmente a que las especies nativas utilizan sus recursos energéticos para hacer frente a los cambios de las variables físicas y químicas

como resultado de la actividad antrópica, en lugar de utilizarla en la competencia por el nicho ecológico contra las especies invasoras.

Diplodon delodontus

El género *Diplodon*, endémico de la Región Neotropical, se distribuye desde la Subregión Guayano-Brasileña hasta el dominio subtropical de Argentina a través de los tributarios del Sistema Parano-Platense, llegando hasta Tucumán y Buenos Aires (Castellanos y Landoni, 1990). Las características más sobresalientes del género son el umbo formado por estrías radiales, la charnela compuesta por dientes pseudocardinales y laterales (Simpson, 1914), y el gloquidio parásito con dientes curvados en forma de “S” más un filamento adhesivo para fijarse a las branquias o aletas de peces (Simone, 2006).

Sus especies son organismos exclusivamente dulciacuícolas de crecimiento lento (Valdovinos y Pedreros, 2007), longevos (Roper y Hickey, 1994; Morris y Corkum, 1999; Soldati *et al.*, 2009; Rocchetta *et al.*, 2014), que presentan tasas de reproducción y metabólicas relativamente bajas comparadas con las de otros bivalvos (Aldridge, 1999). Son un componente importante de la infauna de los cuerpos lóticos y lénticos (Castellanos y Landoni, 1995), viven en fondos limosos, limo-arenosos y excepcionalmente introducidos en tosca. Presentan un hábito alimentario filtrador de partículas en suspensión mediante branquias eulamelibranquias, teniendo un papel importante en el reciclado de la materia orgánica de los ecosistemas acuáticos (Soto y Mena, 1999; Semenas y Brugni, 2002). Incorporan los nutrientes por consumo de fitoplancton (Stuart *et al.*, 2001; Kovitvadhi *et al.*, 2008) de las algas en el sedimento (Lara *et al.*, 2002b) y por filtración de bacterias (Turick *et al.*, 1988; Lara *et al.*, 2002a; Sabatini *et al.*, 2011b; López Van Oosterom *et al.*, 2013). No presentan dimorfismo sexual, son gonocóricas y tienen un estadio larvario gloquidio ectoparásito de peces (Aldridge, 1999; Modesto *et al.*, 2018). Los machos liberan los espermatozoides y los óvulos son fecundados en la cavidad branquial de las hembras, modificándose en sacos de incubación (marsupios) donde se alojan los embriones hasta llegar a larva y encontrarse por un tiempo breve en estado libre hasta hallar un hospedador (Wächtler *et al.*, 2001).

Todos los bivalvos unionoideos tienen una alta capacidad de depurar agua, debido a ello hay una gran variedad de trabajos sobre la fisiología del grupo con hincapié en su elevada tasa de filtración (Eversole *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2011; Byllaardt y Ackerman, 2014; Cyr *et al.*, 2017) y sus variaciones ante diferentes condiciones ambientales (Grandon *et al.*, 2012; Archambault *et al.*, 2013; Falfushynska *et al.*, 2014; Lurman *et al.*, 2014; Ganser *et al.*, 2015; Hartmann *et al.*, 2016). Sin embargo, la mayoría de los estudios se han realizado en mesocosmos de laboratorio con pocas mediciones a campo (Nobles y Zhang, 2015; Cao, 2020).

Hay diez especies pertenecientes a este género distribuidas en la Cuenca del Plata (Rumi *et al.*, 2008) y entre ellas se encuentra *Diplodon delodontus* (Lamark, 1819) (Figura 3). *D. delodontus* (Unionoida, Hyriidae) habita en los ríos Paraná, Paraguay y de la Plata, abarcando Uruguay, sur de Brasil y parte de Argentina. En Argentina, en la Cuenca del Plata, se registra en el río Paraná y en el Río de la Plata, diferenciando dos poblaciones, una ubicada en el Paraná Medio, y otra distribuida en el Paraná Inferior y Río de la Plata (Cao, 2020).



Figura 3. *Diplodon delodontus*.

En general, las especies nativas de bivalvos de la familia Hyriidae a la cual pertenece el género *Diplodon*, son sensibles a la contaminación del medio (Bogan, 1993; Darrigran,

1999; Bogan, 2008; Clavijo, 2009) y a la competencia con especies invasoras como *C. fluminea* (Mansur *et al.*, 2003; Scarabino, 2004; Cherry *et al.*, 2005; Darrigran y Damborenea, 2005; Scarabino y Mansur 2008; Clavijo C, 2009). Torres *et al.* (2013) registran *D. delodontus* en Buenos Aires y Entre Ríos entre 1905 y 2005, y exponen el desconocimiento general sobre su biología en la Cuenca del Plata, como también, la falta de trabajos científicos sobre su competencia con la especie invasora mencionada. La distribución de *C. fluminea* coincide en varias zonas con *D. delodontus*, compartiendo el nicho ecológico, provocando el desplazamiento de esta última (Cherry *et al.*, 2005). A pesar de que mundialmente, la tasa de extinción de los bivalvos dulciacuícolas es elevada, siendo Unionoida uno de los grupos biológicos con más especies en peligro de desaparecer (Bogan, 2008; Strayer *et al.*, 2004), en Argentina se han llevado a cabo pocos estudios al respecto (Torres *et al.*, 2018; Cao 2020). Para su conservación y recuperación en ambientes naturales, es fundamental conocer más sobre *D. delodontus*, ya que podría ser un buen modelo para realizar estudios poblacionales debido a su distribución (Cao, 2020).

BIOMARCADORES

El mayor éxito de adaptación de la especie invasora frente a la nativa se puede analizar por medio de sus respuestas morfológicas, histológicas, metabólicas, bioquímicas y fisiológicas. Estas respuestas se denominan biomarcadores y en este tipo de enfoque ecotoxicológico en el biomonitoreo ambiental se evalúan, a través de una serie de técnicas, no solo la presencia de contaminantes en el agua y en los organismos, sino también la respuesta de dichos organismos a los contaminantes, para determinar la toxicidad de un compuesto por medio de la visualización o no de alteraciones en los mismos (Boelsterli, 2003; Lam y Gray, 2003). Una característica fundamental de los biomarcadores en la evaluación del impacto es su capacidad para detectar la aparición temprana de estrés y predecir alteraciones en diferentes niveles de organización, debido a que cambios a nivel de los organismos conducen a cambios en las poblaciones, comunidades y ecosistemas (Figura 4) (Walker *et al.*, 2006). La exposición de organismos acuáticos a contaminantes puede inducir no solo cambios a nivel individual (Rainbow, 1990; Ansari *et al.*, 2004), sino

también puede influenciar la abundancia de especies, riqueza, diversidad y equitatividad (Preston, 2002; Begon *et al.*, 1986; Calcagno *et al.*, 1997, 1998). El uso de biomarcadores en el monitoreo no reemplaza al monitoreo físico y químico o los estudios poblacionales, sino que los complementa al determinar los efectos tóxicos de los contaminantes, incluso cuando estos se encuentran en concentraciones bajas y subletales (Sabatini *et al.*, 2016).

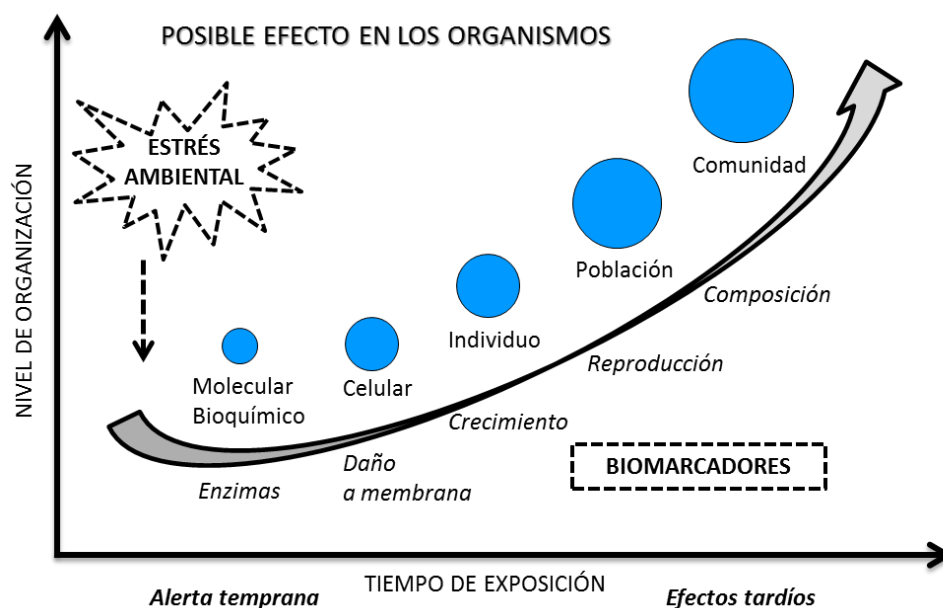


Figura 4. Biomarcadores. Efectos a diferentes niveles de organización biológica y a diferentes escalas temporales (adaptado de Walker *et al.*, 2006).

El seguimiento de biomarcadores en los organismos es un método validado y sirve como alerta temprana de efectos adversos, cambios y daños resultantes de la exposición a xenobióticos y/o contaminantes. Su uso en moluscos ha aumentado considerablemente en los estudios toxicológicos de los últimos años, con el objeto de predecir el impacto biológico causado por la presencia de contaminantes, tanto a escala geográfica como temporal. Sin embargo, debido a que los biomarcadores, además de ser afectados por la presencia de xenobióticos, también pueden serlo por factores ambientales (por ejemplo la temperatura) (Verlecar *et al.*, 2007; Bocchetti *et al.*, 2008; Lushchak, 2011) o fisiológicos y metabólicos (reproducción, envejecimiento) (Abele *et al.*, 2009), es necesaria la medición de diferentes parámetros que permitan lograr una correcta interpretación de las respuestas obtenidas. Así, estos podrán ser utilizadas para evaluar en forma más eficiente el impacto producido

por la presencia de contaminantes, y en la toma de decisiones e implementación de políticas ambientales por parte de las instituciones responsables de la regulación y el manejo de los recursos acuáticos (Sabatini y Calcagno, 2014).

ANTECEDENTES EN EL ÁREA DE ESTUDIO

El Delta del Paraná constituye un ecosistema de suma importancia para Argentina debido a que de la misma manera que recogió, distribuyó los aportes de agua y minerales a lo largo de la historia geológica, también recibió el impacto de todas las acciones humanas de la historia desde la colonización europea (Morello y Matteucci, 2000). Además de ser sumidero y sustento de agua dulce. El estudio de un sistema tan complejo implica un desafío. Entre los estudios realizados en la zona, O'Farrell *et al.* (2002) evaluaron la calidad del agua de la cuenca baja del río Luján mediante el monitoreo estacional de variables físicas y químicas, bioensayos de fitoplancton y algas. Di Marzio *et al.* (2005), estudiaron la toxicidad del agua para varias especies nativas en relación con los compuestos orgánicos en el tramo superior del río Lujan. Lombardo *et al.* (2010), caracterizaron la calidad del agua de la cuenca baja del río Luján con distintas mareas. Verrengia Guerrero y Kesten (1993) monitorearon concentraciones de metales y la presencia de *C. fluminea* en el Río de la Plata; mientras que Cataldo *et al.* (2001) evaluaron los efectos de la contaminación del río Luján, San Antonio y Paraná de las Palmas sobre *C. fluminea*. La calidad del agua no es una condición estática ni puede ser definida por la medición de un parámetro, se requiere la medición de numerosas componentes físicos, químicos y biológicos. Algunas variables proveen una idea general del grado de contaminación, mientras que otras permiten determinar las fuentes de contaminación (Carr y Neary, 2008). Por ello, el monitoreo de cuerpos de agua es complejo, debido a la gran variabilidad espacio temporal y la gran cantidad de sustancias que pueden encontrarse en simultáneo. A su vez, los efectos de pesticidas y metales son consecuentes de las concentraciones máximas y la duración de exposición (Yu *et al.*, 2014), por lo que es necesario medir en forma continua a través del tiempo. Sin embargo, hay pocos registros periódicos con información integrada de la calidad del agua de los sitios a estudiar.

A su vez, *Corbicula fluminea* es un modelo muy conveniente en ecotoxicología por su capacidad de bioacumular y bioamplificar varios contaminantes, sumado a su distribución ubicua (Bassack *et al.*, 1997; Baudrimont *et al.*, 2003; Tran *et al.*, 2001; Cataldo *et al.*, 2001 a y b; Achard *et al.*, 2004), sirviendo como base de comparaciones internacionales de monitoreos ambientales en los ecosistemas de agua dulce (Sousa *et al.*, 2008). Varios autores concuerdan en que este invasor debería ser una prioridad en la investigación y gestión de los ecosistemas acuáticos (Phelps, 1994, Darrigran, 2002; McMahon, 2002; Rumi *et al.*, 2008; Darrigran y Arcaria, 2009; Caffrey *et al.*, 2016; Minchin y Boelens, 2018). Debido a que la escala geográfica, la frecuencia y el número de especies invasoras han crecido exponencialmente en las últimas décadas, en relación directa con la expansión del transporte y las actividades antrópicas, originando no solo la pérdida de la biodiversidad biológica nativa, transformando la estructura del ambiente natural, sino también, generando efectos económicos y ecológicos negativos. Las especies invasoras requieren estrategias efectivas de control por parte de las autoridades gubernamentales para minimizar sus impactos negativos. Además, las almejas del género *Corbicula* acumulan sustancias tóxicas, lo que puede tener efectos nocivos en la salud de la población ya que ha pasado a formar parte de la cadena alimentaria de peces de consumo humano (Darrigran *et al.*, 2014).

Por otro lado, la interacción entre especies de bivalvos invasoras con poblaciones de bivalvos nativos ha sido registrada como negativa para estas últimas (Torres *et al.*, 2013). A pesar de esto y la importancia de la investigación de las especies nativas por su vulnerabilidad ecológica, se han llevado a cabo pocos estudios que vayan más allá de la descripción taxonómica de especies nativas como *D. delodontus* en Argentina (Torres *et al.*, 2018). En la tesis doctoral de Cao (2020) se estudia su distribución y sistemática, con el fin de recolectar información taxonómica precisa para su conservación. Tanto en esta tesis como en el trabajo de Torres *et al.* (2013) se observa que *C. fluminea* y *D. delodontus* ocupan el mismo nicho ecológico y compiten por él, en el Paraná Medio, Inferior y Río de la Plata. Por ello, es de suma importancia e interés realizar comparaciones desde el punto de vista de la ecología de invasiones.

OBJETIVO GENERAL, OBJETIVOS E HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

A raíz de todo lo expresado y evidenciando hasta el momento, son pocos los estudios que han caracterizado la calidad del agua de los cuatro ríos limítrofes de la sección (río Paraná de las Palmas, Río de la Plata, canal Gobernador Arias, río Luján), más uno interno (río Capitán), en distintos momentos del año, teniendo en cuenta su influencia en una especie invasora como *C. fluminea* y de manera comparativa con la nativa *D. delodontus* en dos de los sitios. En la presente tesis, como objetivo general, se propone interpretar el efecto de los cambios en las distintas variables físicas y químicas del medio acuático sobre el metabolismo redox de *C. fluminea*, con el objeto de ser utilizadas para explicar la dispersión y colonización de esta especie invasora en detrimento de *D. delodontus* en la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense, mediante un enfoque multidisciplinario a través de experimentación a campo. El desafío de este proyecto es la correcta interpretación del efecto de la modificación de distintas variables físicas y químicas (incluyendo metales y pesticidas) en el medio ambiente para explicar la dispersión de la especie invasora en detrimento de la especie nativa. También, obtener un mapa actualizado de la concentración de contaminantes en la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense y como fluctúan en el tiempo, para poder evaluar en forma más eficiente los impactos ambientales. Mediante los siguientes objetivos e hipótesis específicas:

CAPÍTULO 1:

O1. Caracterizar distintos cuerpos de agua en la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense mediante el análisis de parámetros físicos y químicos.

H1. Los cuerpos de agua en la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense presentan diferencias físicas y químicas en función de sus características hidrológicas.

CAPÍTULO 2:

O2. Cuantificar la concentración de metales y pesticidas en distintos cuerpos de agua en la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense.

H2. La concentración de metales y pesticidas en el agua es mayor en los cuerpos de agua con menor caudal.

O3. Determinar la bioacumulación de metales en glándula digestiva de *Corbicula fluminea* y *Diplodon delodontus* en relación con sus concentraciones en el agua.

H3. La bioacumulación de metales en glándula digestiva difiere entre especies y cuerpos de agua.

CAPÍTULO 3:

O4. Caracterizar la morfología e histología de *Corbicula fluminea* en relación con las características físicas y químicas de los distintos cuerpos de agua.

H4. La morfología e histología de *Corbicula fluminea* se ven alteradas por el aumento de la concentración de contaminantes en el agua y bioacumulados.

O5. Comparar la morfología e histología de *Corbicula fluminea* y *Diplodon delodontus* en el río Paraná de las Palmas en relación con el tiempo de exposición.

H5. Las alteraciones morfológicas e histológicas en *Corbicula fluminea* son menores que en *Diplodon delodontus*.

CAPÍTULO 4:

O6. Cuantificar parámetros metabólicos de *Corbicula fluminea* en relación de las características físicas y químicas de los distintos cuerpos de agua.

H6. Los parámetros metabólicos de *Corbicula fluminea* se ven afectados negativamente con el deterioro físico y químico del medio acuático.

O7. Comparar el metabolismo de *Corbicula fluminea* y *Diplodon delodontus* en el río Paraná de las Palmas en relación con el tiempo de exposición.

H7. El balance metabólico de *Corbicula fluminea* se ve menos afectado que en *Diplodon delodontus*.

METODOLOGÍA

ÁREA DE ESTUDIO

El Delta Bonaerense comprende tres secciones geográficas pertenecientes a dos partidos diferentes. La Primera Sección de Islas, perteneciente al partido de Tigre, delimitada por el canal Arias (al oeste), el Río de la Plata (al este), el río Paraná de las Palmas (al norte) y el río Luján (al sur) limitando con la parte continental (Figura 5). Mientras que la Segunda y Tercera Sección, pertenecen al partido de San Fernando, abarcando desde el río Paraná de las Palmas al río Paraná Miní y desde éste hasta el río Paraná Guazú, respectivamente, ya marcando el límite político entre las provincias de Buenos Aires y Entre Ríos (Municipalidad de Tigre *et al.*, 2012).

El área de estudio de esta tesis abarca la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense, también llamado Delta de Tigre (Figura 5), siendo los sitios de muestreo un río interno y los cuatro limítrofes: río Capitán ($34^{\circ} 20' 15,4''\text{S}$, $58^{\circ} 33' 25,2''\text{O}$), río Paraná de las Palmas ($34^{\circ} 16' 3,6''\text{S}$, $58^{\circ} 39' 9,8''\text{O}$), Río de la Plata ($34^{\circ} 26' 43,9''\text{S}$, $58^{\circ} 30' 56,7''\text{O}$), canal Arias ($34^{\circ} 18' 47,4''\text{S}$, $58^{\circ} 40' 7,2''\text{O}$) y río Luján ($34^{\circ} 24' 34,5''\text{S}$, $58^{\circ} 35' 21,9''\text{O}$) (Figura 6). Estos lugares presentan diferentes características hidrológicas y distinto grado de impacto por las diferentes actividades antrópicas que se realizan en sus cursos o afluentes (Tabla 1) (Cataldo *et al.*, 2001; Kandus *et al.*, 2010; Suárez y Lombardo, 2012; Athor, 2014). El aumento de la población ha producido la expansión de los asentamientos urbanos hacia las afueras de la ciudad de Buenos Aires y áreas agrícolas (Matteucci, 2006). Determinando así, un aumento de la industrialización de las zonas periurbanas, tal como se observa en las áreas adyacentes a los cursos de agua de tierras bajas al norte de la provincia de Buenos Aires. Como consecuencia de ello, el río Luján, uno de los ríos suburbanos más importantes de la provincia, recibe la descarga de los cursos de agua contaminada que fluyen a través de áreas urbanizadas, ganaderas, agrícolas e industrializadas en un área de 2300 km^2 en su recorrido de 130 km, desde la confluencia de los arroyos Los Leones y El Durazno hasta desembocar en el Río de la Plata (Suárez y Lombardo, 2012). A su vez, el río Reconquista, el segundo curso de agua más contaminado de Argentina, desemboca en el Luján (Pizarro *et al.*, 2007). El canal Arias, tiene un suministro significativo del río Paraná de las Palmas y

según el régimen hidrológico (fluctuaciones del caudal del Paraná más régimen de mareas y sudestadas del Río de la Plata) influye en el Luján o no, consecuente del cambio en la dirección de las masas de agua (Pizarro *et al.*, 2007; Lombardo *et al.*, 2010). El río Paraná de las Palmas recibe la descarga de los ríos de las zonas agrícolas, ganaderas y el transporte continuo de buques mercantes. El Río de la Plata tiene actividad portuaria y disposición de aguas residuales. Por otro lado, el río Capitán presenta cursos de agua deltaicos con poca influencia de los demás, ya que es un río interno con una población estable baja en su curso (Cataldo *et al.*, 2001; Municipalidad de Tigre, 2012; Athor, 2014).

SITIO	Tipo de cuerpo de agua	Ancho	Largo	Profundidad promedio	Caudal medio anual	Actividad antrópica
RC	río/arroyo	30 m	9 km	3 m	< CA	pocas viviendas turismo
RPP (Inferior)	río	2 km	298 km	20 m	17300 m ³ /s	ganadería agricultura transporte
CA	canal	77 m	10 km	5 m	137 m ³ /s	influencia del RPP
RLP	estuario	221 km	290 km	2 a 13 m	22000 m ³ /s	urbanización puerto
RL	río	78 m	130 km	6 m	18 a 204 m ³ /s	urbanización ganadería agricultura industria

Tabla 1. Características hidrológicas de los distintos sitios de muestreo (Cartas náuticas del Servicio de Hidrografía Naval, Armada Argentina). RC: río Capitán, RPP: río Paraná de las Palmas, CA: canal Arias, RLP: Río de la Plata y RL: río Luján.

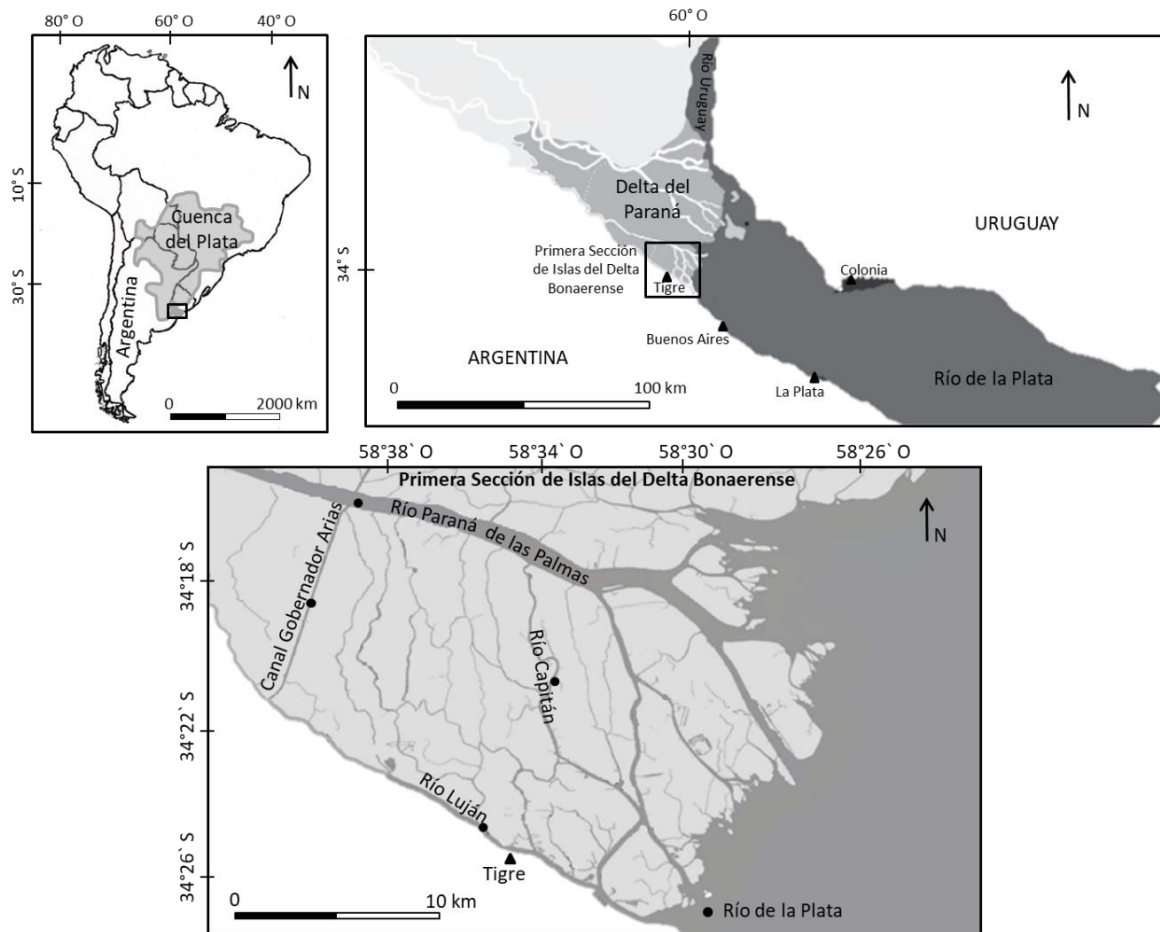


Figura 5. Área de estudio. Ubicación de los sitios de muestreo en la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense (Quesada, 2019 modificado).

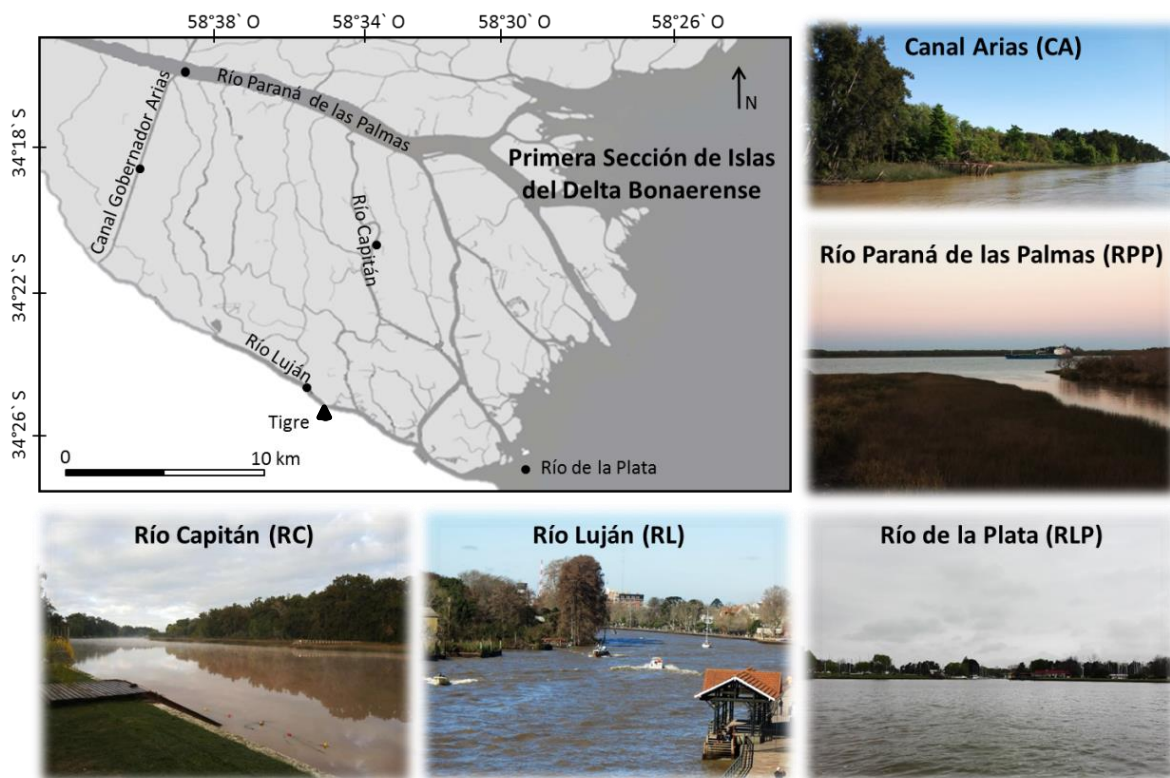


Figura 6. Sitios de muestreo.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se establecieron cinco sitios de muestreo en la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense: río Capitán, río Paraná de las Palmas, Río de la Plata, canal Arias y río Luján. Mediante varios muestreos piloto se confirmó la presencia de *C. fluminea* en todos los sitios. Sin embargo, su disposición espacial gregaria, enterramiento, la profundidad de los cuerpos de agua y falta de visibilidad bajo el agua, dificultó la recolección estacional directa del número de individuos necesarios para el cumplimiento de los objetivos planteados. Por esto, previo al inicio del experimento, con una rastra individual construida por nosotros y manualmente, se extrajeron un total de 2160 ejemplares adultos de *C. fluminea* en el Río de la Plata en la zona costera desde Ciudad Universitaria hasta el punto de pesca Costanera Norte en agosto 2018. Estos fueron transportados al laboratorio y aclimatados durante un mes para su depuración. Para esto, se distribuyeron en siete bachas grandes con agua declorada y oxigenada por medio de aireadores, realizando su recambio una vez por

semana y alimentando a los individuos dos veces por semana luego de siete días desde su extracción.



Figura 7. Aclimatación en laboratorio. Individuos extraídos para su futura reubicación en los sitios de muestreo.

Los individuos se repartieron en 360 jaulas experimentales, con un total de seis animales adultos (longitud valvar mayor a 1 cm) por unidad. Las jaulas fueron distribuidas de manera equitativa, 60 en cada uno de los cinco sitios de muestreo. En el Río de la Plata y Paraná de las Palmas, se incorporaron individuos adultos (longitud valvar mayor a 7 cm) de *D. delodontus* (18 jaulas con un individuo en cada sitio), dado que es la especie nativa que comparte nicho ecológico con la invasora en estos dos cuerpos de agua. La cantidad de individuos repartidos en las jaulas y ubicados en los sitios fue similar a la densidad observada en la naturaleza (Figura 7).

En septiembre 2018, en cada sitio de estudio, se colocaron 60 unidades experimentales de *C. fluminea* y 36 de *D. delodontus* en los sitios correspondientes. Estas fueron amarradas a lugares estratégicos a una profundidad de entre dos y ocho metros (Figura 8) para asegurar que los organismos estén sobre el sedimento y tengan las condiciones propicias para las especies. Al realizarlo, se tomaron muestras de agua para medir las condiciones físicas y químicas del tiempo de inicio del muestreo. En un principio, este diseño experimental contemplaba extracciones de cinco unidades experimentales cada dos meses durante dos años. Debido a la pérdida de varias de las jaulas y la mortandad de los individuos, los muestreos para *C. fluminea* se realizaron estacionalmente (cada tres meses) por un periodo de quince meses, desde septiembre 2018 a diciembre 2019, en diciembre 2018, marzo 2019, junio 2019, septiembre 2019 y diciembre 2019, es decir, a tres, seis, nueve, doce y quince meses de exposición, respectivamente. En cada sitio y fecha de muestreo se extrajeron cinco jaulas con seis individuos cada una. En cuanto a *D. delodontus*, en el río Paraná de las Palmas se extrajeron nueve en el muestreo de junio 2019 y nueve en septiembre 2019. Sin embargo, en el Río de la Plata los individuos se perdieron como consecuencia del posible hurto de los mismos, a pesar de ubicarlos reiteradas veces en el sitio. En cada muestreo se tomaron las muestras de agua pertinentes para el análisis de parámetros físicos y químicos. En las muestras de bivalvos de los diferentes sitios se realizaron múltiples determinaciones.



Figura 8. Armado, instalación y extracción de las jaulas.

CAPÍTULO 1

CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DEL AGUA

INTRODUCCIÓN

La contaminación acuática es consecuencia directa o indirecta de las actividades antrópicas. El aumento significativo de la población mundial ha ido acompañado de una mayor urbanización, aumento en las actividades industriales, mayor explotación de los recursos, deforestación, aumento de zonas agrícolas y ganaderas e intensificación en ambas, haciendo que la cantidad de contaminantes se incremente día a día. Los distintos tipos de contaminantes pueden tener efectos a diferentes escalas espaciales y temporales (Sabatini *et al.*, 2016). Una de las principales preocupaciones por la presencia de los desechos urbanos, agrícolas, ganaderos, industriales y otros productos químicos en el medio ambiente acuático está determinada por las consecuencias ambientales que potencialmente pueden causar estos compuestos sobre los individuos, poblaciones, comunidades y ecosistemas (Walker *et al.*, 2006).

En Argentina los ríos están cada vez más amenazados por los diferentes usos que el hombre impone en estos ecosistemas de agua dulce. La urbanización, industrialización y las actividades relacionadas con la agricultura o ganadería afectan gravemente la calidad del agua. La relación entre dichos aportes antrópicos y la geoquímica natural del río determina los patrones espaciales y temporales de la calidad del agua, que también se ven afectados por las variaciones climáticas e hidrológicas regionales (Lombardo *et al.*, 2010). A su vez, en el país, el monitoreo regular e integral de su calidad es limitado, ya que los programas analíticos utilizados son relativamente simples, al realizar solo mediciones para las principales variables químicas y bacteriológicas incluidas en los índices de calidad del agua establecidos (Loez y Topalián, 1999; O'Farrell *et al.*, 2002).

El conurbano de la provincia de Buenos Aires es uno de los asentamientos urbanos más grandes del mundo, y su población sigue aumentando notablemente, produciendo su expansión hacia la periferia y áreas agrícolas (Matteucci, 2006). Además, al aumento de los asentamientos humanos también determinó un aumento de la industrialización de las zonas periurbanas. Esto se observa claramente en las áreas del norte de la ciudad adyacentes a los cursos de agua de las tierras bajas (Mosto, 2008), como los humedales del Delta Bonaerense.

El agua es el factor común a todo el Delta, tiene un papel preponderante en su origen, modelado actual y es condición primaria en la distribución de especies de la vegetación y las condiciones de habitabilidad para la fauna. Resulta el elemento fundamental en los flujos de materia, energía dentro y en las áreas vecinas. Por ende, la conservación de sus características físicas y químicas naturales es un punto crítico para preservar la heterogeneidad del sistema en términos de diversidad de especies y funciones ecológicas (Kandus *et al.*, 2006). Los cambios en las variables físicas y químicas e hidrológicas del medio acuático, naturales o de origen antrópico, alteran la disponibilidad y el tipo de alimento, produciendo una modificación de la tasa de filtración de los bivalvos (Velasco y Navarro, 2003). Estas alteraciones también afectan el crecimiento, la reproducción y el metabolismo de los organismos (Parrish *et al.*, 1986).

En los años setenta, ante la necesidad de encontrar un método sencillo y consistente para conocer la calidad del agua, se desarrolló un sistema estimativo que requería de la medición de parámetros físicos y químicos, y el uso de una escala estandarizada para determinar el grado de impacto, denominado Índice de Calidad de Agua (ICA). Utilizado, hasta el día de hoy, a la hora de monitorear cuerpos de agua (Avila Perez *et al.*, 2011; Peluso, 2020). Este índice resulta un parámetro útil como indicador rápido del estado de salud del ambiente, ya que por motivos económicos y de tiempo no siempre es viable medir todos los parámetros físicos y químicos existentes, seleccionando aquellos más importantes y representativos para el ambiente en particular que se esté estudiando. En general los parámetros físicos y químicos más relevantes a medir según Barrenechea (2004) son:

- **Alcalinidad:** capacidad del agua para neutralizar ácidos presentes en una muestra de agua. El bicarbonato constituye la forma química de mayor contribución.
- **Amonio:** producto de la amonificación. Resulta de la descomposición de los nitratos mediante la acción de bacterias y hongos.
- **Conductividad eléctrica:** capacidad del agua de conducir la electricidad, relacionada con la concentración de iones disueltos.

- ***Demanda bioquímica de oxígeno:*** cantidad de oxígeno que requieren las bacterias para degradar la materia orgánica susceptible de descomposición de una muestra líquida en presencia de oxígeno.
- ***Demanda química de oxígeno:*** cantidad de oxígeno necesaria para oxidar por un agente oxidante fuerte a la materia orgánica e inorgánica.
- ***Fosfatos:*** es la forma de fósforo más asimilable por las plantas acuáticas, algas y bacterias, que usan en la síntesis de materia orgánica.
- ***Materia orgánica:*** seres vivos (plancton), detritos y efluentes cloacales, fuentes naturales.
- ***Nitratos:*** producto de la fijación del nitrógeno atmosférico por bacterias que se encuentran en las raíces de las plantas y por cianobacterias; y/o mediante el proceso de nitrificación donde bacterias transforman el amonio y amoníaco en nitrato.
- ***Nitritos:*** producto intermedio de la nitrificación y de la anaerobiosis a partir de nitrato.
- ***Oxígeno disuelto:*** es la concentración de oxígeno en el agua e indica el balance entre la fotosíntesis y la respiración, por ende, de la carga orgánica del agua.
- ***pH:*** es una medida de acidez o alcalinidad de una solución e indica la concentración de iones de hidrógeno presentes.
- ***Sólidos suspendidos totales:*** sólidos orgánicos e inorgánicos de tamaño superior a los sólidos disueltos.
- ***Sulfatos:*** su principal fuente es la disolución del yeso y la anhidrita, o la oxidación de sulfuros. Otras fuentes son el lixiviado de basurales, los humos industriales y fertilizantes con sulfato de amonio.
- ***Temperatura:*** nivel térmico del cuerpo de agua.
- ***Turbidez:*** medida de la dispersión de la luz, que se debe principalmente a las partículas suspendidas.

Las razones esgrimidas brevemente, justifican la necesidad de gestionar, monitorear los recursos naturales y de medir las variables ambientales indicadoras de su estado.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

O1. Caracterizar distintos cuerpos de agua en la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense mediante el análisis de parámetros físicos y químicos.

H1. Los cuerpos de agua en la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense presentan diferencias físicas y químicas en función de sus características hidrológicas.

METODOLOGÍA

Determinación de parámetros físicos y químicos

En cada sitio se midió *in situ*, temperatura, pH, oxígeno disuelto, conductividad, con un electrodo multiparamétrico (Lutron DO-5510). Para el análisis en laboratorio, se tomaron muestras de agua superficial de acuerdo con Alberro *et al.* (2011), en recipientes plásticos previamente lavados con HNO₃ 5 %, manteniéndolos en frío y oscuridad hasta la llegada al laboratorio donde se almacenaron a 4°C y oscuridad hasta su análisis al siguiente día, cuando no requirió la determinación inmediata. Para la medición de la demanda química de oxígeno (DQO), la muestra de agua de 60 ml se recogió en una botella de vidrio color caramelo, añadiendo una gota de H₂SO₄ concentrado (Peluso *et al.*, 2021).

Los sólidos suspendidos totales (SST), el material particulado inorgánico (MPI) y orgánico (MPO), se determinaron mediante el método de gravimetría. Se filtró un volumen variable de agua (hasta colmatar), a través de filtros de fibra de vidrio Millipore APFF (diámetro de poro 0,7 µm) previamente pesados. Una vez filtradas las muestras, los filtros fueron secados en estufa a 75°C durante 24 horas y pesados nuevamente en la misma balanza de precisión que fueron pesados con anterioridad. Por diferencia en el peso de los filtros antes (PF₁) y después del filtrado (PF₂); y conociendo el volumen filtrado (V) se calculó la concentración de SST en mg/L: $SST = (PF_2 - PF_1) / V$. Luego los filtros fueron combustiónados a 500°C en una mufla durante cinco horas para eliminar la materia orgánica y fueron nuevamente pesados (PF₃). Obteniendo de esta forma la concentración de material particulado inorgánico (MPI) y orgánico (MPO) en mg/L, por diferencia: $MPI = (PF_3 - PF_1) / V$ y $MPO = SST - MPI$ (APHA, 2005).

Para las mediciones de solutos se utilizó un espectrofotómetro HACH DR-1900 (HACH Company, EEUU) siguiendo los métodos del manual de procedimientos de espectrofotómetro HACH DR-1900 (www.hach.com) para cada análisis. Para los solutos disueltos, se filtraron las muestras con filtros Millipore APFF (diámetro de poro 0,7 μm), midiendo el amonio ($\text{NH}_4\text{-N}$) inmediatamente después de la filtración (método N° 8155). Para las determinaciones de nitrato ($\text{NO}_3\text{-N}$) y fosfato ($\text{PO}_4\text{-P}$) disueltos, las muestras se almacenaron a -20°C hasta su análisis (método N° 8192 y 8048, respectivamente). El cloruro (Cl^-) y el nitrito (NO_2) se midieron a partir de muestras de agua sin filtrar utilizando los métodos N° 8113 y 8507, respectivamente. La demanda química de oxígeno (DQO) se determinó por el método N° 8000 (Peluso *et al.*, 2021).

Para la determinación de clorofila a (chl a) y el carbono orgánico disuelto (COD), las muestras de agua se filtraron con un filtro de fibra de vidrio calcinado (tamaño de poro de 0,45 μm , Whatman GF/F). En el caso de la clorofila a, los filtros se congelaron durante 24 h para romper las membranas de las algas. Los pigmentos fotosintéticos se extrajeron del filtro con etanol absoluto a $60\text{-}70^\circ\text{C}$. Luego de 24 h a 4°C , las concentraciones de clorofila se midieron con un espectrofotómetro y se calcularon siguiendo las ecuaciones dadas en Marker (1980). El COD se determinó a partir de las muestras de agua filtradas (acidificada con H_2SO_4) siguiendo las recomendaciones de (Sharp *et al.*, 1993) y según el método de oxidación del catalizador Pt a alta temperatura (analizador Shimadzu TOC-5000A, técnica SM 5310B) (Peluso *et al.*, 2021). La Demanda Biológica de Oxígeno (DBO_5) fue analizada siguiendo lo propuesto por los métodos estándar para el análisis de agua y aguas residuales, APHA (Clesceri *et al.*, 1986).

Las mediciones se realizaron en la Universidad Nacional de San Martín (UNSAM) junto a la Dra. Julieta Peluso, becaria postdoctoral del CONICET, perteneciente al Instituto de Investigación Ingeniería Ambiental (IIIA, 3iA).

Análisis estadísticos

Para integrar la información generada durante el monitoreo, se utilizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) basado en una matriz de correlaciones sin transformación

de los datos (Di Rienzo *et al.*, 2014). Técnica estadística multivariada utilizada para determinar parámetros importantes que puedan explicar la mayoría de las variaciones de un sistema, permitiendo reducir el número de variables a un pequeño número de componentes que explican la variabilidad preservando las relaciones entre datos originales (Tabachnick *et al.*, 2007).

RESULTADOS

Determinación de parámetros físicos y químicos

En la Tabla 2 se muestran los datos crudos de las mediciones de los parámetros físicos y químicos obtenidos para cada sitio de estudio en cada uno de los muestreos.

El Análisis de Componentes Principales realizado explicó, en la Figura 9, el 40 % de la varianza total. El componente 1 (CP1) se correlacionó directamente con el COD, pH y los fosfatos totales, e inversamente con los SST, el MPO, MPI, los nitratos disueltos y totales (explicando el 23,5 % de la varianza). Mientras que el componente 2 (CP2) estaba directamente correlacionado con el oxígeno, la conductividad, dureza, los cloruros, sulfatos, fosfatos disueltos, nitritos y amonio, e inversamente con la alcalinidad y temperatura (explicando el 16,5 % de la varianza). Este ordenamiento de los sitios en las distintas fechas de muestreo con las variables físicas y químicas asoció al río Luján a los valores altos de todas las variables correlacionadas con el CP2, mientras que los demás sitios a las variables del CP1 o a los valores bajos de las correspondientes al CP2. A su vez, en el ordenamiento se observó que, en cada una de las fechas de muestreos, los distintos sitios se agrupan según la estación, menos el río Luján que se encuentra alejado de ellos, con excepción del mes de septiembre 2019 (Figura 9).

	SEPTIEMBRE 2018					DICIEMBRE 2018					MARZO 2019					JUNIO 2019					SEPTIEMBRE 2019				DICIEMBRE 2019			
PARÁMETRO/SITIO	RC	RPP	RLP	CA	RL	RC	RPP	RLP	CA	RL	RC	RPP	RLP	CA	RL	RC	RPP	RLP	CA	RL	RC	RPP	CA	RL	RC	RPP	CA	RL
Temperatura (°C)	18	19,5	18,5	18	20	20,7	22,4	22,3	20,5	20	22,1	22,9	20,4	20,8	20,2	13	16,3	15	16	14	18,85	20,5	20	19	24,4	25,4	24	24
O ₂ (%)	20,4	20,9	18,5	17,8	21,6	17,4	18,9	15,8	14,3	17,2	11,7	15,2	8,7	17,7	12,6	20,9	21,7	20,8	18,5	20,6	20,9	22,4	19,8	18	20,9	25,2	21,3	21,3
pH	8,09	7,69	7,89	7,92	7,60	6,06	6,07	6,89	7,06	6,53	6	6,5	6,5	6	6	6	6	6	5,5	6	6	6,5	6,5	6	5,5	6	6	6
Conductividad (µs/cm)	158	163	235	156	326	217,2	260,3	197	197,8	395	200	197	340	195	325	158	160	208	165	371	340	941	360	498	362	356	358	447
Alcalinidad (mg/L CaCO ₃)	2,7	2,8	24,8	2,9	32,8	315	3,5	18	3,5	28	3,5	2,5	3,5	2	28	18	4	20	3	20	3,5	Int.	3	28	1,5	1	2	3
Dureza (mg/L CaCO ₃)	3	4	20	110	24	3,5	4	3,5	3,5	20	20	4	4	4	24	28	4	32	20	32	22	26	24	24	-	-	-	-
SST (mg/L)	23,54	20,61	19	20,95	24,68	36,19	39,71	19,5	9,82	24,85	29,63	47,37	47,62	33,33	42,86	58,67	17,6	44,52	26,67	32,33	116	43,33	30,61	45,2	9,37	26	28,64	14,22
MPI (mg/L)	19,23	16,21	13,25	15,48	19,36	20,48	29,43	10,5	3,09	13,94	14,81	26,32	38,1	8,33	32,14	52	12,4	40,97	25	25,67	92,67	18,75	11,82	20	0,62	9,75	13,86	0,89
MPO (mg/L)	4,31	4,4	5,75	5,47	5,32	15,71	10,28	8,94	6,73	10,91	14,82	21,05	9,52	25	10,72	6,67	5,2	3,55	1,67	6,66	23,33	24,58	18,79	25,20	8,75	16,25	14,78	13,33
DBO ₅ (mg/L)	0,41	0,33	0,76	0,20	1,30	2,71	1,36	1,52	1,04	4,03	0,58	0,19	1,64	0,34	2,56	0,75	0,85	2,03	0,70	1,53	5,44	3,37	2,89	3,53	-	-	-	-
COD (mg/L)	15,81	29,18	11,33	17,10	23,63	8,81	8,06	6,67	8,92	9,35	4,89	4,73	5,22	5,12	5,99	5,86	7,10	6,86	6,68	8,63	4,81	4,12	4,39	4,83	-	-	-	-
DQO (mg/L)	18	11	21	10	19	29	27	26	30	38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amonio (mg/L)	0,07	0,06	0,82	0,07	1,80	0,12	0,44	0,09	0,05	1,76	0,18	0,07	0,41	0,04	0,63	0,22	0,19	0,72	0,18	1,72	0,35	0,05	0,32	1,12	Nd.	0,18	0,26	0,8
Cloruros (mg/L)	3	2,1	4,5	2,3	5	20,2	18,8	19,6	17	16,3	4,4	5,6	7,8	4,4	10,4	34	28	36	8,7	18,8	7,6	12,8	7,4	11,8	10,6	7,8	7,8	14,4
Nitritos (mg/L)	0,007	0,002	0,036	0,018	0,041	0,017	0,002	Nd.	Nd.	0,007	0,004	0,002	0,002	0,009	0,017	Nd.	0,001	0,006	0,007	0,034	0,008	0,003	0,003	0,012	0,002	0,004	0,002	0,014
Sulfatos (mg/L)	19	15	23	17	29	18	25	21	22	25	21	21	21	17	30	10	25	29	23	40	28	31	33	41	34	31	34	42
Nitratos disueltos (mg/L)	0,03	0,10	0,14	0,13	0,16	2,80	0,03	1,5	0,04	3,10	0,02	2,7	1,6	2,2	1,5	1,2	0,7	1,4	0,6	1,3	0,03	0,62	0,18	0,09	0,02	0,19	0,01	0,34
Fosfatos disueltos (mg/L)	0,15	0,69	0,43	0,30	0,91	0,19	0,43	0,28	0,27	1,30	0,38	0,33	0,38	0,26	0,97	0,18	0,4	0,53	0,39	1,15	0,03	0,62	0,18	0,09	0,33	0,28	0,27	0,86
Nitratos totales (mg/L)	0,74	0,47	0,90	1,01	1,84	1	0,50	0,60	0,70	1,30	0,1	5,3	3,8	4,2	1,3	Nd.	0,1	1,6	0,1	0,7	0,42	1,9	0,15	1	0,09	0,19	0,06	1,9
Fosfatos totales (mg/L)	3,70	4,30	6	3,50	4,40	4,16	2,42	3,64	3,42	2,28	0,4	0,35	0,99	0,49	1,77	1,79	1,5	1,16	1,24	2,74	0,62	0,49	0,6	0,94	0,41	0,01	2,47	0,86
Clorofila a (µg/L)	1,85	2,10	2,60	0,83	2,03	21,77	7,46	1,24	2,61	6,84	0	0	10,25	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 2. Parámetros físicos y químicos del agua superficial. Valores obtenidos de los diferentes sitios en los distintos muestreos. RC: Río Capitán; RPP: Río Paraná de las Palmas; RLP: Río de la Plata; CA: Canal Arias; RL: Río Luján. SST: Sólidos Suspendidos Totales; MPI: Material Particulado Inorgánico; MPO: Material Particulado Orgánico; DBO₅: Demanda Biológica de Oxígeno a 5 días; COD: Carbono Orgánico Disuelto; DQO: Demanda Química de Oxígeno. Int: Interferencia en la medición. Nd: No detectado, por debajo del rango de medición; -: no determinado.

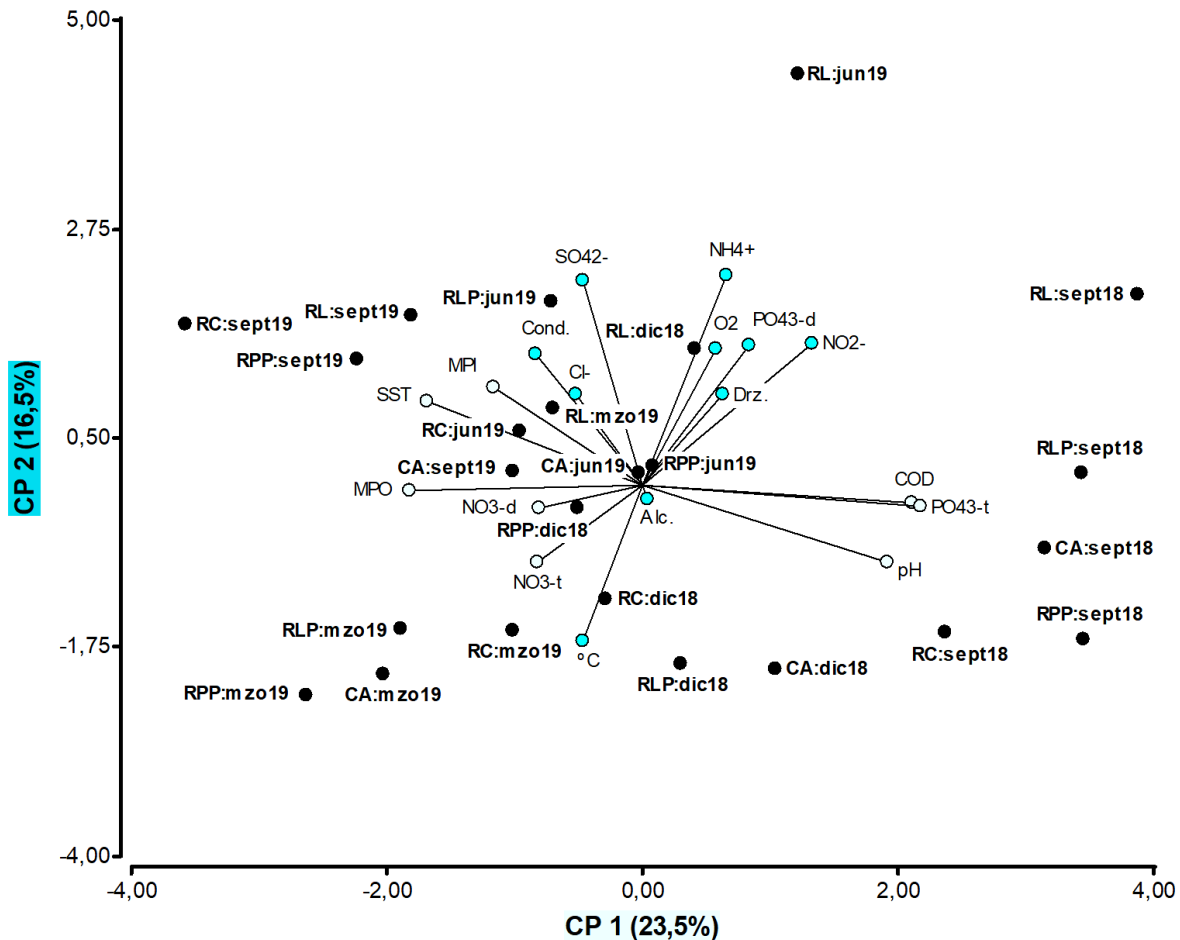


Figura 9. ACP de parámetros físicos y químicos incluyendo todos los muestreos. RC: Río Capitán, RPP: Río Paraná de las Palmas, RLP: Río de la Plata, CA: Canal Arias, RL: Río Luján. Sept18: septiembre 2018, dic18: diciembre 2018, mzo19: marzo 2019, jun19: junio 2019, sept19: septiembre 2019. SST: Sólidos Suspendedos Totales, MPI: Material Particulado Inorgánico, MPO: Material Particulado Orgánico, COD: Carbono Orgánico Disuelto, Cond.: conductividad, Drz.: dureza, Alc.: alcalinidad. Círculo celeste claro al final de vector: variable del CP1; círculo turquesa: CP2.

En este análisis se tuvieron en cuenta los parámetros que pudieron ser medidos en todos los muestreos (exceptuando así al muestreo de diciembre 2019), siendo el sitio y fecha de muestreo los criterios de clasificación. Al incluir todos estos datos, se obtuvo un bajo porcentaje de correlación entre los componentes resultantes y las variables, explicando solo el 40 % de la varianza total, identificando cierto ordenamiento de los sitios

en relación con las variables según tiempo de muestreo, pero sin llegar a observar las diferencias entre sitios por muestreo. Por ello, de manera exploratoria, se realizó un ACP para cada tiempo de muestreo (Figuras 10, 11, 12, 13, 14, 15 y 16).

El ordenamiento de los sitios con las variables físicas y químicas en septiembre 2018 explicó el 73 % de la varianza total (Figura 10). El CP1 se correlacionó directamente con los fosfatos disueltos, sulfatos, nitritos, cloruros, la DBO₅, conductividad, alcalinidad, amonio, nitratos disueltos y totales, clorofila a, DQO, e inversamente con el pH (explicando el 50,4 % de la varianza). El CP2 se correlacionó directamente con el oxígeno, COD, MPI, los SST y la temperatura, e inversamente con el MPO, los fosfatos totales y dureza (explicando el 22,6 % de la varianza). El ordenamiento de los parámetros físicos y químicos reveló una asociación del río Luján con los valores altos de las variables correlacionadas con el CP1, mientras que el río Paraná de las Palmas con los valores altos de los parámetros correlacionados directamente con el CP2. Se observó al río Luján hacia la derecha del gráfico resultante del ACP y al río Paraná, Capitán y canal Arias hacia la izquierda mostrando la influencia del Paraná sobre estos otros dos cuerpos de agua. La distribución opuesta del río Luján y Capitán muestra la asociación con los valores altos y bajos de las variables correlacionadas con el CP1, respectivamente (Figura 10).

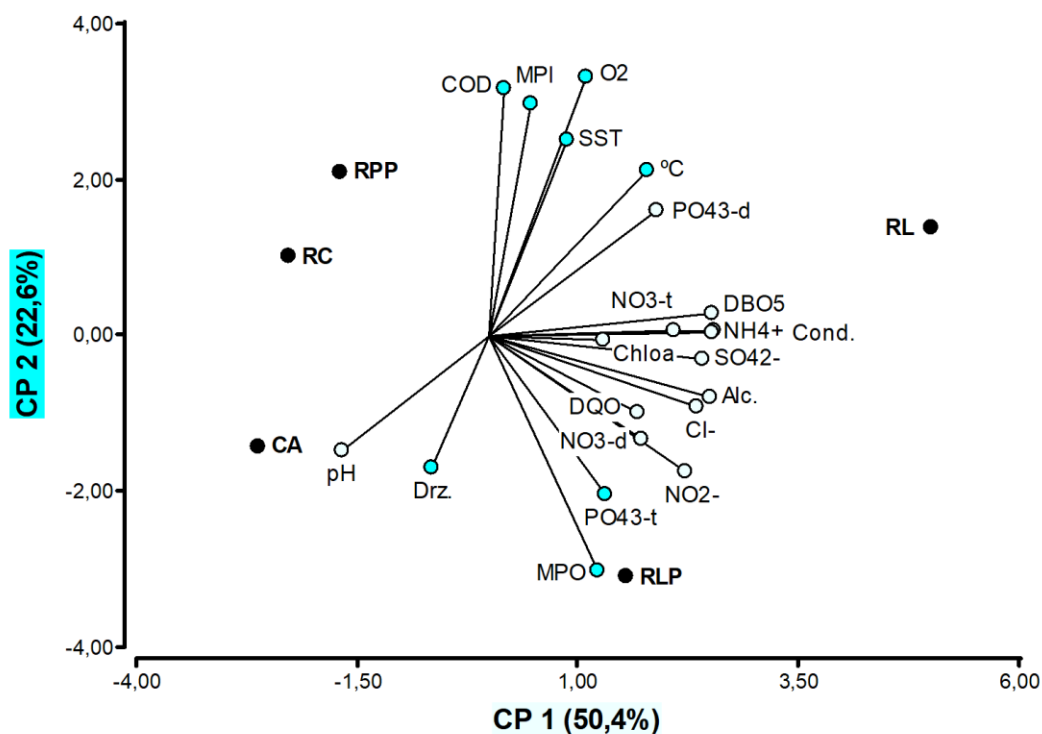


Figura 10. ACP de parámetros físicos y químicos en septiembre 2018. RC: Río Capitán, RPP: Río Paraná de las Palmas, RLP: Río de la Plata, CA: Canal Arias, RL: Río Luján. SST: Sólidos Suspendidos Totales, MPI: Material Particulado Inorgánico, MPO: Material Particulado Orgánico, DBO5: Demanda Biológica de Oxígeno a 5 días, COD: Carbono Orgánico Disuelto, DQO: Demanda Química de Oxígeno, Cond.: conductividad, Drz.: dureza, Alc.: alcalinidad, Chloa: clorofila a. Círculo celeste claro al final de vector: variable del CP1; círculo turquesa: CP2.

En diciembre 2018 (Figura 11), el ordenamiento de los sitios con los parámetros físicos y químicos en el ACP explicó el 75,5 % de la varianza total. El CP1 se correlacionó directamente con la conductividad, dureza, DBO₅, DQO, el COD, amonio, los nitratos disueltos y totales, fosfatos disueltos, e inversamente con la temperatura y fosfatos totales (explicando el 42,1 % de la varianza). El CP2 se correlacionó directamente con la alcalinidad, clorofila a, el oxígeno, MPO, MPI, los SST, cloruros y nitritos, e inversamente con el pH y los sulfatos (explicando el 33,4 % de la varianza). La distribución de los sitios asoció al río Luján con los valores altos de las variables correlacionadas directamente con el CP1 y al Capitán con los valores altos de las correlacionadas directamente con el CP2. Mientras que los otros

tres sitios con las inversamente correlacionadas con los dos componentes y por ende con los valores más bajos de las demás variables, revelando la influencia del Río de la Plata en el Paraná y canal Arias (Figura 11).

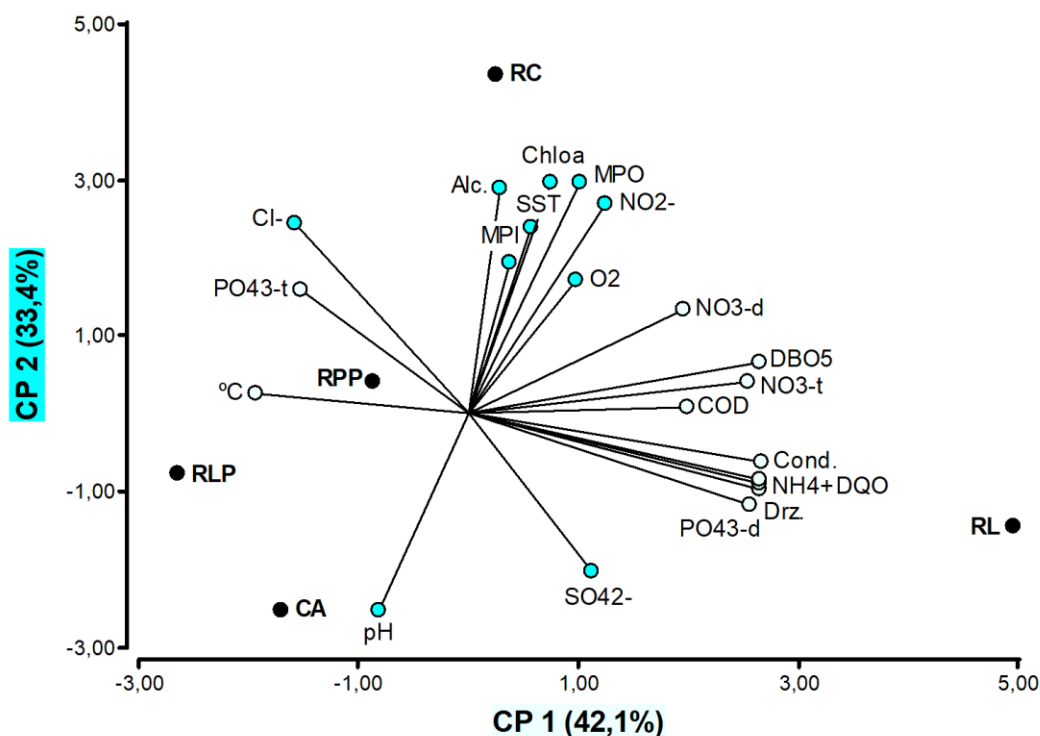


Figura 11. APC de parámetros físicos y químicos en diciembre 2018. RC: Río Capitán, RPP: Río Paraná de las Palmas, RLP: Río de la Plata, CA: Canal Arias, RL: Río Luján. SST: Sólidos Suspendidos Totales, MPI: Material Particulado Inorgánico, MPO: Material Particulado Orgánico, DBO5: Demanda Biológica de Oxígeno a 5 días, COD: Carbono Orgánico Disuelto, DQO: Demanda Química de Oxígeno, Cond.: conductividad, Drz.: dureza, Alc.: alcalinidad, Chloa: clorofila a. Círculo celeste claro al final de vector: variable del CP1; círculo turquesa: CP2.

En marzo 2019 (Figura 12), el ACP explicó el 77,5 % de la varianza total. El CP1 se correlacionó directamente con la conductividad, alcalinidad, DBO₅, el MPO, amonio, COD, los cloruros, sulfatos, fosfatos disueltos y totales, e inversamente con la temperatura y los SST (explicando el 56 % de la varianza). El CP2 se correlacionó directamente con el pH, MPI, la clorofila a, los nitratos disueltos y totales, e inversamente con el oxígeno, dureza y nitritos (explicando el 21,6 % de la varianza). El río Luján y Río de la Plata, se asociaron a los valores

más altos de las variables directamente correlacionadas con el CP1 y 2, respectivamente. Mientras que el río Paraná de las Palmas junto al canal Arias y río Capitán, a los más bajos y a las inversamente correlacionadas con el CP1 y 2, respectivamente. Se observó la influencia del Paraná en el canal Arias (Figura 12).

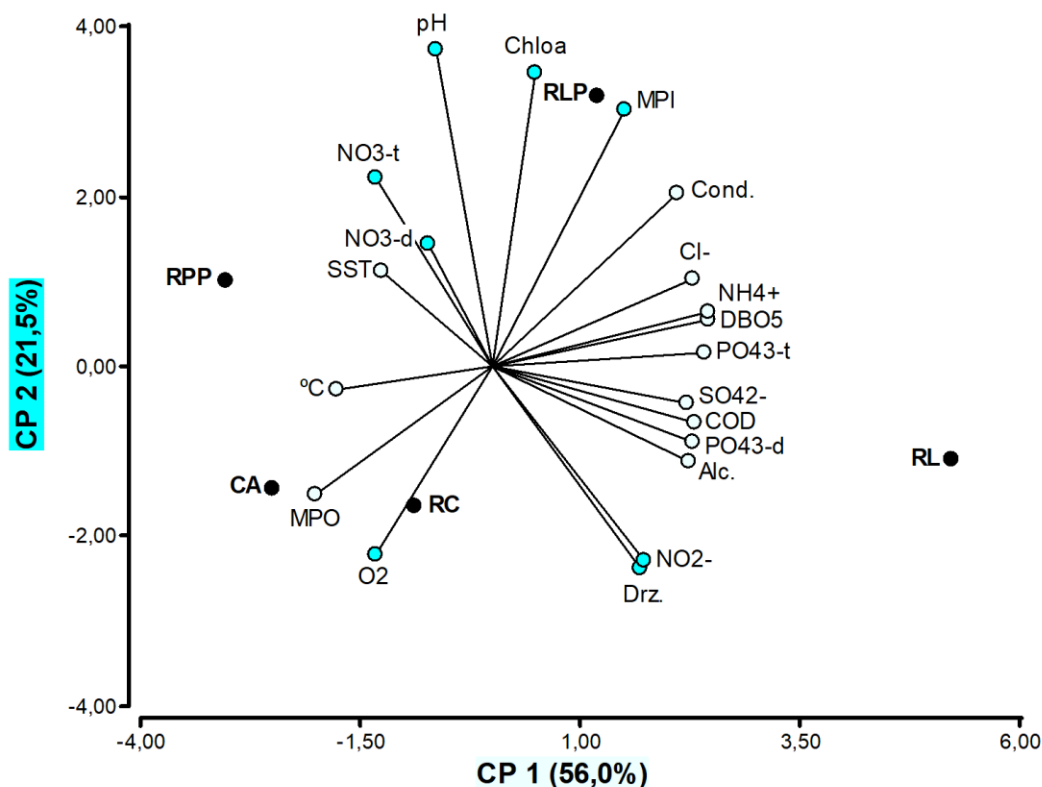


Figura 12. APC de parámetros físicos y químicos en marzo 2019. RC: Río Capitán, RPP: Río Paraná de las Palmas, RLP: Río de la Plata, CA: Canal Arias, RL: Río Luján. SST: Sólidos Suspendidos Totales, MPI: Material Particulado Inorgánico, MPO: Material Particulado Orgánico, DBO5: Demanda Biológica de Oxígeno a 5 días, COD: Carbono Orgánico Disuelto, Cond.: conductividad, Drz.: dureza, Alc.: alcalinidad, Chloa: clorofila a. Círculo celeste claro al final de vector: variable del CP1; círculo turquesa: CP2.

El ordenamiento de los sitios en junio 2019 con las variables físicas y químicas mediante el ACP explicó el 74,4 % de la varianza total (Figura 13). El CP1 se correlacionó directamente con la alcalinidad, conductividad, los nitratos disueltos, fosfatos disueltos, nitritos, el amonio, pH, MPO, la dureza, DBO₅, los nitratos y fosfatos totales (explicando el

44,7 % de la varianza). El CP 2 se correlacionó directamente con los cloruros, SST, el MPI, oxígeno, e inversamente con la temperatura, el COD y los sulfatos (explicando el 29,7 % de la varianza). El río Luján se asoció a los valores altos de las variables correlacionadas con el CP1. El Río de la Plata y el Capitán con los valores altos de los parámetros directamente correlacionados con el CP2, mientras que el río Paraná y canal Arias con los bajos revelando la asociación entre ellos (Figura 13).

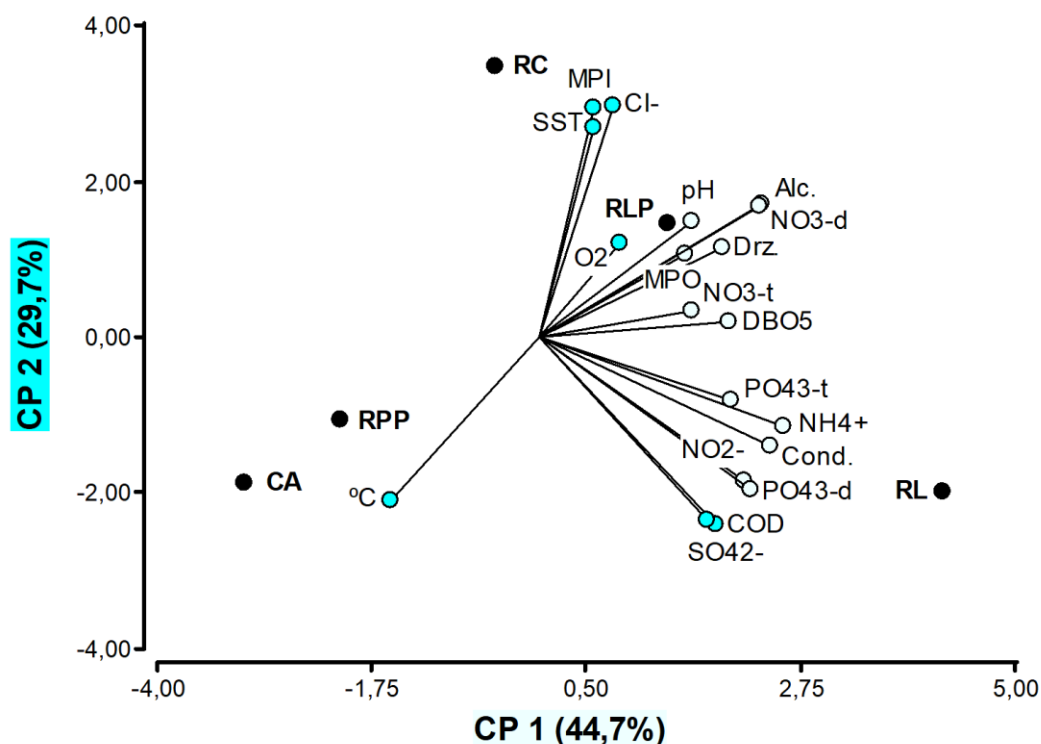


Figura 13. APC de parámetros físicos y químicos en junio 2019. RC: Río Capitán, RPP: Río Paraná de las Palmas, RLP: Río de la Plata, CA: Canal Arias, RL: Río Luján. SST: Sólidos Suspendidos Totales, MPI: Material Particulado Inorgánico, MPO: Material Particulado Orgánico, DBO₅: Demanda Biológica de Oxígeno a 5 días, COD: Carbono Orgánico Disuelto, Cond.: conductividad, Drz.: dureza, Alc.: alcalinidad. Círculo celeste claro al final de vector: variable del CP1; círculo turquesa: CP2.

En el ACP de septiembre 2019 no se incluye al Río de la Plata, ya que por el repetitivo hurto de las jaulas se dejaron de tomar las muestras de agua, al no poder realizar todas las mediciones planteadas en el diseño. El ordenamiento resultante del análisis explicó el 82,5 % de la varianza total (Figura 14). El CP1 se correlacionó directamente con los nitritos y el

COD, e inversamente con el oxígeno, pH, la temperatura, conductividad, dureza, los nitratos disueltos, totales y fosfatos disueltos (explicando el 53,1 % de la varianza). El CP2 se correlacionó directamente con los cloruros, sulfatos, fosfatos totales, el amonio, MPO, la alcalinidad, e inversamente el MPI, los SST y la DBO₅ (explicando el 29,4 % de la varianza). El río Luján se asoció a los valores altos de los parámetros directamente correlacionados con el CP2, mientras que el río Capitán con los valores altos de los inversamente correlacionados con el mismo. Por otro lado, el río Paraná se asoció con los valores más altos de las variables correlacionadas inversamente con el CP1 (Figura 14).

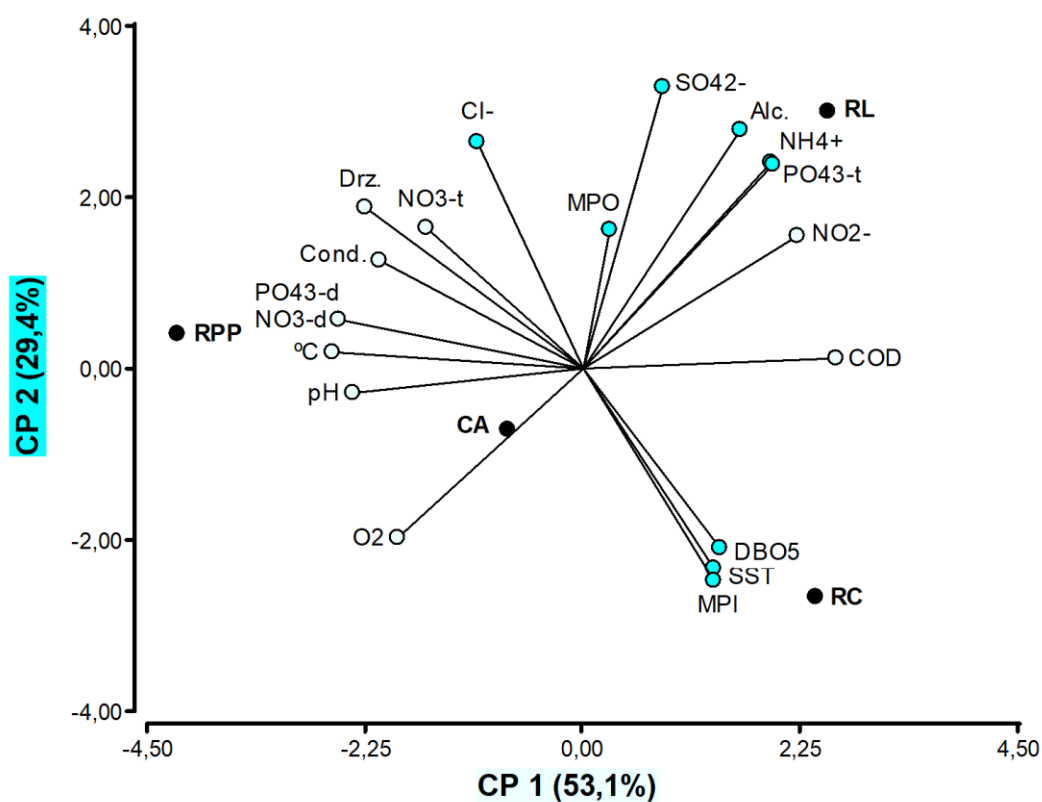


Figura 14. ACP de parámetros físicos y químicos en septiembre 2019. RC: Río Capitán, RPP: Río Paraná de las Palmas, RLP: Río de la Plata, CA: Canal Arias, RL: Río Luján. SST: Sólidos Suspendidos Totales, MPI: Material Particulado Inorgánico, MPO: Material Particulado Orgánico, DBO₅: Demanda Biológica de Oxígeno a 5 días, COD: Carbono Orgánico Disuelto, Cond.: conductividad, Drz.: dureza, Alc.: alcalinidad. Círculo celeste claro al final de vector: variable del CP1; círculo turquesa: CP2.

En diciembre 2019 el ordenamiento de los sitios con los parámetros físicos y químicos en el ACP explicó el 82,4 % de la varianza total (Figura 15). El CP1 estaba directamente correlacionado con la alcalinidad, conductividad, el amonio, los nitritos, cloruros, sulfatos, nitratos disueltos (explicando el 57 % de la varianza), mientras que el CP2 con los SST, el MPO, MPI, pH, oxígeno, la temperatura y los fosfatos totales (explicando el 25,4 % de la varianza). El río Luján se asoció a los valores altos del CP1, mientras que el Paraná y canal Arias a los altos del CP2. Por su parte, el río Capitán a los valores más bajos de las variables correlacionadas a ambos componentes principales (Figura 15).

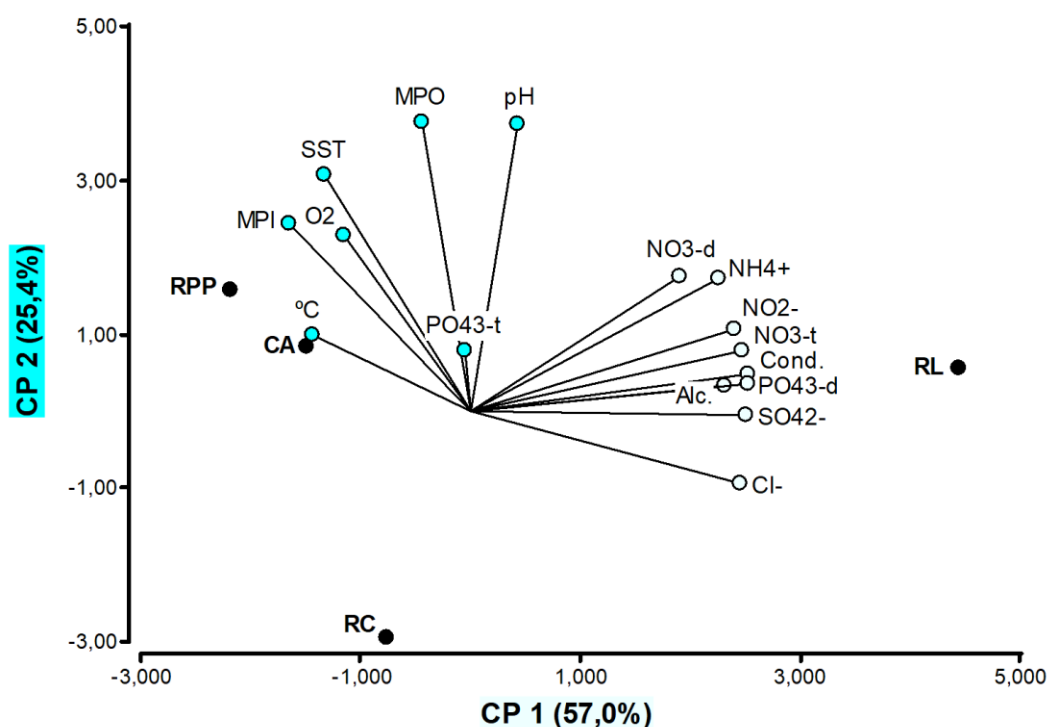


Figura 15. ACP de parámetros físicos y químicos en diciembre 2019. RC: Río Capitán, RPP: Río Paraná de las Palmas, RLP: Río de la Plata, CA: Canal Arias, RL: Río Luján. SST: Sólidos Suspendidos Totales, MPI: Material Particulado Inorgánico, MPO: Material Particulado Orgánico, DBO5: Demanda Biológica de Oxígeno a 5 días, COD: Carbono Orgánico Disuelto, Cond.: conductividad, Drz.: dureza, Alc.: alcalinidad. Círculo celeste claro al final de vector: variable del CP1; círculo turquesa: CP2.

Al obtener un patrón similar en los gráficos de los ACP para cada fecha de muestreo, se realizó otro análisis en el que los muestreos fueron tenidos en cuenta como réplicas para

aumentar la potencia e incluir la variabilidad de los sitios. Al reducir los datos, se visualizó un ordenamiento de los sitios con las variables físicas y químicas que explicó el 65,8 % de la varianza total (Figura 16). El CP1 se correlacionó directamente el DQO, DBO₅, amonio, los nitritos, nitratos totales, fosfatos disueltos, sulfatos, la conductividad y dureza (explicando el 35,3 % de la varianza). El CP2 se correlacionó directamente con los SST, cloruros, fosfatos totales, el MPI, MPO, pH, la clorofila a y alcalinidad, e inversamente con el oxígeno y la temperatura (explicando el 30,5 % de la varianza). El río Luján se asoció a los valores más altos de los parámetros correlacionados con el CP1, mientras que el río Capitán con los más bajos. El Río de la Plata se asoció a los valores más altos de las variables del CP2, mientras que el río Paraná y canal Arias a los más bajos (Figura 16).

Tras analizar los datos crudos y todos los ordenamientos de los ACP, se observó que el río Luján se asoció siempre a los valores más altos de ciertos parámetros. También se reveló la influencia del río Paraná de las Palmas en el canal Arias y río Capitán. El río Paraná y canal Arias se asociaron a los valores más bajos de ciertos parámetros, mientras que el río Capitán varió entre esto y los valores más altos de los parámetros correlacionadas al componente diferente al que se asoció el Luján.

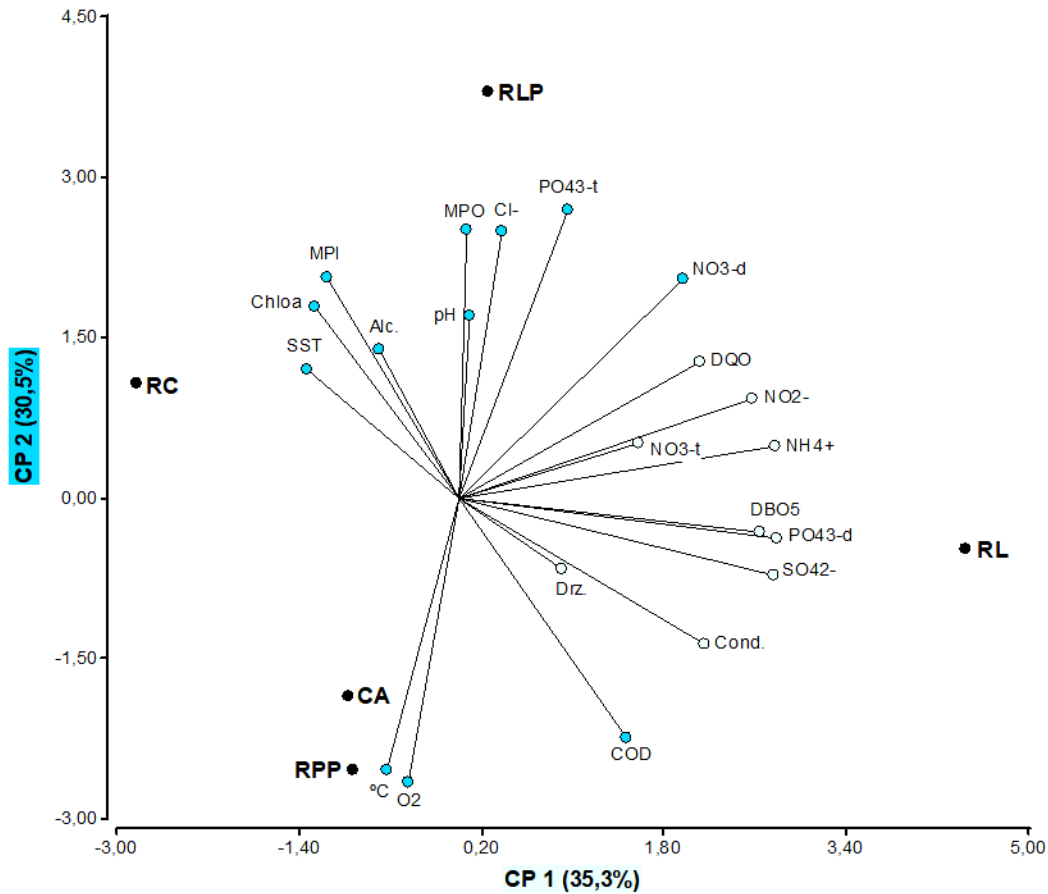


Figura 16. ACP de parámetros físicos y químicos de todos los sitios. Se utilizaron las fechas muestreos como réplicas del sitio. RC: Río Capitán, RPP: Río Paraná de las Palmas, RLP: Río de la Plata, CA: Canal Arias, RL: Río Luján. SST: Sólidos Suspendidos Totales, MPI: Material Particulado Inorgánico, MPO: Material Particulado Orgánico, DBO5: Demanda Biológica de Oxígeno a 5 días; COD: Carbono Orgánico Disuelto; DQO: Demanda Química de Oxígeno, Cond.: conductividad, Drz.: dureza, Alc.: alcalinidad. Círculo celeste claro al final de vector: variable del CP1; círculo turquesa: CP2.

DISCUSIÓN

En Argentina se sancionó en 1991 la Ley Nacional 24051 (decreto 831/93), que regula los niveles límites de residuos peligrosos en cuerpos de agua, pero dada su falta de actualización y demora en su reglamentación, se dificulta la aplicación de soluciones a las problemáticas ambientales registradas en distintos cuerpos de agua de nuestro país, como es el caso de los ríos estudiados. Tal como fue indicado por Maiztegui (2009), la gestión de los residuos domiciliarios, agropecuarios e industriales resulta insuficiente evidenciado por el aumento de fuentes puntuales y/o difusas provenientes de procesos tales como la lixiviación, difusión y escorrentía que generan modificaciones en los valores de los parámetros físicos y químicos naturales del ambiente acuático perjudicado (Hoffman *et al.*, 2002).

Los Análisis de Componentes Principales, demostraron que, en cada muestreo los valores más altos de amonio, fosfatos, nitratos, sulfatos se observaron en el río Luján, mientras que los más bajos en el río Paraná de las Palmas, canal Arias o río Capitán, según la fecha. Estos sitios siempre se observaron asociados a los valores altos de los sólidos suspendidos totales, el material particulado orgánico e inorgánico y el oxígeno. A su vez, se visualizó la influencia del río Paraná en el canal Arias y río Capitán, como también la influencia del Río de la Plata en el Paraná y canal Arias. En septiembre 2019, los sitios presentaron mayores semejanzas en los valores de las variables físicas y químicas determinadas, observando un aumento importante en las concentraciones del río Capitán, asociado al aumento de los sólidos suspendidos totales y material particulado inorgánico. Tal como expusieron O'Farrell *et al.*, (2002), Pizarro *et al.*, (2007) y Lombardo *et al.*, (2010), el comportamiento de septiembre 2019 sería consecuente de la influencia que ejerce el Paraná a través del canal Arias en los días de creciente, produciendo un importante aporte de agua y un aumento en la magnitud del caudal del Luján. El altísimo caudal del río Paraná de las Palmas (alrededor de 17300 m³ por segundo) tendría, presumiblemente, un efecto depurador muy importante (Colombo *et al.*, 1995, 1997; Boltovskoy *et al.*, 1997). Los efectos negativos de las actividades antrópicas que se realizan en su curso y sobre todo del aporte de sus márgenes del último tramo densamente pobladas con áreas ganaderas y de

cultivo (Mesa *et al.*, 2015; Aquino, 2018), e incluyendo varias ciudades mayores (Rosario, San Nicolás, San Pedro, Zárate, Campana, Escobar) con numerosas instalaciones industriales, eléctricas, petroquímicas, medicinales, metalúrgicas, areneras y papeleras (Peluso, 2020), se ven disminuidos, a pesar de que la mayoría de los efluentes industriales, así como los desechos domiciliarios, que son vertidos en el río con escaso o nulo tratamiento previo. Este efecto, demuestra su influencia en el canal Arias y río Luján, al aportar al caudal de los mismos, los días de creciente. En cambio, en el río Capitán, por su menor tamaño (profundidad, ancho), la influencia del Paraná provocaría un gran aumento en los sólidos suspendidos totales, material particulado y fosfatos, por su menor poder de dilución y caudal. Por ende, el canal Arias tiene un suministro significativo del río Paraná de las Palmas y según el régimen hidrológico (fluctuaciones del caudal del Paraná más régimen de mareas y sudestadas del Río de la Plata) influye en el Luján o no y el Paraná en el Capitán o no, consecuente del cambio en la dirección de las masas de agua (Pizarro *et al.*, 2007; Lombardo *et al.*, 2010).

Sin embargo, cuando esto no ocurrió, el río Luján presentó las concentraciones más altas de prácticamente todos los parámetros, viéndose acentuado en los muestreos de septiembre 2018, marzo 2019, junio 2019 y diciembre 2019; exceptuando a la dureza en septiembre 2018, los SST, MPO, nitratos disueltos y totales en marzo 2019, los SST, MPI, MPO, cloruros, nitratos totales en junio 2019, y los SST, MPI, MPO en diciembre 2019. Esto podría deberse a que se descargan cantidades muy significativas de contaminantes industriales (principalmente de curtiembres, frigoríficos y plantas que procesan pulpa de madera), como así también abundantes desechos domiciliarios, provenientes del tramo medio e inferior del mismo Luján. A su vez, el curso de este río recibe efluentes de la industria láctea, química, textil, cárnica, curtiduría, depurado de enzimas, aguas residuales de varias ciudades, en algunas sin previo tratamiento, y de alcantarillado (Padulles *et al.*, 2017). Además, a aproximadamente 3 km de su desembocadura en el estuario del Río de la Plata, aguas arriba y muy cercano al sitio de muestreo, recibe al río Reconquista, uno de los ríos más contaminados al concentrar los desechos industriales y domiciliarios de una zona

densamente poblada e industrializada de los suburbios de Buenos Aires (Loez y Salibián, 1990; Rovedatti *et al.*, 2001; O'Farrell *et al.*, 2002).

A raíz de lo observado y planteado con anterioridad, se podría afirmar que la hidrología de esta zona está regulada principalmente por el río Paraná de las Palmas y las variaciones ocasionadas por mareas y sudestadas del Río de la Plata (Pizarro *et al.*, 2007). Lo que conllevaría a el comportamiento de las variables de los ríos, sus variaciones según la altura y dirección del agua, influenciando más a unos u otros cuerpos de agua cercanos, como sucede en el caso del canal Arias (Lombardo *et al.*, 2010) y río Capitán. Por ende, el régimen hidrológico sería el principal factor de regulación de las variaciones entre muestreos. La crecida del río actuaría incrementando el volumen de agua, produciendo la dilución de las concentraciones de parámetros tales como alcalinidad, SST, MPI, cloruros, nitritos, nitratos disueltos, fosfatos totales en los diferentes sitios. Mientras que la bajante aumentaría los sólidos en suspensión, resuspendiendo en el agua aquello que se encuentre biodisponible en el sedimento, tal como también expuso Cataldo (2001). Esto se evidenció, en mayor medida, en el aumento de la concentración de algunas variables (alcalinidad, SST, MPI, amonio, cloruros, nitratos disueltos y fosfatos totales) del río Capitán frente a niveles hídricos bajos, pero también frente a sudestadas cargadas de sedimentos, el no tener la misma dilución que el Paraná, por su menor cauce y escaso caudal.

La temperatura del agua no presentó variaciones anuales importantes. A diferencia de los valores registrados por Cataldo (2001), la mínima medida en este trabajo fue más alta y la máxima más baja, siendo similares a los obtenidos por O'Farrell *et al.* (2002) y Lombardo *et al.* (2010). El pH presentó valores similares entre sitios y en semejanza a los resultados obtenidos por los trabajos nombrados. Los valores más altos de oxígeno disuelto fueron obtenidos en el río Capitán y río Paraná de las Palmas, ya que la buena oxigenación (valor medio anual mayor o igual a 8 mg/L) es una característica de estos ríos en general, tal como ya se obtuvo en el río Paraná de las Palmas (Bonetto *et al.*, 1982, 1983; O'Farrell *et al.*, 1996; Cataldo, 2001) y San Antonio en particular (Cataldo, 2001), el cual se asemejaría al río Capitán. A diferencia de lo que ocurre en el canal principal del río, en algunos pequeños tributarios que transportan gran cantidad de contaminantes orgánicos, como por

ejemplo el río Reconquista, la concentración de oxígeno disuelto puede alcanzar valores cercanos a cero, con una media anual de 3,02 mg /L (Loez y Salibián, 1990). Sin embargo, según del Giorgio *et al.* (1991) el caudal de estos tributarios no afecta los niveles de oxígeno de los ríos que alimentan, ya que la concentración media anual de oxígeno que registraron en el río Luján, en la vecindad de la desembocadura del río Reconquista fue de 7,38 mg /L, similar a lo obtenido en este trabajo, contrarrestado por la influencia del agua con alta concentración de oxígeno del Paraná (O'Farrell *et al.*, 2002), a través del canal Arias. La entrada de agua del Paraná por medio del canal Arias, provocaría un aumento del cauce principal, duplicando su profundidad y disminuyendo su contenido de nutrientes (O'Farrell *et al.*, 2002). Aunque con los movimientos de las masas de agua, en este estudio, si se llega a observar el aporte del Reconquista en el aumento de los valores de otros parámetros como conductividad, alcalinidad, dureza, amonio, cloruros, nitritos, sulfatos, nitratos, fosfatos, cuando el nivel hídrico fue bajo. Tras compararlos, con los sitios más parecidos a los estudiados, siendo los expuestos por O'Farrell *et al.* (2002) y Lombardo *et al.* (2010): río Luján río arriba a la desembocadura del Reconquista (el nuestro fue río abajo), canal Arias; y por Cataldo (2001): río Paraná, San Antonio (semejante al río Capitán). La conductividad obtenida fue más elevada, los SST más bajos al igual que la clorofila, mientras que el amonio, nitratos disueltos y totales, fosfatos disueltos y totales, cloruros, sulfatos, fueron en general, de cinco a 1000 o más veces más altos, siendo los cloruros y los sulfatos los más extremos: de 0,015 a 0,029 mg/L en O'Farrell *et al.* (2002) en comparación con 2,3 a 18,8 mg/L en este trabajo; de 0,012 a 0,024 mg/L en O'Farrell (2002) en comparación con 17 a 42 mg/L en nuestras mediciones en el canal Arias y río Luján. Este importante aumento a través de los años es consecuente del crecimiento poblacional y al incremento de la actividad industrial en los suelos aledaños a los cuerpos de agua, al extraer gran caudal de ellos y luego verter desechos sin tratamiento previo (Padulles *et al.*, 2017).

La conductividad, en septiembre y diciembre 2019, aumenta abruptamente en todos los sitios por el aumento de los sólidos suspendidos totales como consecuencia de una sudestada y nivel hídrico alto, dado en el día de muestreo de cada fecha respectivamente. Por su parte, la variación de los SST entre muestreos para cada uno de los

sitios, obteniendo los mayores valores en el río Capitán, salvo en marzo y diciembre 2019, indicaría un patrón diferencial producto del incremento de aportes minerales u orgánicos provenientes de la erosión y resuspensión del sedimento del suelo cuando el nivel hídrico es bajo, o de la influencia del Paraná o Río de la Plata debido al fenómeno de sudestada. Mientras que los niveles más bajos se observan frente a niveles hídricos normales para el cuerpo de agua. Un comportamiento similar en la variación de los SST fue reportado por Baigún *et al.* (2008) y Riglos *et al.* (2010), en sus trabajos previos en el Paraná Inferior.

Las mayores concentraciones de amonio en el río Luján seguido del Río de la Plata en cada uno de los muestreos, podría provenir de zonas agrícolas y ganaderas que se realizan río arriba al sitio de muestreo en el caso del Luján, al ser muy utilizado para fabricar abonos, o como resultado de la degradación de materia orgánica nitrogenada y materia fecal en el caso de ambos, consecuente de lo dicho, por las industrias alimenticias y por los desechos cloacales, domiciliarios provenientes de la urbanización, según Barrenechea (2004), Baigún *et al.* (2008), Riglos *et al.* (2010) y Padulles *et al.* (2017). Adicionalmente, el aumento o las mayores concentraciones de amonio también podría ser consecuente del uso de productos de limpieza domésticos e industriales y la presencia de sus desechos en los ríos, al igual que mayores concentraciones de cloruros (Barrenechea, 2004; Padulles *et al.*, 2017), tal como se observa también en el río Luján, Río de la Plata, seguido del Paraná en marzo y septiembre 2019, y del río Capitán en el resto de los muestreos.

Las mayores concentraciones registradas de nitratos en el río Luján y Paraná para los muestreos de marzo y septiembre de 2019 se debería al uso de fertilizantes producto de la agricultura extensiva. Mientras que la mayor concentración de nitritos en el río Luján podría indicar la contaminación de carácter fecal frecuente. El aumento o mayores niveles de fosfatos, evidenciable en el río Luján en todos los muestreos, estaría asociado con actividades humanas, como el uso de fertilizantes, vertidos de detergentes, industriales y agropecuarios. Este aumento generalmente provoca una floración de algas y cianobacterias potencialmente nocivas (O'Farrell *et al.*, 2022), fenómeno evidenciado en el año 2020 en los cuerpos de agua del Delta de Tigre, en mayor medida en el Río de la Plata y Luján. El aumento de sólidos en suspensión, la mayor turbidez, el menor nivel hídrico, la mayor

disponibilidad e incidencia de la luz, el aumento de la temperatura, aumentan el crecimiento algal en los ríos de la zona (O'Farrell, 2022), observándolo en el ordenamiento, asociación de los SST y clorofila a en las Figuras 11 y 16 obtenidas de los ACP. Un aumento o la presencia de concentraciones más elevadas de sulfatos, tal como se dió en el río Luján en cada uno de los muestreos en comparación a los otros sitios, podría indicar la presencia de lixiviados de basurales, residuos industriales o campos con fertilizantes, coincidiendo con Barrenechea (2004), Baigún *et al.* (2008), Pérez Espejo (2008) y Riglos *et al.* (2010).

El río Luján reveló un alto deterioro evidenciado con los mayores valores de todos parámetros determinados en cada uno de los muestreos, al atravesar regiones con distintos usos del suelo como asentamientos urbanos, áreas agrícolas, ganaderas e industriales que degradan la calidad del agua y tener la influencia de afluentes severamente contaminados, como la del río Reconquista. Los valores obtenidos, en los distintos muestreos, en el río Capitán, Paraná de las Palmas, Río de la Plata, Luján y canal Arias, indicaron un patrón espacial y temporal de las variables físicas y químicas. Esto enfatizó que la calidad de un cuerpo de agua no es una condición estática ni puede ser definida por la medición de un parámetro, por el contrario, se requiere de la medición de numerosos componentes hidrológicos, meteorológicos, físicos, químicos y biológicos, para determinar el grado y las fuentes de contaminación (Carr y Neary 2008). La gran cantidad de parámetros medidos en simultáneo y la variabilidad espacio temporal, demuestra la complejidad del monitoreo en cuerpos de agua y lo crucial que resultan para la obtención de información que sea crucial para seguir abordando, identificando y direccionar las problemáticas relacionadas con la calidad del agua, ayudando según Palanaippan *et al.* (2017), a focalizar la buena gestión de un recurso tan importante.

CAPÍTULO 2

CUANTIFICACIÓN DE METALES Y PESTICIDAS EN AGUA Y ÓRGANO

INTRODUCCIÓN

La presencia de desechos industriales, agrícolas y domésticos en el sistema acuático ha sido ampliamente reconocida como una amenaza potencial para el medio ambiente (Sabatini *et al.*, 2011). Entre la variedad de contaminantes presentes en el agua, los metales pueden alcanzar altas concentraciones en sedimentos, columna de agua y en organismos acuáticos (Gumgum *et al.*, 1994). Varios estudios han demostrado la presencia de metales y pesticidas en aire, agua, sedimentos, biota, como también, su transferencia y biomagnificación a través de la red alimentaria (Botello *et al.*, 2005; Frías-Espericueta *et al.*, 2012; Amé y Carriquiriborde, 2021).

Si bien la presencia de metales en la naturaleza se debe a la meteorización, lixiviado de las rocas y suelos de la cuenca, exposición de minerales, incendios forestales o de pastizales extendidos y de emisiones volcánicas (Frías-Espericueta *et al.*, 2012), las actividades humanas incrementan su carga o alteran sus ciclos naturales e incorporan nuevos metales en los ecosistemas acuáticos (Tulonen *et al.*, 2006), mediante descargas directas, precipitación húmeda o seca y erosión (Rizzo *et al.*, 2010). Por otro lado, los plaguicidas agrícolas (insecticidas, herbicidas, fungicidas, acaricidas y conservantes de madera) resultan tóxicos para los organismos no blanco (Amé y Carriquiriborde, 2021). Sus mezclas comerciales, además del principio activo, incluyen sustancias transportadoras y/o diluyentes como solventes orgánicos, aditivos e impurezas, y usualmente el potencial tóxico de estas sustancias puede ser semejante o aún mayor que el propio principio activo (Amé y Carriquiriborde, 2021).

La persistencia ambiental de los metales está directamente relacionada con la especiación química, su incorporación y acumulación en los sedimentos, jugando así, un papel clave en la biodisponibilidad y toxicidad en los organismos acuáticos (Van Ginneken *et al.*, 1999; Rizzo *et al.*, 2010). Una vez que se incorporan y acumulan en los sedimentos, frente a cambios físicos y químicos, pueden ser movilizados y liberados nuevamente a la columna de agua (Altindag y Yigit, 2005; Harikumar *et al.*, 2009), transfiriéndose a través de la trama trófica desde niveles inferiores (fitoplancton, zooplancton, invertebrados) pudiendo alcanzar al hombre, involucrando aspectos sanitarios y de preservación ambiental

(Chen *et al.*, 2000). A mayor tamaño, crecimiento más lento y más años de vida, los organismos poseen más contenido lipídico y por lo tanto mayor bioacumulación de los contaminantes. Por su parte, las sustancias lipofílicas (ciertos metales y pesticidas) al acumularse en grasa corporal no suelen generar efectos adversos hasta que se quema esa grasa y se libera al sistema circulatorio, acumulándose en el cerebro y sistema reproductivo, causando efectos neurotóxicos y disminución del éxito reproductivo (Amé y Carriquiriborde, 2021). En cuanto al comportamiento de los pesticidas, también se debe tener en cuenta su persistencia en el ambiente, volatilidad y potencial de ser bioacumulado por los organismos no blanco. En general, los insecticidas tienen mayor afinidad por la materia orgánica quedando retenido en los sedimentos, mientras que los herbicidas tienen mayor afinidad por la fase acuosa teniendo mayor capacidad de movilizarse (Amé y Carriquiriborde, 2021).

Los invertebrados acuáticos acumulan diferentes metales en concentraciones variables, sean esenciales o no para su metabolismo (Eisler, 1981), en relación con su condición fisiológica, tasa de absorción, acumulación, eliminación, tiempo de exposición y factores ambientales, dado que pasado cierto umbral de concentración hasta los requeridos para su ciclo de vida se vuelven tóxicos (Rainbow, 1987 y 1990; Landrum *et al.*, 1994; Rizzo *et al.*, 2010). Entre los esenciales se encuentran el cobalto, cromo, cobre, molibdeno, manganeso, níquel, selenio y zinc. Por otro parte, entre los que no presentan una función biológica, generando con su presencia disfunciones en los organismos, se encuentran el mercurio, la plata, el cadmio y plomo. Estos siempre son tóxicos, ya que no son esenciales ni biodegradables y pueden acumularse en los seres vivos, atravesando libremente la membrana celular de un organismo desde el medio (Fichet *et al.*, 1999; Rizzo *et al.*, 2010).

En particular, la glándula digestiva de los bivalvos está involucrada en la absorción, almacenamiento y desintoxicación de metales (Marigómez *et al.*, 2002). En este órgano, se evidenció la absorción y acumulación de metales incorporados a través de los alimentos y de los provenientes de otros órganos para luego ser excretados (Zaldibar, 1999; Domouhtsidou y Dimitriadis, 2000). Los agroquímicos también se bioacumulan en bivalvos (León *et al.*, 2013), sobre todo en órganos que contengan un alto porcentaje de tejido

adiposo (Yalkoswky *et al.*, 2010). Las condiciones de las propiedades físicas y químicas del entorno pueden afectar la disponibilidad de los iones metálicos, como también, su captación y excreción (Marigómez *et al.*, 2000).

Varios estudios (Cataldo *et al.*, 2001; O'Farrell *et al.*, 2002; Marino y Ronco, 2005; Lombardi *et al.*, 2010; Etchegoyen *et al.*, 2017) demuestran que, a lo largo del curso de los ríos estudiados, pero río arriba o abajo o en ríos similares en el área de estudio, se detectó la presencia de diversos pesticidas y metales. Es importante destacar que el estrés inducido por los contaminantes genera la activación de mecanismos para reestablecer el equilibrio interno. Por ello en los capítulos siguientes se evaluarán índices de condición y parámetros relacionados con el balance oxidativo.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

O2. Cuantificar la concentración de metales y pesticidas en distintos cuerpos de agua en la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense.

H2. La concentración de metales y pesticidas en el agua es mayor en los cuerpos de agua con menor profundidad y caudal.

O3. Determinar la bioacumulación de metales en glándula digestiva de *Corbicula fluminea* y *Diplodon delodontus* en relación con sus concentraciones en el agua.

H3. La bioacumulación de metales en glándula digestiva difiere entre especies y cuerpos de agua.

METODOLOGÍA

Determinación de metales totales en agua y órgano

Se realizó la digestión ácida de las muestras, la cual se llevó a cabo modificando el protocolo de Di Salvatore *et al.* (2013). En vasos de precipitado previamente lavados con una solución de HNO₃ 5 % se vertieron 100 ml de cada muestra, que se los colocó en una plancha térmica Thermolyne a 90°C ubicada en una campana de extracción de aire. Se dejó evaporar hasta los 60 ml, se le incorporó 10 ml de HNO₃ 65 % y se volvió a dejar evaporar hasta los 20 ml, momento en el que se le incorporó 10 ml más de HNO₃ 65 %, repitiendo

una vez más este último paso dejando que evapore hasta los 10 ml antes y después del mismo. Luego se siguió el mismo procedimiento cuatro veces más, agregando en las dos primeras HNO_3 32,5 % y HNO_3 5 % en las dos últimas. Al final, cuando las muestras llegaron a 15 ml se vertieron cada una en un tubo de vidrio y se mantuvieron refrigeradas hasta que se realizaron las determinaciones de la concentración de los distintos metales. Para las muestras de órganos, se realizó el mismo procedimiento con la diferencia de que se comenzó con 1,5 ml de homogenato del órgano ya sumergido en 20 ml de HNO_3 65 %. Al blanco de medición también se le realizó el mismo procedimiento, siendo para las mediciones en agua, el agua destilada utilizada para las diluciones, mientras que, para glándula digestiva, el buffer de homogenización utilizado. La concentración de cada metal para los distintos sitios en cada fecha de muestreo se determinó en un $n=3$ y se expresó como mg de metal/L de agua o mg de metal/g peso húmedo en órgano.

La determinación de la concentración de metales en agua fue realizada junto a la Dra. Minaberry en el Laboratorio de Trazas, INQUIMAE, DQIAQF, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA. Dicha medición se realizó mediante la técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica de Llama (FAAS, Shimadzu 6700, Kyoto, Japan) en el caso del hierro (Fe), zinc (Zn); y de Espectrofotometría con Absorción Atómica en Horno de Grafito (GFAAS, en Shimadzu 6800, Kyoto, Japan) en el caso del cadmio (Cd), cobre (Cu), cromo (Cr), níquel (Ni), plomo (Pb). Los parámetros instrumentales y los programas de horno de grafito fueron proporcionados por el fabricante (Conti *et al.*, 2011). Estas técnicas cuantifican la totalidad de la concentración de metal, sin discriminar las formas químicas (iones, complejos inorgánicos, compuestos orgánicos) ni las distintas especies de un mismo elemento (número de oxidación).

La trazabilidad de los resultados se obtuvo del análisis del material de referencia certificado Krill antártico MURSTISS-A2 (Programa de investigación italiano en la Antártida). Los porcentajes de recuperación promedio (cinco repeticiones) fueron de $101,3 \pm 2,3$ % para hierro; $102,1 \pm 2,9$ % para zinc; $93,4 \pm 2,7$ % para cadmio; $98,1 \pm 1,0$ % para cromo; $101,1 \pm 1,3$ % para cobre; $98,5 \pm 2,5$ % para níquel y $96,5 \pm 0,6$ % para plomo. Los límites de detección utilizados se definieron como $\text{LOD} = 3\text{Sb}/m$, donde Sb es la desviación estándar

de diez repeticiones del blanco y m es la pendiente de la curva de calibración (3 Sb, $n = 10$), teniendo en cuenta el nivel de concentración más bajo que se puede determinar, estadísticamente diferente al blanco, con un 99 % de confianza. Los límites de detección (LODs) (3 Sb, $n = 10$) fueron de $0,03 \text{ mg L}^{-1}$ para hierro; $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ para zinc; $0,0001 \text{ mg L}^{-1}$ para cadmio; $0,0002 \text{ mg L}^{-1}$ para cromo; $0,02 \text{ mg L}^{-1}$ para cobre; $0,006 \text{ mg L}^{-1}$ para níquel y $0,002 \text{ mg L}^{-1}$ para plomo. Todos los productos químicos utilizados a lo largo de estos experimentos fueron de grado ultra puro.

Determinación de pesticidas en agua

Trabajando en colaboración con los Dres. Rojas y Cristos del Instituto Tecnología de Alimentos dependiente del Centro de Investigación de Agroindustria en el área de Protección de Alimentos (INTA, Morón), se realizó un screening de los posibles pesticidas presentes en las muestras de agua. Se buscó: abamectina, acetoclor, alacloro, aldicarb, aldrin, α -BHC, α -clordano, α -endosulfán, AMPA, atrazina, azoxistrobina, β -BHC, β -endosulfán, bifentrina, captan, carbaril, carbendazim, carbofurano, carboxina, cetona, ciflutrina, cipermetrina, ciproconazol, cletodim, clorpirifos, clorpirifos-metilo, δ -BHC, deltametrina, diazinón, dicamba, diclorvos, dieldrín, difenoconazol, dimetoato, 2,4-D, 2,4-DB, endosulfán, endrina, endrina aldehído, epoxiconazol, epóxido de heptacloro, fenitrotión, fenvalerato, fludioxonil, flurocloridona, fomesafen, γ -cihalotrina, γ -clordano, glifosato, HCB, heptacloro, imazalil, imazapir, imazethapir, imidacloprid, kresoxim-metil, lambdacialotrina, lindano, malaoxón, malatión, metalaxil, metamidofos, methoxiclora, metil paratión, metilsulfurón-m, monocrotofos, op-DDE, op-DDT, oxicarboxina, paratión, pp-DDD, pp-DDT, permetrina, picoxistrobina, piraclostrobina, pirimifos-metil, prosulfocarb, prosulfurón, protioconazol, s-metolacloro, sulfato de endosulfán, tebuconazol, tiofanato-metilo, triasulfurón, trifloxistrobina, triflumurón y yodosulfurón-metil.

El análisis se realizó mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS, Perkin Elmer Clarus 600) y cromatografía líquida de ultra alto rendimiento (UPLC-MS, Waters Acquity UPLC-SQD) para glifosato y AMPA. En la GC-MS se utiliza una columna capilar DB-5MS (Agilent Technologies). Mientras que en la UPLC-MS, una columna XBridge BEH C18. Los límites de corte fueron de $1 \text{ } \mu\text{g/L}$ en la detección y $4 \text{ } \mu\text{g/L}$ en la cuantificación.

Determinación del índice de calidad de agua

Los índices de calidad del agua resultan útiles como indicadores rápidos del estado de salud del ambiente, ya que por motivos económicos y de tiempo no siempre es viable medir todos los parámetros físicos y químicos existentes. El cálculo del Índice de Calidad de Agua (ICA), basado en lo propuesto por Neary *et al.* (2001), incluye a las variables físicas y químicas, metales y pesticidas medidos, que cuentan con un valor de referencia límite para la protección de la vida acuática en agua dulce superficial según la Ley Nacional 24051 (decreto 831/93), o en los estándares consensuados en el Taller Regional de Índices de Calidad de Agua (Río de Janeiro, 2007) en el marco del Proyecto ARCAL RLA/1/010 (Avila Perez *et al.*, 2011) para aquellos parámetros no incluidos en la ley pero si en dicho proyecto. Este ICA permite estimar la calidad del agua comparando los valores medidos de cada parámetro con los valores guías (objetivos) establecidos por dicha ley y bibliografía (Tabla 3). Para realizar el cálculo de cada uno de los sitios en cada una de las fechas de muestreo, se utilizó el programa CCME WQI (versión 1.0). Este programa utiliza la siguiente fórmula para el cálculo del índice:

$$ICA = 100 - \left(\frac{\sqrt{F1^2 + F2^2 + F3^2}}{1,732} \right) * 100$$

Donde:

F1: estima el número de indicadores que se encuentran fuera del rango permisible por el objetivo y establece un porcentaje del total del número de indicadores medidos.

F2: indica que tan frecuente se excede cada parámetro de un objetivo.

F3: determina cuantos parámetros exceden los valores de los objetivos.

La división por el factor 1,732 da como resultado un valor entre 0 y 100. Los indicadores ambientales utilizados y los objetivos se enumeran en la Tabla 3 (Peluso, 2021). Mientras que la clasificación de los valores obtenidos tras el cálculo del ICA, se visualizan en la Tabla 4.

Indicador ambiental	No hay conformidad si:	Objetivo ambiental	Unidades	Bibliografía del nivel guía
pH	<>	5 a 9	Unidades de pH	Ávila Perez <i>et al.</i> , 2011
CE	>	1250	µs/cm	Ávila Perez <i>et al.</i> , 2011
DBO ₅	>	11,63	mg/L	Ávila Perez <i>et al.</i> , 2011
SST	>	81,25	mg/L	Ávila Perez <i>et al.</i> , 2011
Fosfatos totales	>	0,4	mg/L	Ávila Perez <i>et al.</i> , 2011
Amonio	>	1,29	mg/L	Ávila Perez <i>et al.</i> , 2011
Nitratos totales	>	17	mg/L	Ávila Perez <i>et al.</i> , 2011
Nitritos	>	0,06	mg/L	Ley Nacional 24051
Cr	>	0,002	mg/L	Ley Nacional 24051
Cu	>	0,002	mg/L	Ley Nacional 24051
Zn	>	0,03	mg/L	Ley Nacional 24051
Ni	>	0,025	mg/L	Ley Nacional 24051
Pb	>	0,001	mg/L	Ley Nacional 24051
Cd	>	0,0002	mg/L	Ley Nacional 24051

Tabla 3. Índice de Calidad del Agua. Parámetros ambientales y objetivos empleados para su cálculo. CE: Conductividad Eléctrica, DBO₅: Demanda Biológica de Oxígeno a 5 días, SST: Sólidos Suspendidos Totales. Cr: cromo, Cu: cobre, Zn: zinc, Ni: níquel, Pb: plomo y Cd: cadmio (modificada de Peluso, 2021).

Valor del ICA	Clasificación
95 - 100	Excelente
80 - 94	Buena
65 - 79	Mala
45 - 64	Marginal
30 - 44	Pobre
0 - 29	Muy pobre

Tabla 4. Clasificación del valor ICA.

Análisis estadísticos

El análisis de las concentraciones de los metales en agua se realizó comparando los valores obtenidos para cada metal (n=3), entre sitios (factor) para cada fecha de muestreo, y entre fechas de muestreo (factor) para cada sitio, mediante Anovas de Un Factor (Sokal y Rohlf 1999) o Pruebas de comparación de medias de Student (Student 1908), según corresponda, seguidos de Pruebas Tuckey a posteriori. En cuanto al análisis de las concentraciones de metales en glándula digestiva de *Corbicula fluminea* (n=3), se comparó entre sitios (factor) para cada fecha de muestreo (Anova de Un Factor con pruebas Tuckey

a posteriori). Se realizó este tipo de análisis para responder a los objetivos e hipótesis planteadas, aumentando la potencia para visualizar la variabilidad entre sitios. Por otro lado, al comparar los datos obtenidos para las dos especies en los muestreos de junio y septiembre 2019 en el río Paraná de las Palmas, se realizaron Pruebas de Student o Anovas de Dos Factores. Se utilizó el programa GraphPad Prism 6 para cada uno de los análisis.

Para integrar los resultados obtenidos y visualizar sus asociaciones, se realizó dos Análisis de Componentes Principales (ACP) basado en una matriz de correlaciones sin transformación de los datos (Di Rienzo *et al.*, 2014). En uno, se tuvo en cuenta las concentraciones de metales en agua de los cinco sitios en tres fechas de muestreo (muestreos en los que se determinaron todos los metales analizados tanto en agua como en glándula digestiva en los diferentes sitios) y la concentración bioacumulada en *C. fluminea* en los mismos muestreos. En el otro, la concentración de metales en el río Paraná de las Palmas en junio, septiembre 2019 y la bioacumulación en glándula digestiva de *C. fluminea* y *D. delondontus* en estas fechas en dicho sitio.

RESULTADOS

Concentración de metales en agua

La concentración de todos los metales analizados (Cr, Cu, Ni, Zn, Fe, Cd y Pb) que resultaron mayores al blanco de medición, mostraron valores superiores a los máximos permitidos y estipulados por los niveles guías de calidad para la protección de la vida acuática en agua dulce superficial (Ley Nacional 24051, decreto 831/93) (Tabla 5). El análisis de las concentraciones de metales en agua, al comparar entre sitios por fecha de muestreo y entre fechas de muestreo por sitio, arrojó los siguientes resultados.

Cromo

En las comparaciones entre sitios para cada fecha de muestreo, la concentración de cromo fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en septiembre 2018 en el Río de la Plata y Luján, en diciembre 2018 en el Río de la Plata, en marzo 2019 en el río Luján, en junio 2019 en el Paraná de las Palmas y canal Arias, en septiembre y diciembre 2019 en el Paraná (Tabla 5).

Al comparar entre muestreos para cada uno de los sitios, la concentración de cromo resultó significativamente mayor ($p<0,05$) en el río Capitán en marzo 2019, en el río Paraná de las Palmas y Luján en septiembre 2019, en el Río de la Plata en diciembre 2018, en el canal Arias en junio 2019 (Tabla 5).

Cobre

En cada fecha de muestro, al comparar entre sitios, la concentración de cobre resultó significativamente mayor ($p<0,05$) en marzo 2019 en el río Capitán, en junio 2019 en el Río de la Plata y Paraná de las Palmas, en septiembre 2019 nuevamente en el Paraná y en diciembre 2019 en el Paraná y canal Arias (Tabla 5).

En cada sitio, al comparar entre fechas de muestreo, la concentración de cobre fue significativamente mayor ($p<0,05$) en el río Capitán y canal Arias en marzo 2019, en el Paraná y Río de la Plata en junio 2019, en el Luján en septiembre 2019 (Tabla 5).

Níquel

En las comparaciones entre sitios para cada fecha de muestreo, la concentración de níquel fue significativamente mayor ($p<0,05$) en septiembre 2018 en el Río de la Plata, en diciembre 2018 en el río Paraná de las Palmas, en marzo 2019 en el Capitán, en junio 2019 en el Paraná, en septiembre 2019 nuevamente en el Paraná, en diciembre 2019 una vez más en el Paraná y canal Arias (Tabla 5).

Al comparar entre muestreos para cada uno de los sitios, la concentración de níquel resultó significativamente mayor ($p<0,05$) en el río Capitán, en el Río de la Plata en diciembre 2018, en el Paraná de las Palmas y canal Arias en septiembre 2019 junto al río Luján que también presentó los valores más altos en marzo 2019 (Tabla 5).

Zinc

En las comparaciones entre sitios para cada una de las fechas, la concentración de zinc en agua fue significativamente mayor ($p<0,05$) en marzo 2019 en el río Luján, en junio 2019 en el Paraná de las Palmas, en septiembre 2019 en el Luján, en diciembre 2019 en el canal Arias (Tabla 5).

En cada sitio, al comparar entre fechas de muestreo, la concentración de zinc en agua fue significativamente mayor ($p<0,05$) en el río Capitán en marzo 2019, en el Río de la Plata en junio 2019 y en septiembre 2019 en el Paraná, canal Arias y Luján (Tabla 5).

Hierro

Al comparar los sitios para cada una de las fechas de muestreo, la concentración de hierro fue significativamente mayor ($p<0,05$) en marzo 2019 en el río Capitán, en junio 2019 en el Paraná de las Palmas y Río de la Plata, en septiembre 2019 en el Luján y en diciembre 2019 en el canal Arias (Tabla 5).

En la comparación entre fechas de muestreo para cada uno de los sitios, la concentración de hierro fue significativamente mayor ($p<0,05$) en el río Capitán, Paraná y Luján en septiembre 2019, en el Río de la Plata en junio 2019 y en el canal Arias en diciembre 2019 (Tabla 5).

Cadmio

Al comparar los sitios en cada una de las fechas de muestreo, la concentración de cadmio resultó significativamente mayor ($p<0,05$) en marzo y diciembre 2019 en el río Capitán, en junio 2019 en el canal Arias y en septiembre 2019 en el río Luján (Tabla 5).

Al comparar entre fechas de muestreo para cada sitio, la concentración de cadmio resultó significativamente mayor ($p<0,05$) en el Capitán y Río de la Plata en marzo 2019, en el Paraná y Luján en septiembre 2019, en el canal Arias en junio 2019 (Tabla 5).

Plomo

En la comparación de los sitios para cada fecha de muestreo, la concentración de plomo fue significativamente mayor ($p<0,05$) en septiembre 2018 y marzo 2019 en el río Capitán, en diciembre 2018 en el Paraná de las Palmas y en junio, septiembre, diciembre 2019 en el canal Arias (Tabla 5).

En la comparación de las fechas de muestreo por sitios, la concentración de plomo fue significativamente mayor ($p<0,05$) en el río Capitán en marzo 2019, en el Paraná en diciembre 2018, en el Río de la Plata en junio 2019, en el canal Arias y río Luján en septiembre 2019 (Tabla 5).

METAL

MUESTREO/SITIO	Cr (mg/L)	Cu (mg/L)	Ni (mg/L)	Zn (mg/L)	Fe (mg/L)	Cd (mg/L)	Pb (mg/L)
SEP.18							
RC	5,25 ± 0,15 ^{Aa*}	-	< b	-	-	< b	8,55 ± 0,15 ^{Aa*}
RPP	3,60 ± 0,15 ^{Ba*}	-	< b	-	-	< b	6,45 ± 0,30 ^{Ba*}
RLP	9,87 ± 0,02 ^{Ca*}	-	6,30 ± 0,90 ^{Aa*}	-	-	< b	< b
CA	2,27 ± 0,12 ^{Da*}	-	< b	-	-	< b	8,70 ± 0,45 ^{Aa*}
RL	9,60 ± 0,15 ^{Ca*}	-	0,45 ± 0,90 ^{Ba*}	-	-	< b	< b
DIC.18							
RC	< b	-	< b	-	-	< b	< b
RPP	4,29 ± 0,03 ^{Aa*}	-	30,15 ± 1,50 ^{Aa*}	-	-	< b	220,5 ± 11,25 ^{Ab*}
RLP	8,28 ± 0,14 ^{Bb*}	-	2,70 ± 0,45 ^{Bb*}	-	-	< b	4,8 ± 0,9 ^{Ba*}
CA	4,05 ± 0,30 ^{Ab*}	-	< b	-	-	< b	38,1 ± 1,5 ^{Cb*}
RL	3,30 ± 0,45 ^{Cb*}	-	1,50 ± 0,30 ^{Ba*}	-	-	< b	< b
MZO.19							
RC	50,25 ± 1,35 ^{Ab*}	0,009 ± 0,0003 ^{Aa*}	48,60 ± 0,60 ^{Aa*}	2,28 ± 0,006 ^{Aa*}	1,80 ± 0,05 ^{Aa*}	1,64 ± 0,03 ^{Aa*}	142,50 ± 7,05 ^{Ab*}
RPP	6 ± 0,60 ^{Bb*}	0,003 ± 0,0001 ^{Ba*}	11,16 ± 0,11 ^{Bb*}	0,60 ± 0,015 ^{Ba*}	1,45 ± 0,03 ^{Ba*}	0,06 ± 0,01 ^{Ba*}	52,35 ± 4,35 ^{Bc*}
RLP	4,65 ± 0,45 ^{Bc*}	0,002 ± 0,0001 ^{Ca*}	4,35 ± 0,15 ^{Cc*}	0,01 ± 0,005 ^{Ca*}	1,04 ± 0,02 ^{Ca*}	0,17 ± 0,01 ^{Ca*}	9 ± 0,45 ^{Cb*}
CA	5,70 ± 0,75 ^{Bc*}	0,006 ± 0,0003 ^{Da*}	0,18 ± 0,02 ^{Da*}	0,08 ± 0,005 ^{Da*}	1,29 ± 0,03 ^{Da*}	0,18 ± 0,01 ^{Ca*}	< b
RL	13,65 ± 0,60 ^{Cc*}	< b	24,15 ± 5,55 ^{Eb*}	3,26 ± 0,045 ^{Ea*}	1,67 ± 0,03 ^{Ea*}	0,66 ± 0,01 ^{Da*}	46,35 ± 1,20 ^{Ba*}
JUN.19							
RC	3,15 ± 0,30 ^{Ac*}	0,005 ± 0,0002 ^{Ab*}	15,90 ± 1,50 ^{Ab*}	< b	2,21 ± 0,05 ^{Aa*}	0,11 ± 0,01 ^{Ab*}	2,70 ± 0,45 ^{Ac*}
RPP	15,15 ± 0,75 ^{Bc*}	0,007 ± 0,0003 ^{Bb*}	35,70 ± 2,70 ^{Bc*}	1,97 ± 0,09 ^{Ab*}	2,93 ± 0,06 ^{Bb*}	0,62 ± 0,01 ^{Bb*}	37,20 ± 1,05 ^{Bd*}
RLP	5,70 ± 0,30 ^{Cd*}	0,007 ± 0,0003 ^{Bb*}	< b	0,29 ± 0,015 ^{Bb*}	3 ± 0,08 ^{Bb*}	0,02 ± 0,01 ^{Cb*}	31,95 ± 1,20 ^{Bc*}
CA	15,60 ± 0,90 ^{Bd*}	0,002 ± 0,0001 ^{Cb*}	1,95 ± 0,30 ^{Cb*}	1,71 ± 0,12 ^{Cb*}	2,40 ± 0,05 ^{Cb*}	1,43 ± 0,01 ^{Db*}	135,45 ± 4,65 ^{Cc*}
RL	4,80 ± 0,30 ^{Cd*}	0,002 ± 0,0001 ^{Ca*}	0,60 ± 0,08 ^{Ca*}	< b	2,01 ± 0,03 ^{Db*}	0,07 ± 0,01 ^{Eb*}	9,75 ± 0,75 ^{Db*}
SEP.19							
RC	12,15 ± 1,05 ^{Ad*}	< b	< b	0,272 ± 0,011 ^{Ab*}	4,08 ± 0,08 ^{Ab*}	0,70 ± 0,02 ^{Ac*}	27,75 ± 1,20 ^{Ad*}
RPP	28,95 ± 1,50 ^{Bd*}	0,006 ± 0,0003 ^{Ac*}	66 ± 1,20 ^{Ad*}	2,4 ± 0,05 ^{Bc*}	3,56 ± 0,08 ^{Bc*}	2,52 ± 0,03 ^{Bc*}	40,05 ± 2,25 ^{Bcd*}
RLP	-	-	-	-	-	-	-
CA	13,65 ± 0,75 ^{Ae*}	0,004 ± 0,0002 ^{Bc*}	52,95 ± 0,90 ^{Bc*}	4,65 ± 0,15 ^{Cc*}	3,15 ± 0,08 ^{Cc*}	1,18 ± 0,03 ^{Cc*}	195,45 ± 8,85 ^{Cd*}
RL	21,90 ± 1,05 ^{Ce*}	0,004 ± 0,0002 ^{Bb*}	19,95 ± 1,35 ^{Cb*}	9 ± 0,30 ^{Db*}	6,15 ± 0,15 ^{Dc*}	3,45 ± 0,05 ^{Dc*}	57,45 ± 1,50 ^{Dc*}
DIC.19							
RC	5,79 ± 0,08 ^{Aa*}	< b	0,98 ± 0,03 ^{Ac*}	0,18 ± 0,006 ^{Ac*}	1,73 ± 0,03 ^{Aa*}	0,10 ± 0,01 ^{Ab*}	8,10 ± 1,20 ^{Ad*}
RPP	13,80 ± 0,30 ^{Bc*}	0,006 ± 0,0003 ^{Ac*}	7,05 ± 0,30 ^{Be*}	0,26 ± 0,009 ^{Bd*}	3,23 ± 0,08 ^{Bd*}	< b	< b
RLP	-	-	-	-	-	-	-
CA	4,20 ± 0,15 ^{Cbc*}	0,005 ± 0,0003 ^{Ad*}	6,75 ± 0,45 ^{Bd*}	0,71 ± 0,03 ^{Cd*}	3,51 ± 0,06 ^{Cd*}	0,07 ± 0,01 ^{Bd*}	178,80 ± 8,25 ^{Be*}
RL	7,59 ± 0,08 ^{Df*}	< b	1,65 ± 0,30 ^{Aa*}	< b	2,39 ± 0,06 ^{Dd*}	0,02 ± 0,01 ^{Cb*}	< b

Tabla 5. Concentración de metales (mg de metal/L de agua) en agua superficial.

Promedio ± desvío estándar (n=3) en los distintos sitios en cada fecha de muestreo. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas (p<0,05) entre sitios por fechas de muestreo. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas (p<0,05) entre

fechas de muestreo por sitio. *: supera el nivel guía de calidad para la protección de la vida acuática en agua dulce superficial, Ley Nacional 24051, decreto 831/93. SEP.18: septiembre 2018; DIC.18: diciembre 2018; MZO.19: marzo 19; JUN.19: junio 2019; SEP.19: septiembre 2019; DIC.19: diciembre 2019. RC: Río Capitán; RPP: Río Paraná de las Palmas; RLP: Río de la Plata; CA: Canal Arias; RL: Río Luján. <b: menor al blanco; -: no determinado.

A partir de septiembre 2019, no se tomaron muestras del Río de la Plata, por la pérdida reiterada de las jaulas con las especies involucradas en el estudio. No se cuenta con datos de cobre, zinc y hierro para septiembre y diciembre de 2018 ya que a causa de la pandemia no se pudieron determinar.

En resumen, teniendo en cuenta todos los metales por fecha de muestreo, en diciembre 2018 se observaron las concentraciones más altas de metales en el Río de la Plata y Paraná de las Palmas. En marzo 2019, en el río Capitán, seguido del Luján. En junio 2019, en el río Paraná de las Palmas, canal Arias y Río de la Plata. En septiembre 2019, nuevamente en el río Paraná de las Palmas, Luján y canal Arias. En diciembre 2019, una vez más en el río Paraná de las Palmas y canal Arias. Por otro lado, al tener en cuenta todos los metales determinados por sitio, en el río Capitán en marzo 2019 se visualizaron las concentraciones más altas. Mientras que en el río Paraná de las Palmas, canal Arias y río Luján en septiembre 2019. El canal Arias presentó gran variabilidad entre fechas de muestreo, lo cual se evidenció en las comparaciones entre sitios, por esta variabilidad, en ciertas fechas de muestreo, presentó un comportamiento similar al río Paraná de las Palmas y en otras al río Luján (Tabla 5).

Concentración de pesticidas en agua

En la Tabla 6, tras el *screening* de 88 pesticidas, se muestran las concentraciones de aquellos que presentaron un valor mayor o entre los límites de detección y cuantificación (1 y 4 µg/L, respectivamente), en alguno de los sitios en alguna de las fechas de muestreo. Salvo en el Río de la Plata y canal Arias (solo entre los límites de detección y cuantificación), en los demás sitios en algún tiempo de muestreo se determinó la presencia de pesticidas. Se observó la detección repetitiva de glifosato y AMPA en el río Capitán, de acetoclor en el

río Paraná de las Palmas y de atrazina en el río Luján. La atrazina solo se registró en el río Luján. De los plaguicidas encontrados, según la Ley Nacional 24051 decreto 831/93, el malatión y 2,4-D, son considerados como residuos peligrosos en los niveles guía de calidad de agua dulce superficial requerida para la protección de la vida acuática, con concentraciones máximas aceptadas de 0,1 µg/L y 4 µg/L respectivamente. El malatión, solo se encontró en el río Capitán en diciembre 2019 con un valor de 7,94 µg/L, superando así dicho límite. Mientras que el 2,4-D se detectó en el canal Arias en los muestreos de septiembre y diciembre 2019, en un valor entre 1 y 4 µg/L, sin superar su valor guía.

2019	MARZO					JUNIO					SEPTIEMBRE				DICIEMBRE			
PARÁMETRO/SITIO	RC	RPP	RLP	CA	RL	RC	RPP	RLP	CA	RL	RC	RPP	CA	RL	RC	RPP	CA	RL
AMPA (µg/L)	4,56	nd	nd	nd	nd	10,53	nd	nd	nd	nd	mlc	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Glifosato (µg/L)	21,34	nd	nd	nd	nd	33,50	nd	nd	nd	nd	13,18	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Malatión (µg/L)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	7,94 ^{*1}	nd	nd	nd
2,4-D (µg/L)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	mlc	nd	nd	nd	mlc	nd
Acetoclor (µg/L)	11,91	22,60	nd	nd	nd	nd	7,85	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Atrazina (µg/L)	nd	nd	nd	nd	10,31 ^{*2}	nd	nd	nd	nd	7,42 ^{*2}	nd	nd	nd	39,85 ^{*2}	nd	nd	nd	nd
Azoxistrobin (µg/L)	6,23	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	5,07	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Cyflutrin (µg/L)	nd	nd	nd	nd	nd	mlc	nd	nd	nd	nd	nd	mlc	nd	nd	nd	nd	mlc	nd
Cyproconazole (µg/L)	nd	mlc	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Deltametrin (µg/L)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	63,18

Tabla 6. Concentración de pesticidas (µg/L) en agua superficial. Valores obtenidos de los diferentes sitios en los distintos muestreos. Límites de corte: 1 µg/L de detección y 4 µg/L de cuantificación; nd: no detectado, por debajo del rango de medición; mlc: entre 1 µg/L y 4 µg/L; ^{*1}: supera el nivel guía de calidad para la protección de la vida acuática en agua dulce superficial, Ley Nacional 24051, decreto 831/93; ^{*2}: supera el nivel guía de calidad para fuentes de agua para consumo humano con tratamiento convencional, Ley Nacional 24051, decreto 831/93.

Índice de calidad del agua

De acuerdo con el cálculo del índice de calidad de agua para cada uno de los sitios en cada una de las fechas de muestreo, la calidad varió de “Pobre” a “Muy Pobre”, salvo en el río Capitán en diciembre 2018 que resultó “Mala”. En septiembre 2019 se observó el peor valor de ICA para todos los sitios exceptuando al río Capitán. A partir de esta fecha de

muestreo no se presentan datos del Río de la Plata ya que por el repetitivo hurto de las jaulas se dejaron de tomar las muestras de agua, al no poder realizar todas las mediciones planteadas en el diseño. Por ende, en general, el río Capitán fue el que más se distinguió de los otros sitios, al observar una mejor calidad, aún presentando una pobre o mala calidad, siendo la clasificación mala la de mejor calidad con respecto a las demás obtenidas, con dos o tres rangos de diferencia en cuanto a la clasificación (Tabla 7). Estos resultados se obtuvieron teniendo en cuenta todos los parámetros medidos que incluye el índice (Tabla 3). Por otro lado, al no tener en cuenta la concentración de fosfatos totales en el cálculo del índice, la calidad del agua del río Capitán en el muestreo de diciembre 2018, mejoró a “Excelente”. Sin embargo, en septiembre 2018, marzo 2019, diciembre 2019, la calidad no varió al eliminar dicho parámetro. Mientras que, en junio 2019 y septiembre 2019, aquellos sitios que fueron calificados como “Muy Pobre” disminuyeron a “Pobre”.

MUESTREO	SEP. 18		DIC. 18		MZO. 19		JUN. 19		SEP. 19		DIC. 19	
SITIO/ICA	Valor	Calidad	Valor	Calidad	Valor	Calidad	Valor	Calidad	Valor	Calidad	Valor	Calidad
RC	38,8	Pobre	73,7	Mala	32,5	Pobre	32,6	Pobre	32,5	Pobre	31,1	Pobre
RPP	38,8	Pobre	36,2	Pobre	32,5	Pobre	29,3	Muy pobre	29,3	Muy pobre	37,4	Pobre
RLP	38,9	Pobre	36,2	Pobre	35,4	Pobre	32,5	Pobre	-		-	
CA	38,8	Pobre	38,8	Pobre	32,7	Pobre	32,5	Pobre	29,3	Muy pobre	27,4	Muy pobre
RL	36,3	Pobre	36,5	Pobre	32,5	Pobre	32,5	Pobre	29,3	Muy pobre	37,2	Pobre

Tabla 7. ICA y clasificación de los sitios por fecha de muestreo. SEP.18: septiembre 2018; DIC.18: diciembre 2018; MZO.19: marzo 19; JUN.19: junio 2019; SEP.19: septiembre 2019; DIC.19: diciembre 2019. RC: Río Capitán; RPP: Río Paraná de las Palmas; RLP: Río de la Plata; CA: Canal Arias; RL: Río Luján. -: no determinado.

Concentración de metales en glándula digestiva de *C. fluminea*

En la Tabla 8, 9, 10, 11 y 12 se muestran los resultados del análisis comparativo de cada metal entre sitios para cada una de las fechas de muestreo.

En diciembre 2018, la concentración de cromo, níquel, cadmio, hierro, zinc, resultó significativamente mayor ($p < 0,05$) en la glándula digestiva de los individuos extraídos de las jaulas del Río de la Plata, junto a los del río Capitán en el caso del cadmio y zinc. Mientras que el plomo lo fue en los ejemplares del río Luján (Tabla 8).

DICIEMBRE 18	SITIO				
METAL	RC	RPP	RLP	CA	RL
Cr (mg/g peso húmedo)	< b	0,26 ± 0,02 ^A	4,44 ± 2,14 ^B	1,61 ± 0,13 ^A	1,18 ± 0,22 ^A
Ni (mg/g peso húmedo)	0,87 ± 0,16 ^A	0,71 ± 0,32 ^A	18,09 ± 9,95 ^B	2,92 ± 1,40 ^A	5,38 ± 2,18 ^A
Cd (mg/g peso húmedo)	0,21 ± 0,07 ^A	< b	0,26 ± 0,03 ^A	< b	0,05 ± 0,03 ^B
Pb (mg/g peso húmedo)	0,64 ± 0,24 ^A	< b	0,57 ± 0,21 ^A	< b	1,41 ± 0,25 ^B
Fe (mg/g peso húmedo)	35,25 ± 6,70 ^{AC}	14,65 ± 3,48 ^A	81,61 ± 15,94 ^B	23,19 ± 6,96 ^{AC}	40,94 ± 9,01 ^C
Zn (mg/g peso húmedo)	482,1 ± 57,94 ^A	12,08 ± 3,99 ^B	365,1 ± 108 ^A	35,89 ± 9,66 ^B	59,95 ± 7,12 ^B
Cu (mg/g peso húmedo)	6,51 ± 1,94 ^A	4,26 ± 1,47 ^A	5,03 ± 2,66 ^A	4,65 ± 1,57 ^A	5,39 ± 1,23 ^A

Tabla 8. Concentración de metales (mg/g de peso húmedo) en glándula digestiva de *Corbicula fluminea* en diciembre 2018. Promedios ± desvío estándar (n=3) en los distintos sitios de muestreo. RC: río Capitán, RPP: río Paraná de las Palmas, RLP: Río de la Plata, CA: canal Arias y RL: río Luján. < b: menor al blanco. Letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05).

De los individuos extraídos en marzo 2019, solo la glándula digestiva de los animales del río Paraná de las Palmas presentaron una concentración significativamente mayor (p<0,05) de níquel (Tabla 9).

MARZO 19	SITIO				
METAL	RC	RPP	RLP	CA	RL
Cr (mg/g peso húmedo)	3,46 ± 0,12 ^A	2,61 ± 0,39 ^{AB}	2,53 ± 1,21 ^{AB}	1,12 ± 0,29 ^B	2,89 ± 0,90 ^{AB}
Ni (mg/g peso húmedo)	2,04 ± 0,18 ^A	4,30 ± 1,28 ^B	2,46 ± 0,12 ^{AB}	3,79 ± 0,94 ^{AB}	3,46 ± 0,72 ^{AB}
Cd (mg/g peso húmedo)	< b	< b	< b	< b	< b
Pb (mg/g peso húmedo)	1,26 ± 1,02 ^{AC}	0,43 ± 0,07 ^A	0,81 ± 0,15 ^A	1,85 ± 0,14 ^{AB}	2,73 ± 0,74 ^{BC}
Fe (mg/g peso húmedo)	166,1 ± 74,09 ^A	204,2 ± 80,57 ^A	78,69 ± 35,92 ^A	127,2 ± 67,21 ^A	166,6 ± 106,5 ^A
Zn (mg/g peso húmedo)	126 ± 17,18	< b	116,3 ± 22,87	< b	< b
Cu (mg/g peso húmedo)	8,92 ± 4,27 ^A	9,46 ± 3,57 ^A	6,12 ± 1,64 ^A	8,65 ± 3,06 ^A	4,76 ± 1,44 ^A

Tabla 9. Concentración de metales (mg/g de peso húmedo) en glándula digestiva de *Corbicula fluminea* en marzo 2019. Promedios ± desvío estándar (n=3) en los distintos sitios de muestreo. RC: río Capitán, RPP: río Paraná de las Palmas, RLP: Río de la Plata, CA: canal Arias y RL: río Luján. < b: menor al blanco. Letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05).

A causa del reiterado hurto de las jaulas con animales en el Río de la Plata, a partir del muestreo de junio 2019 en este sitio no fue posible realizar las determinaciones pertinentes (Tabla 10). En esta fecha de muestreo, la concentración de cromo, níquel, hierro, zinc fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en los individuos extraídos de las jaulas del canal Arias. La concentración de plomo lo fue tanto en estos ejemplares como en los del río Luján (Tabla 10).

JUNIO 19	SITIO			
METAL	RC	RPP	CA	RL
Cr (mg/g peso húmedo)	1,57 ± 0,78 ^A	< b	16,19 ± 3,78 ^B	1,99 ± 0,71 ^A
Ni (mg/g peso húmedo)	0,53 ± 0,12	< b	8,38 ± 0,11 [*]	< b
Cd (mg/g peso húmedo)	< b	0,40 ± 0,03	< b	< b
Pb (mg/g peso húmedo)	1,39 ± 0,38 ^A	1,20 ± 0,67 ^A	2,30 ± 1,02 ^A	0,76 ± 0,32 ^A
Fe (mg/g peso húmedo)	80,80 ± 9,14 ^A	35,55 ± 10,89 ^A	406,1 ± 73,94 ^B	101,2 ± 5,55 ^A
Zn (mg/g peso húmedo)	25,01 ± 8,49 ^A	4,97 ± 2 ^B	52,48 ± 5,09 ^C	12,55 ± 1,13 ^{AB}
Cu (mg/g peso húmedo)	9,55 ± 1,89 ^A	7,92 ± 0,76 ^A	25,49 ± 8,87 ^B	25,64 ± 6,43 ^B

Tabla 10. Concentración de metales (mg/g de peso húmedo) en glándula digestiva de *Corbicula fluminea* en junio 2019. Promedios ± desvío estándar (n=3) en los distintos sitios de muestreo. RC: río Capitán, RPP: río Paraná de las Palmas, CA: canal Arias y RL: río Luján. < b: menor al blanco. Asterisco o letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

En el muestreo de septiembre 2019, la concentración de plomo y zinc en glándula digestiva de *C. fluminea* resultó significativamente mayor ($p < 0,05$) en los individuos del canal Arias, mientras que la de cromo y cobre en los ejemplares del río Luján. El hierro fue significativamente mayor ($p < 0,05$) tanto en los del canal Arias como en los del río Luján (Tabla 11).

SEPTIEMBRE 19		SITIO		
METAL	RC	RPP	CA	RL
Cr (mg/g peso húmedo)	3,85 ± 0,14 ^A	< b	5,30 ± 1,33 ^A	9,81 ± 0,33 ^B
Ni (mg/g peso húmedo)	3,47 ± 1,42 ^A	0,40 ± 0,14 ^B	1,70 ± 0,53 ^{AB}	2,48 ± 1,39 ^{AB}
Cd (mg/g peso húmedo)	< b	< b	< b	< b
Pb (mg/g peso húmedo)	0,74 ± 0,03 ^A	< b	23,88 ± 13,21 ^B	2,70 ± 1,19 ^A
Fe (mg/g peso húmedo)	130,8 ± 37,42 ^A	44,24 ± 26,38 ^A	522,9 ± 128,5 ^B	373,8 ± 49,35 ^B
Zn (mg/g peso húmedo)	6,50 ± 1,55 ^A	142,9 ± 47,51 ^B	410,4 ± 129,9 ^C	54,39 ± 14,65 ^{AB}
Cu (mg/g peso húmedo)	5,91 ± 1,58 ^A	5,26 ± 2,29 ^A	7,04 ± 2,42 ^A	34,05 ± 16,92 ^B

Tabla 11. Concentración de metales (mg/g de peso húmedo) en glándula digestiva de *Corbicula fluminea* en septiembre 2019. Promedios ± desvío estándar (n=3) en los distintos sitios de muestreo. RC: río Capitán, RPP: río Paraná de las Palmas, CA: canal Arias y RL: río Luján. < b: menor al blanco. Asterisco o letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05).

En el muestreo de diciembre 2019 solo se encontraron individuos sobrevivientes en el río Paraná de las Palmas. La concentración bioacumulada de los metales determinados en glándula digestiva de estos individuos se muestra en la Tabla 12.

DICIEMBRE 19		SITIO
METAL	RPP	
Cr (mg/g peso húmedo)	6,09 ± 0,63	
Ni (mg/g peso húmedo)	1,84 ± 0,64	
Cd (mg/g peso húmedo)	< b	
Pb (mg/g peso húmedo)	< b	
Fe (mg/g peso húmedo)	32,84 ± 4,94	
Zn (mg/g peso húmedo)	< b	
Cu (mg/g peso húmedo)	7,58 ± 0,47	

Tabla 12. Concentración de metales (mg/g de peso húmedo) en glándula digestiva de *Corbicula fluminea* en diciembre 2019. Promedios ± desvío estándar (n=3) en el río Paraná de las Palmas (RPP). < b: menor al blanco.

El ordenamiento de los sitios en las diferentes fechas de muestreo junto a la bioacumulación en glándula digestiva de los individuos de *C. fluminea* extraídos de los distintos sitios, en relación con la concentración de metales, explicó el 72,4 % de la varianza

total (Figura 17). El CP1 se correlacionó directamente con el cadmio, cromo, níquel, plomo, e inversamente con el cobre (explicando el 50,7 % de la varianza). El CP2 se correlacionó directamente con el hierro y zinc (explicando el 21,7 % de la varianza). El ordenamiento de los metales reveló una asociación de los valores más altos de cadmio, cromo, níquel y plomo con el río Capitán en marzo 2019 y el Paraná, canal Arias, río Luján en septiembre 2019. Mientras que los mayores valores de cobre, hierro y zinc se asociaron a la bioacumulación en glándula digestiva de *C. fluminea* en los individuos del canal Arias en junio, septiembre 2019, y en los del río Luján en septiembre 2019. La distribución de los sitios y la bioacumulación en *C. fluminea* se ordenan hacia los valores más bajos de las variables del CP1 y CP2, respectivamente, en las mismas fechas de muestreo (Figura 17).

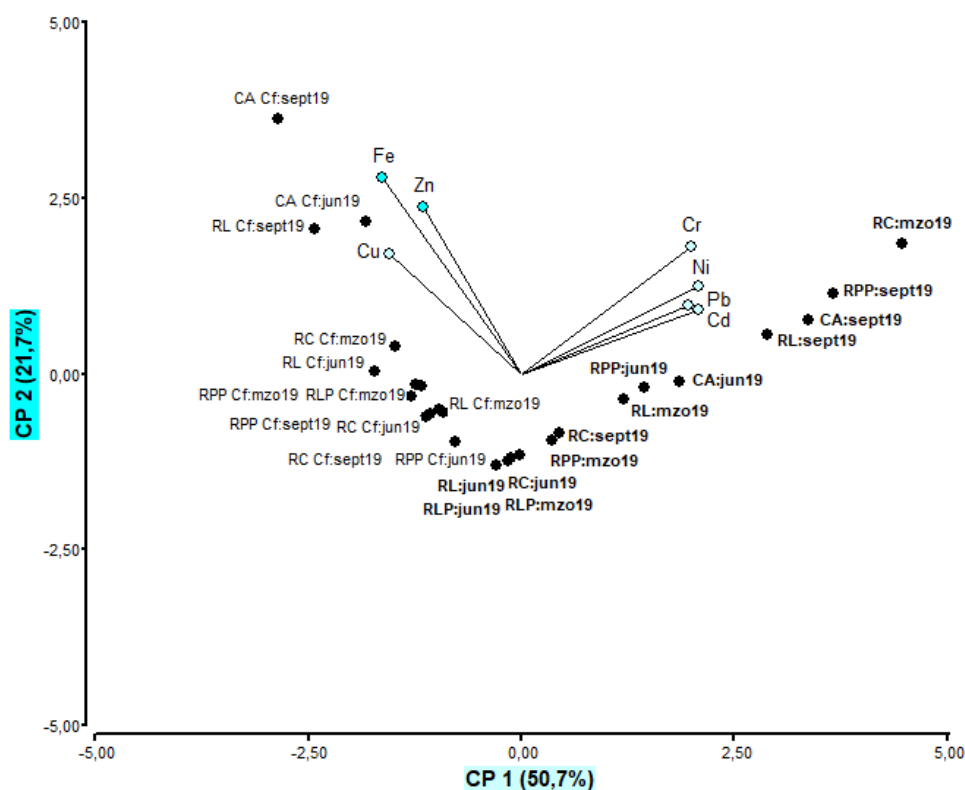


Figura 17. ACP de metales en función de los sitios, fechas de muestreo y bioacumulación en glándula digestiva de *C. fluminea*. RC: Río Capitán, RPP: Río Paraná de las Palmas, RLP: Río de la Plata, CA: Canal Arias, RL: Río Luján. Mzo19: marzo 2019, jun19: junio 2019, sept19: septiembre 2019. Cf: *C. fluminea*. Cd: cadmio, Cr: cromo, Cu: cobre, Fe: hierro, Ni:

níquel, Pb: plomo, Zn: zinc. Círculo celeste claro al final de vector: variable del CP1; círculo turquesa: CP2.

Concentración de metales en glándula digestiva de *C. fluminea* y *D. delodontus*

Se comparó la concentración de metales bioacumulada en glándula digestiva de las dos especies entre los muestreos de junio y septiembre 2019 en el río Paraná de las Palmas. Al comparar entre especies en cada una de las dos fechas de muestreo, en junio 2019, solo la concentración de cobre resultó significativamente mayor ($p < 0,05$) en *C. fluminea*. En septiembre lo fue el zinc y el cobre en *C. fluminea*, mientras que el níquel y hierro lo en *D. delodontus* (Tabla 13). En la comparación entre fechas de muestreo para cada una de las especies, en *C. fluminea* solo la concentración de zinc fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en septiembre 2019, mientras que en *D. delodontus* resultó significativamente mayor el cromo, hierro en septiembre 2019 y el cobre en junio 2019 (Tabla 13).

MUESTREO	JUNIO 19		SEPTIEMBRE 19	
METAL/ESPECIE	<i>C. fluminea</i>	<i>D. delodontus</i>	<i>C. fluminea</i>	<i>D. delodontus</i>
Cr (mg/g peso húmedo)	< b	2,07 ± 0,72	< b	0,23 ± 0,03*
Ni (mg/g peso húmedo)	< b	2,15 ± 1,90 ^{BC}	0,40 ± 0,14 ^{AC}	6,23 ± 2,79 ^B
Cd (mg/g peso húmedo)	0,40 ± 0,03 ^A	0,36 ± 0,30 ^A	< b	0,59 ± 0,25 ^A
Pb (mg/g peso húmedo)	1,20 ± 0,67 ^A	0,97 ± 0,83 ^A	< b	0,48 ± 0,13 ^A
Fe (mg/g peso húmedo)	35,55 ± 10,89 ^A	51,44 ± 2,01 ^A	44,24 ± 26,38 ^A	169,9 ± 37,46 ^B
Zn (mg/g peso húmedo)	4,97 ± 2 ^A	19,89 ± 10,42 ^A	142,9 ± 47,51 ^B	37,90 ± 17,74 ^A
Cu (mg/g peso húmedo)	7,92 ± 0,76 ^A	1,19 ± 0,60 ^B	5,26 ± 2,29 ^A	1,03 ± 0,14 ^B

Tabla 13. Concentración de metales (mg/g de peso húmedo) en glándula digestiva de *C. fluminea* y *D. delodontus* en junio y septiembre 2019 en el río Paraná de las Palmas.

Promedios ± desvío estándar (n=3). < b: menor al blanco. Asterisco o letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

El ordenamiento del río Paraná de las Palmas en junio y septiembre 2019 junto a la bioacumulación en glándula digestiva de *C. fluminea* y *D. delodontus* para estos mismos muestreos, en relación con la concentración de los metales, explicó el 82,3 % de la varianza

total (Figura 18). El CP1 se correlacionó directamente con el cadmio, cromo, níquel, plomo, e inversamente con el cobre y zinc (explicando el 66,9 % de la varianza). El CP2 se correlacionó directamente con el hierro (explicando el 15,4 % de la varianza). El ordenamiento de los metales reveló una asociación de los valores altos de cadmio, cromo, níquel y plomo en el río Paraná tanto en junio como en septiembre 2019. Mientras que *C. fluminea* con valores altos de bioacumulación para zinc en ambos muestreos y *D. delodontus* para el hierro en ambas fechas. Los valores altos de los metales que se asociaron con su presencia en el agua del río Paraná no fueron los mismos que se asociaron con la mayor bioacumulación en glándula digestiva de ambas especies (Figura 17).

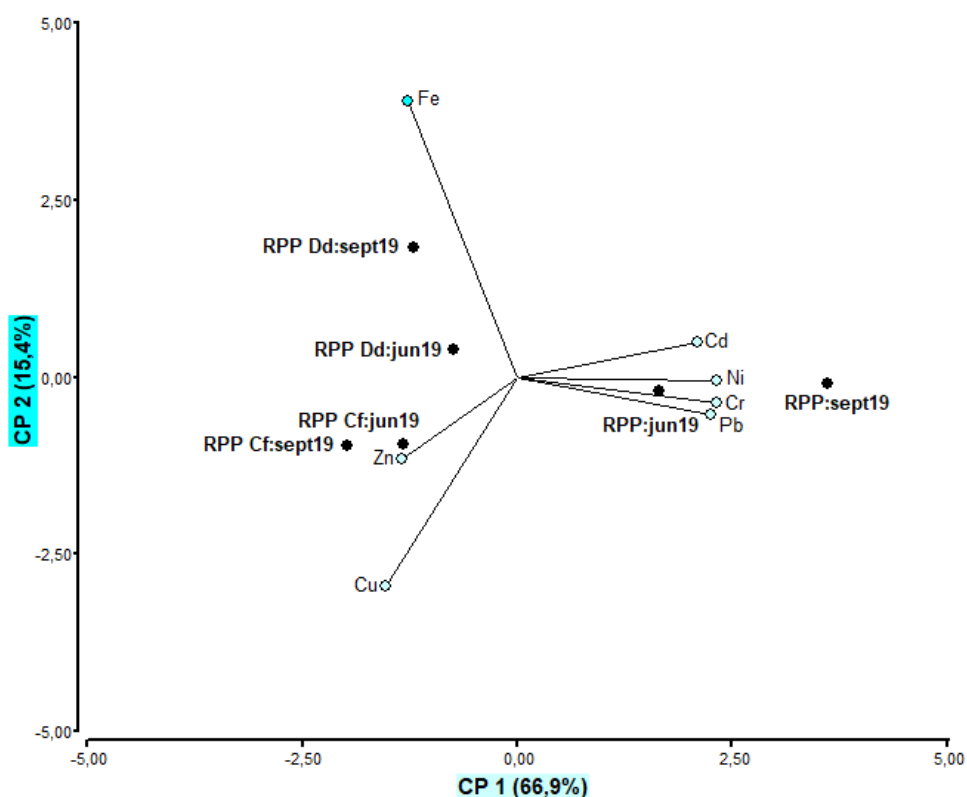


Figura 18. ACP de metales en el río Paraná de las Palmas en junio, septiembre 2019 y su bioacumulación en glándula digestiva de *C. fluminea* y *D. delodontus*. RPP: Río Paraná de las Palmas, jun19: junio 2019, sept19: septiembre 2019, Cf: *C. fluminea*, Dd: *D. delodontus*. Cd: cadmio, Cr: cromo, Cu: cobre, Fe: hierro, Ni: níquel, Pb: plomo, Zn: zinc. Círculo celeste claro al final de vector: variable del CP1; círculo turquesa: CP2.

DISCUSIÓN

Las concentraciones de cromo, cobre, níquel, zinc, hierro, cadmio y plomo registradas en esta tesis duplican o aún más, a las obtenidas por Cataldo *et al.* (2001), O'Farrell *et al.*, (2002), Lombardo *et al.*, (2010), evidenciando un aumento significativo con el paso de los años debido al aumento de actividades industriales, agrícolas, ganaderas y urbanas. En 2001, Cataldo *et al.*, registraron concentraciones de cromo, plomo y zinc que superaban los valores guía establecidos por la Ley 24051 (Cataldo *et al.*, 2001). En 2002, O'Farrell *et al.*, los valores de hierro, zinc, cromo, cobre, cadmio y plomo medidos también lo hacían. En este trabajo, los mismos metales analizados por O'Farrell a principios de los 2000, siguen superando, en cada sitio y fecha de muestreo, los niveles guías establecidos para la protección de la vida acuática en agua dulce superficial, alcanzando los mayores valores en el mes de septiembre 2019, en el río Luján, Paraná de las Palmas y canal Arias. En esta fecha también se registró el aumento de las concentraciones de atrazina en el río Luján, 2,4 D en el canal Arias, azoxistrobina y cyflutrin en el río Paraná de las Palmas, en relación con los otros tiempos de muestreo. El aumento de las concentraciones de metales y pesticidas estaría asociado al aumento de la conductividad eléctrica y los sólidos suspendidos totales que se observa en esta fecha de muestreo (observado en el primer capítulo de la tesis), relacionado, según Baigún *et al.* (2008), Riglos *et al.* (2010) y Pizarro *et al.* (2007), al fenómeno de sudestada y al incremento de aportes minerales u orgánicos provenientes de afluentes. Esto también estaría relacionado, probablemente, con la época de mayor actividad agrícola, ganadera, industrial, comercial, de extracción de arena y dragado de ríos. Este aumento en la concentración de metales y pesticidas en el río Luján, canal Arias y río Paraná de las Palmas, también se vió reflejado en el índice de calidad el agua, a través del cual fueron clasificados como "Muy Pobre". En comparación a una mejor calidad "Pobre" del río Capitán. Con la simple remoción de un solo parámetro de los considerados en el cálculo del índice, el valor para ese sitio en diciembre 2018 cambió de "Mala" a "Excelente". Esto evidencia la elevada sensibilidad y variabilidad del índice.

Páez-Osuna (2005) indica que el cromo, níquel, zinc y cobre son elementos que comúnmente se encuentran en la naturaleza, aunque sus concentraciones se ven

exacerbadas por los desechos producidos por actividades industriales como las que se desarrollan en el río Luján, Paraná de las Palmas y Río de la Plata. Por otro lado, múltiples estudios previos han reportado que las concentraciones de pesticidas detectadas en el agua son consecuencia de las actividades agrícolas que se desarrollan río arriba, en las ciudades de Escobar y Zárate (Reboratti, 2010; Sansiñena *et al.*, 2018; Rodríguez Gutiérrez, 2019; Peluso, 2020). Dado que existen grandes extensiones de cultivo de soja, maíz y girasol, lindando con áreas ganaderas en zonas aledañas en la provincia de Buenos Aires (Reboratti, 2010). Las diferencias observadas en cuanto a las concentraciones registradas o no de pesticidas, se deberían a las fechas de su utilización en la actividad agrícola. El registro en el agua de acetoclor en marzo y junio 2019 en el río Paraná de las Palmas, pero no en las demás fechas de muestreo, probablemente se deba a que es un herbicida pre-emergente que se aplica antes de realizar el cultivo en plantaciones de maíz, soja y girasol. Por el contrario, la concentración más alta de azoxistrobina obtenida en septiembre en el mismo sitio, podría ser consecuencia de su utilización como fungicida al final del ciclo en el cultivo de soja. A su vez, se registraron concentraciones apenas detectables de ciflutrina en septiembre 2019 en el Paraná, un insecticida utilizado en cultivos de girasol, soja y como antiparasitario en el ganado. La utilización de ciflutrina en actividades agrícolas ha sido prohibida en varios países a partir del año 2020 por los efectos neurotóxicos observados en diversos animales, incluidos los mamíferos (Rodríguez Gutiérrez, 2019). El registro de ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4 D), a bajas concentraciones, en agua superficial del canal Arias en septiembre y diciembre 2019, podría ser consecuente de un uso excesivo puntual en un lugar cercano al punto de muestreo, ya que no se determinó su presencia en el río Paraná ni el Luján. El Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), prohibió su uso en junio del 2019, al ser un herbicida sistémico post-emergente para malezas de hoja ancha, con alta volatilidad y posible persistencia/acumulación bajo condiciones secas, temperaturas bajas o muy altas y poca actividad biológica (SENASA, 2019). Por su parte, se evidenciaron altas concentraciones de atrazina en el río Luján en los meses de marzo, junio, septiembre 2019 y de deltametrin en diciembre 2019. En 2014, De Gerónimo *et al.* mostraron evidencia de que la atrazina era uno de los herbicidas más empleados en la

provincia de Buenos Aires en cultivos de trigo, maíz, soja, girasol, cebada y papa. Debido a su baja volatilidad, solubilidad en agua, alta solubilidad en solventes polares, elevada persistencia en suelo y agua (con una vida media de 30 a 120 días) (Aparicio *et al.*, 2015), alta movilidad, y que el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) permite su uso sin restricciones pre y post-emergencia en cultivos de cereales, plantas forrajeras, caña de azúcar, té, a pesar de estar prohibido en otros 37 países (PAN, 2020), es que probablemente se observan altas concentraciones en tres de los cuatro muestreos analizados. En el muestreo que no se observó altas concentraciones de este pesticida, se obtuvo una elevada concentración de deltametrin, posiblemente porque es un insecticida de amplio espectro que se utiliza post cosecha para proteger el almacenamiento de granos de cereal, curar y conservar la madera, tratar las infecciones en el ganado (PISSQ, 1993), aumentando por la suspensión de partículas consecuente de varios días de nivel hídrico alto y mayor caudal al ser un pesticida que suele ser absorbido por partículas.

En cuanto a los pesticidas registrados en el río Capitán, el acetoclor y la azoxistrobina solo se determinaron en marzo 2019. Sin embargo, el glifosato y el ácido amino-metil-fosónico (AMPA), de todos los sitios, solo se observó en el Capitán en los muestreos de marzo, junio y septiembre 2019. El glifosato es un herbicida no selectivo post-emergente, sistémico y de amplio espectro utilizado en agricultura, horticultura, silvicultura e incluso uso doméstico en jardinería, mientras que el AMPA es su metabolito prioritario de degradación. La presencia de dichos pesticidas solo en este sitio se debería a que en el río Paraná se diluyen, mientras que en el Capitán no, por su menor caudal y resuspensión del sedimento frente niveles hídricos bajos, al ser químicos fuertemente adsorbidos por los componentes del suelo, tales como las arcillas, óxidos de hierro y ácidos húmicos, encontrándose en agua superficial al ser resuspendidos. También, porque sobre el curso del Capitán, el glifosato es utilizado de manera doméstica en los parques de viviendas de fin de semana con o sin cultivo para desmalezar y eliminar insectos como los mosquitos (conversación personal con vecinos). El tiempo de estos compuestos en el suelo se da en función de su retención en el mismo y está afectada por la composición mineralógica del suelo; frente a un aumento de materia orgánica y hierro en agua, su biodisponibilidad

aumenta. A su vez, la adsorción en suelo disminuye con el incremento del pH, y en suelos estructurados con alta proporción de macroporos cuando el suelo se encuentra cercano a saturación, el glifosato es transportado básicamente por agua (Camino y Aparicio, 2010). Además, estudios de lixiviación y escurrimiento indican que el glifosato puede ser transportado hacia las capas profundas del suelo debido al flujo preferencial por macroporos, o hacia cursos de agua superficiales cuando su aplicación se realiza en momentos anteriores a lluvias intensas (Petensen *et al.*, 2002; Jaynes *et al.*, 2001). Por otro lado, en el río Capitán, se evidenció una elevada concentración de malatión en el muestreo de diciembre 2019, a pesar de estar prohibida su importación, comercialización y uso en toda Argentina desde el 2017 (SENASA, 2017). Este organofosforado se ha utilizado como insecticida en el agro, ectoparasiticida en medicina veterinaria, domisanitario para el control de plagas urbanas, agente terapéutico externo para algunas enfermedades humanas y agente químico para el control de vectores de interés para salud pública. Permanece meses en el suelo y en presencia de luz solar se degrada a compuestos más tóxicos (SENASA, 2017). Argentina es el segundo país con mayor utilización de pesticidas por hectárea en sus sistemas productivos, que a su vez se mezclan con otros compuestos químicos utilizados en áreas residenciales (Gagneten *et al.*, 2021). Estas mezclas ingresan a cuerpos de aguas subterráneas y superficiales, causando alteraciones en los cursos hídricos (Pérez *et al.*, 2013). La atrazina y el glifosato solo son considerados como residuos peligrosos en aguas dulces superficiales utilizadas para consumo humano tras un tratamiento convencional, siendo su nivel límite permitido, 3 µg/L y 280 µg/L respectivamente. A pesar de que las aguas muestreadas no deberían ser utilizadas para beber al no presentar ningún tipo de tratamiento, es importante destacar que mucha gente de la zona la utiliza para cocinar, se alimenta de peces, cangrejos, almejas que la habitan, mientras que toda la población del lugar hace uso para lavado e higiene personal. Por ello, es que hacemos hincapié en que la atrazina supera ampliamente dicho nivel en el río Luján en marzo, junio y septiembre 2019. Esto hace que sea inconcebible que este pesticida, como también otros, no sea considerado como residuo peligroso en los niveles guía de calidad de agua para la protección de la vida acuática en agua dulce superficial.

Si bien la mayoría de los efluentes industriales, así como los desechos domiciliarios, son vertidos en el río con escaso o nulo tratamiento previo, el altísimo caudal del río Paraná de las Palmas (alrededor de 18000 m³ por segundo) tendría, presumiblemente, un efecto depurador muy importante (Colombo *et al.*, 1995; Boltovskoy *et al.*, 1997). Por otro lado, las mareas y sudestadas ocasionan cambios en el comportamiento de las variables de los ríos según la altura y dirección del agua, siendo el régimen hidrológico, el principal factor de regulación de las variaciones entre los distintos meses, además de la intensidad diferencial de las actividades antrópicas en los distintos periodos del año. El aumento del nivel del río debido a las crecidas produciría una dilución y disminución de la concentración de los contaminantes, como en septiembre 2018 y diciembre 2019 en nuestro estudio. Mientras que, en los períodos de bajantes, aumentarían los sólidos en suspensión, resuspendiendo en el agua aquellos elementos químicos que se encuentren biodisponibles en el sedimento, tal como también fue reportado previamente por Cataldo (2001) y observado en este estudio en junio 2019. Sin embargo, frente a niveles hídricos altos (marzo 2019) y sudestadas (septiembre 2019) con gran carga sedimentaria en suspensión, el río Paraná de las Palmas, aporta al tramo inferior contaminantes provenientes del tramo superior y se produce un “tapón hidráulico” que impide el normal drenaje de los cursos de agua hacia el estuario del Río de la Plata (Pizarro *et al.*, 2007) siendo las concentraciones de los contaminantes mayores a las observadas en situaciones de bajantes, tal como ocurrió en el mes de septiembre 2019.

Las expresiones cuantitativas de la Ley Nacional 24051 (decreto 831/93) están basadas en información básica proveniente de estudios con condiciones estandarizadas que asumen que los efectos de los parámetros de calidad de agua sobre los organismos son independientes entre sí, sin reflejar la realidad de lo que ocurre en el ambiente. Esto se observa en los resultados obtenidos en este capítulo, donde las condiciones de un sitio pueden ser muy distintas dependiendo del momento en el que se toman las muestras y según las variables que se tienen en cuenta en la interpretación o análisis de los resultados obtenidos. Por ello, mientras más se abarque en cuanto a tiempo, espacio, parámetros

tenidos en cuenta, más fehaciente será el resultado obtenido y nos estará demostrando una buena descripción de la dinámica del lugar.

Diferentes especies de bivalvos mostraron acumulación de metales en concentraciones proporcionales a las presentes en el medio, siendo el principal sitio de metabolización y bioacumulación, la glándula digestiva (Rainbow, 1990; Adler-Ivanbrook y Breslin, 1999; Sabatini, 2010). En bivalvos, la glándula digestiva concentra mayor cantidad de metales en comparación al resto de los órganos (Cossa, 1989; Nott *et al.*, 1993; Sabatini, 2010). Las concentraciones más altas de metales tanto en agua como en glándula digestiva de *C. fluminea*, en las poblaciones provenientes del río Luján y canal Arias, probablemente son consecuencia de la influencia severa de la contaminación presente de su tributario el río Reconquista y de las actividades antrópicas que se realizan río arriba del mismo Luján, coincidiendo con O'Farrell *et al.*, (2002), Lombardo *et al.*, (2010), Suárez y Lombardo (2012). La dinámica de este sistema hídrico es compleja, debido a que, en los tramos inferiores del Luján y Reconquista, el régimen hidrológico es influenciado por la pluviosidad en sus cuencas alta y media, las fluctuaciones y crecientes del río Paraná, las mareas del Río de la Plata y sudestadas. Sin embargo, frente a mareas bajas, se invierte el flujo produciendo como consecuencia intercambios de masas de agua entre zonas que sería imposible observar en un sistema hidrológico unidireccional. Así, una masa de agua que desciende por el cauce del Reconquista llega al río Luján con niveles hídricos bajos e influye en el canal Arias (Suárez y Lombardo, 2012). Si bien los metales mayormente bioacumulados en ambas especies no coincidieron con aquellos que estuvieron presentes a mayores concentraciones en el agua, en las dos situaciones, fluctuaron en el tiempo alcanzando las mayores concentraciones en el mismo muestreo. En marzo 2019, en el agua y en los individuos *C. fluminea* del río Capitán, mientras que en septiembre 2019, en el río Paraná de las Palmas (incluyendo a *D. delodontus*), canal Arias, río Luján y los individuos de *C. fluminea* de estos sitios. La falta de coincidencia entre los metales más concentrados en agua y los más bioacumulados, se debe a que la bioacumulación de metales en glándula digestiva no es proporcional a la concentración de metales en agua, sino que podría estar relacionada con los metales presentes en su alimento y en el sedimento. Dado que el grado de

bioacumulación depende de la concentración, de la biodisponibilidad del metal en el medio en el que ocurra la absorción (agua, dieta, partículas) y de los mecanismos de absorción, acumulación y excreción (Wang *et al.*, 1995; Chapman *et al.*, 1996). Existiendo diferencias entre estos mecanismos dependiendo del tipo de metal, según sean esenciales o no para su metabolismo y crecimiento (Chapman *et al.*, 1996; Wang y Fisher, 1999). Las diferencias temporales en las actividades antrópicas que se realizan en el área de estudio y el régimen hidrológico son el principal factor de regulación de las concentraciones espacio-temporales de los metales y pesticidas en el agua.

CAPÍTULO 3

DETERMINACIÓN MORFOLÓGICA E HISTOLÓGICA

INTRODUCCIÓN

Las alteraciones morfométricas e histopatológicas se han vuelto una de las herramientas más utilizadas como biomarcadores de exposición, frente a la creciente evolución de los monitoreos y evaluaciones de los efectos tóxicos de distintos contaminantes en los ecosistemas acuáticos (Oropesa *et al.*, 2017). Estas brindan información sobre el efecto tóxico de la contaminación sobre la anatomía y funcionalidad de los órganos tales como las branquias, glándula digestiva y manto (Rodríguez de la Rúa *et al.*, 2005).

A través de la morfometría se pueden identificar alteraciones externas, como la disminución o aumento de la masa de la glándula digestiva, producido por la modificación en el consumo de las reservas energéticas frente a condiciones estresantes para cubrir la activación de las defensas detoxificantes y antioxidantes (Smolders *et al.*, 2004; Mouneyrac *et al.*, 2008; Bianchi, 2014).

La histología resulta una herramienta útil para evaluar los efectos letales, subletales y crónicos de la contaminación. Las alteraciones histológicas son el resultado de cambios bioquímicos y fisiológicos en un organismo y sirven para predecir posibles efectos sobre el crecimiento, reproducción, comportamiento y en las poblaciones (Hinton y Laurén, 1990). Su uso permite el análisis de diferentes tejidos, órganos e incluso animales enteros (huevos, larvas, adultos de especies pequeñas). Si bien varios órganos pueden ser evaluados, las branquias y la glándula digestiva resultan estratégicos desde el punto de vista toxicológico (Amé y Carriquiriborde, 2021).

Las branquias son susceptibles a contaminantes ambientales debido a que cumplen múltiples funciones: respiración, alimentación, regulación iónica, y excreción de desechos nitrogenados (Amé y Carriquiriborde, 2021). Por su parte, la glándula digestiva juega un rol clave en el metabolismo energético y respuesta de defensa a compuestos tóxicos exógenos. Por ende, su análisis histológico puede evidenciar desbalances metabólicos debido a un mayor depósito de glucógeno o lípidos (vacuolas en sus hepatocitos), alteraciones estructurales o patologías producto de exposiciones crónicas, entre otras (Amé y Carriquiriborde, 2021).

Branquias

Las branquias se encuentran dentro de la cavidad paleal entre los pliegues del manto y la masa visceral (Figura 19). Son estructuras conformadas por numerosos filamentos branquiales alineados en sentido antero-posterior uniéndose entre sí mediante cilias o uniones tisulares formando láminas plegadas (Zelaya y Güller, 2014). Estas láminas poseen espacios entre los filamentos branquiales (en las uniones ciliares) o una serie de poros (en las uniones tisulares), a través de las cuales el agua pasa de un lado a otro de la branquia (Morton, 1983). La corriente de agua que ingresa a través de la abertura o el sifón inhalante, llega a la cavidad paleal con altos niveles de oxígeno y con partículas de alimento. La branquia actúa como una superficie favorable para el intercambio gaseoso y el proceso de alimentación.

En varios grupos de bivalvos, particularmente las especies de pequeño tamaño corporal (microbivalvos, tal como *Corbicula fluminea*), las branquias además de ser donde ocurre el intercambio gaseoso y participar de manera directa en la captación del alimento, intervienen en la reproducción, siendo el lugar físico donde se desarrollan los huevos y/o embriones (Chaparro *et al.*, 1993; Gallardo, 1993; Ituarte, 2009; Zelaya e Ituarte, 2009, 2013).

Las láminas branquiales se encuentran tapizada por cilias (Owen, 1978) que varían en su densidad y morfología en las distintas zonas de los filamentos. Las cilias frontales se encuentran ubicadas donde la branquia tiene el primer contacto con la corriente de agua; las cilias adfrontales en el extremo opuesto a las frontales; y las laterales entre las láminas branquiales contiguas (Galtsoff, 1964). Las cilias frontales son responsables de la limpieza de la branquia y la movilización del alimento hacia la boca; mientras que las laterales generan la corriente de agua que ingresa a la cavidad paleal. Mediante las cilias son capaces de retener organismos microscópicos y pequeñas partículas de materia orgánica presentes en el agua (Jørgensen, 1996). En bivalvos, las branquias cumplen un rol fundamental en el proceso de alimentación, no sólo por presentar células ciliadas responsables de la generación de la corriente de agua que las atraviesa, sino también por ser la estructura que retiene, concentra, selecciona y moviliza el alimento (Galtsoff, 1964; Morton, 1983; Ward

et al., 1993). También, poseen estructuras glandulares que secretan las sustancias mucosas responsables de adherir el alimento (Atkins, 1937; Foster-Smith, 1975).

Debido a las funciones de transporte que cumplen, son órganos adecuados para observar el efecto tóxico de un contaminante. Su daño tisular reduce el consumo de O₂, la excreción de CO₂ e interrumpe la función osmoreguladora de los organismos acuáticos (Farombi *et al.*, 2007). En algunas especies de bivalvos se han reportado cambios en el espesor o morfología del epitelio de los filamentos branquiales, malformaciones como fusión de filamentos y crecimiento anormal de tejidos en áreas contaminadas (Sunila, 1987; Svärth, 2003; Nogarol *et al.*, 2016).

Glándula digestiva

La glándula digestiva (Figura 19) es donde ocurre la digestión intracelular en bivalvos, siendo un órgano detoxificador con alta actividad metabólica y de generación de defensas (Marigomez *et al.*, 2002; Dimitriadis *et al.*, 2004). Se conforma por túbulos ciegos que presentan un epitelio cilíndrico simple con células digestivas y células basófilas. Los lisosomas de las primeras constituyen el sitio blanco de varios contaminantes (Cajaraville *et al.*, 1993; Moore, 1990), ya que acumulan gránulos insolubles formados por lipofuscinas, producto del proceso de peroxidación de lípidos y lipoproteínas (Terman y Brunk, 2004; Viarengo *et al.*, 2007). La cantidad de gránulos acumulados resulta un indicador del grado de daño celular (Viarengo y Nott, 1993) siendo de gran utilidad en biomonitoreos (Mathew y Damodaran, 1997; Krishnakumar *et al.*, 1994; Aarab *et al.*, 2011).

Manto

El manto delimita un espacio interno denominado cavidad paleal, rodeando la masa visceral y pie (órgano asociado a la locomoción y alimentación), al estar por debajo de las valvas, pegados a ellas, dividido en dos pliegues (Figura 19), siendo responsable de la secreción y regeneración de cada una de las valvas respectivamente (Waller, 1980). Los distintos tipos de glándulas y mucosas que presenta son importantes en la reproducción, al formar membranas protectoras de huevos y embriones (Ockelmann, 1964; Oldfield, 1964; Sartori *et al.*, 2006).

El borde del manto cumple un rol fundamental al contener dos aberturas. En una, se da la canalización de la corriente de agua que ingresa y egresa de la cavidad paleal, al proyectar por medio de esa abertura, dos estructuras tubulares que reciben el nombre de sifones (inhalante y exhalante, según ingrese o egrese el agua, respectivamente). En la otra, la locomoción y captación de partículas, al proyectar el pie (Zelaya y Güller, 2014).

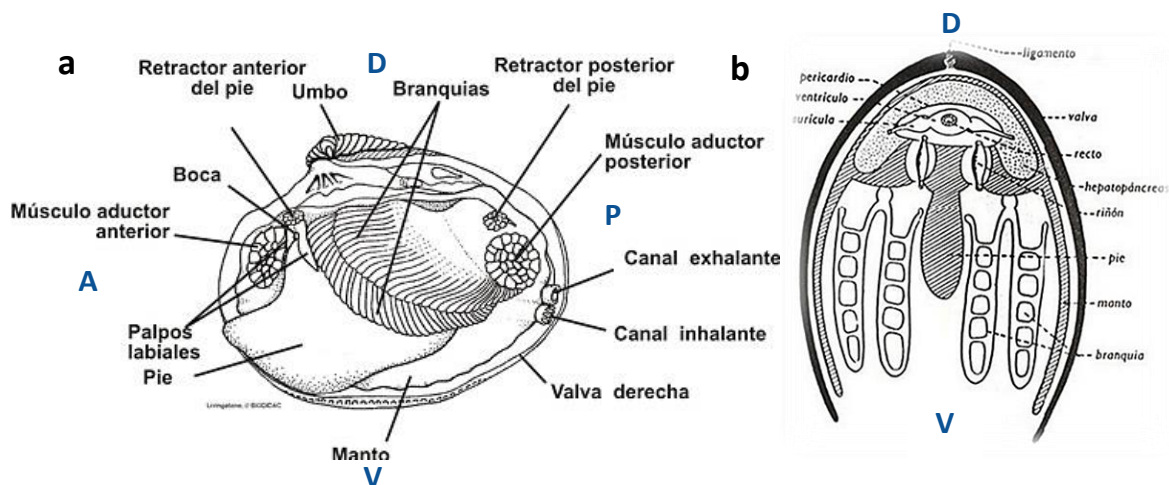


Figura 19. Esquema de masa visceral en un molusco bivalvo. Vista sagital (a) y transversal (b). A: anterior, P: posterior, D: dorsal y V: ventral.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

O4. Caracterizar la morfología e histología de *Corbicula fluminea* en relación con las características físicas y químicas de los distintos cuerpos de agua.

H4. La morfología e histología de *Corbicula fluminea* se ven alteradas por el aumento de la concentración de contaminantes en el agua y bioacumulados.

O5. Comparar la morfología e histología de *Corbicula fluminea* y *Diplodon delodontus* en el río Paraná de las Palmas en relación con el tiempo de exposición.

H5. Las alteraciones morfológicas e histológicas en *Corbicula fluminea* son menores que en *Diplodon delodontus*.

METODOLOGÍA

Cálculo de índices morfométricos

Al realizar la disección de cada individuo, se pesaron los órganos removidos a utilizar (branquias, glándula digestiva, manto); se midió el largo, ancho y alto de las valvas (Figura 20). Utilizando estos datos se calculó el factor de masa de la glándula digestiva (FGD) teniendo en cuenta la relación entre: [peso húmedo de la glándula digestiva (g) / largo de la valva (cm)] x 100; el factor de masa branquial (FB): [peso húmedo de las branquias (g) / largo de la valva (cm)] x 100; y el índice hepatosomático (IHS): [peso húmedo de la glándula digestiva (g) / peso húmedo total (g)] x 100, para medir las reservas de energía de un animal (Sabatini *et al.*, 2011; Yusseppone, 2016).



Figura 20. Mediciones morfométricas. Largo, ancho y alto (de izquierda a derecha).

Evaluación histológica de la glándula digestiva en *C. fluminea* y *D. delodontus*

El análisis de las posibles alteraciones histológicas en glándula digestiva de los animales de *C. fluminea* y *D. delodontus* extraídos en junio y septiembre 2019 del río Paraná de las Palmas, se realizó mediante observación al microscopio óptico. Los órganos de los animales colectados fueron fijados en solución Formol Calcio de 24 a 48 hs, y luego se transfirieron a etanol 70 % hasta realizar la inclusión. Para esto, primero se deshidrataron las muestras mediante el pasaje de sucesivos alcoholes crecientes: 80° por dos horas con un recambio, 90° y 96° una hora y media con un recambio, cada uno, y 100° durante 45

minutos. Luego, se sumergieron en xilol o xileno 30 minutos, dos horas en xilol-parafina 1:1, de dos a tres horas en la primera parafina y lo mismo en la segunda, para realizar la inclusión en estufa. Se realizaron cortes del órgano a evaluar utilizando un micrótomo Leica RM2125 obteniendo secciones de 6 µm de grosor que fueron montados en portaobjetos. Al momento de realizar la tinción, se desparafinaron con dos cambios de xilol de 5 min cada uno, se hidrataron por 2 min en alcoholes decrecientes: 96°, 90°, 80°, 70° y agua destilada. Se empleó una técnica de coloración topográfica, utilizando Hematoxilina-Eosina (H-E), para observar la morfología general al microscopio óptico. Tras desparafinar e hidratar, como se mencionó con anterioridad, se coloreó 10 min con hematoxilina. Luego se viró la coloración con agua de la canilla hasta tomar un color violeta y se coloreó con eosina por 2 min. Se deshidrató, secó bien cada portaobjetos y se montó con el bálsamo de Canadá sintético (Biopack) y cubreobjetos acorde al tamaño de los cortes (Hermida, 2003; Hermida, 2019; Leis, 2019). Junto al Dr. Henrique Knack de Almeida, se analizaron los cortes aleatoriamente en un microscopio óptico (Zeiss Axiostar) y se registraron fotográficamente con una cámara Canon (Canon G10) con el fin de realizar una caracterización descriptiva del órgano.

Análisis histomorfométrico de la glándula digestiva en *C. fluminea* y *D. delodontus*

Se realizaron análisis histomorfométricos en 12 individuos (360 imágenes de túbulos digestivos), 7 de *C. fluminea* y 5 especímenes de *D. delodontus* extraídos en junio y septiembre de 2019 del río Paraná de las Palmas, con el fin de evaluar el estado de la glándula digestiva, comparando los cambios en el epitelio y lumen de los túbulos. Para esto, se tomaron aleatoriamente imágenes de las secciones coloreadas con H-E de los túbulos digestivos con un aumento de 400 x (30 imágenes por individuo) y se examinaron utilizando el software ImageJ. Cada túbulo digestivo se describió individualmente según las tres fases principales (tipo I: fase de retención; tipo II: fase de absorción; tipo III: fase de desintegración o atrófica) resumidas por Rocha *et al.* (2016), determinando la proporción de cada tipo de túbulo digestivo por individuo. El estado de los túbulos digestivos se analizó en términos de área del tejido epitelial (So), área del lumen del túbulo digestivo (Si),

perímetro del túbulo (P_o), perímetro del lumen (P_i), altura del epitelio (h) [$h = 2 \times (S_o - S_i) / (P_o + P_i)$] (Marigómez *et al.*, 1990) y circularidad (c) [$c = 4 \times (S_o / P_o^2)$] (Carella *et al.*, 2015).

Análisis estadísticos

Se llevaron a cabo Anovas de Un Factor (Sokal y Rohlf, 1999) y Tests de Tuckey a posteriori, entre los pesos de los órganos y tallas (largo, alto y ancho valvar) entre los ejemplares de *C. fluminea* extraídos de los cinco sitios para cada fecha de muestreo (diciembre 2018, marzo, junio y septiembre 2019). También, mediante el mismo análisis estadístico, se comparó cada índice morfométrico calculado (FB, FGD, IHS) entre sitios para las mismas fechas de muestreo. Se utilizó el programa GraphPad Prism 6. Para *D. delodontus* se realizaron Pruebas de comparación de medias de Student (Student, 1908) con Tests de Tuckey, contraponiendo las dos fechas de muestreo en las que se extrajo la especie en el río Paraná de las Palmas, por medio del programa InfoStat/P. Por otro lado, al comparar los datos obtenidos, entre especies y muestreos (junio y septiembre 2019) en el río Paraná de las Palmas, se llevaron a cabo Anovas de Dos Factores con Pruebas Tuckey a posteriori, para cada una de las variables medidas, con el programa GraphPad Prism 6.

Tras observar diferencias entre los túbulos digestivos, se determinó el área del tejido epitelial, área del lumen del túbulo digestivo, perímetro del túbulo, perímetro del lumen, altura del epitelio y circularidad, definiendo tres tipos de túbulos. Con estos datos se llevaron a cabo Anovas de Dos Factores para realizar comparaciones entre tipos de túbulos y fechas de muestreo (junio y septiembre 2019 del río Paraná de las Palmas) para cada especie por separado después de comprobar la normalidad (prueba de Kolmogorov-Smirnov) y la homogeneidad de las varianzas (prueba de Levene), aplicando transformaciones logarítmicas cuando fue necesario. Se realizaron pruebas de Tukey (Sokal y Rohlf, 1995) para visualizar diferencias significativas o no y Análisis de Efectos Simples para visualizar interacciones o no. Cuando no se verificaron los supuestos, se realizaron análisis no paramétricos de Mann Whitney y Kruskal Wallis. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statistica 7.1.

RESULTADOS

Índices morfométricos de *Corbicula fluminea*

Las tallas y pesos de los órganos (branquias, glándula digestiva, manto) de los ejemplares extraídos de *C. fluminea* en cada una de las fechas de muestreo fueron similares entre sitios. A pesar de que no se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) por fecha de muestreo entre los animales de los distintos sitios, a simple vista en el momento de la disección, se notó un aumento en el tamaño (acompañado de un leve aumento en el peso) de las glándulas digestivas de los ejemplares extraídos en el río Luján en junio y septiembre 2019 (Tabla 14).

DIC.18	PESO BRANQUIAS (g)	PESO G. DIGESTIVA (g)	PESO MANTO (g)	LARGO VALVA (mm)	ANCHO VALVA (mm)	ALTO VALVA (mm)
RC	0,115 ± 0,013	0,161 ± 0,018	0,177 ± 0,010	31,712 ± 0,726	18,621 ± 0,404	27,932 ± 0,411
RPP	0,093 ± 0,013	0,149 ± 0,029	0,134 ± 0,022	28,863 ± 0,920	17,094 ± 0,512	25,177 ± 1,024
RLP	0,104 ± 0,032	0,160 ± 0,031	0,172 ± 0,044	29,829 ± 2,170	17,881 ± 1,268	25,817 ± 2,734
CA	0,129 ± 0,014	0,224 ± 0,054	0,254 ± 0,028	29,726 ± 2,112	17,321 ± 1,424	25,521 ± 1,848
RL	0,112 ± 0,012	0,190 ± 0,030	0,164 ± 0,021	28,810 ± 1,728	17,276 ± 0,889	24,835 ± 1,986
MZO.19						
RC	0,051 ± 0,021	0,125 ± 0,050	0,098 ± 0,031	28,353 ± 2,961	16,531 ± 1,865	24,878 ± 2,763
RPP	0,051 ± 0,015	0,144 ± 0,036	0,082 ± 0,013	28,501 ± 1,912	16,693 ± 0,978	23,673 ± 1,210
RLP	0,078 ± 0,030	0,169 ± 0,088	0,144 ± 0,044	27,083 ± 2,544	15,872 ± 0,919	25,058 ± 3,063
CA	0,054 ± 0,016	0,143 ± 0,040	0,097 ± 0,026	29,171 ± 1,723	16,959 ± 1,070	24,878 ± 1,428
RL	0,084 ± 0,015	0,297 ± 0,092	0,201 ± 0,042	30,807 ± 1,531	18,123 ± 0,516	26,763 ± 2,181
JUN.19						
RC	0,049 ± 0,019	0,120 ± 0,040	0,059 ± 0,020	27,900 ± 2,462	16,339 ± 1,329	24,448 ± 1,930
RPP	0,046 ± 0,010	0,130 ± 0,025	0,077 ± 0,018	28,755 ± 2,139	16,955 ± 1,262	23,991 ± 1,909
RLP	-	-	-	-	-	-
CA	0,044 ± 0,012	0,160 ± 0,050	0,093 ± 0,035	29,413 ± 1,550	17,108 ± 0,805	24,444 ± 1,487
RL	0,062 ± 0,017	0,483 ± 0,108	0,157 ± 0,027	31,308 ± 1,820	18,596 ± 1,077	26,330 ± 1,982
SEP.19						
RC	0,044 ± 0,007	0,111 ± 0,013	0,054 ± 0,011	27,883 ± 1,055	16,169 ± 0,508	24,522 ± 0,821
RPP	0,055 ± 0,012	0,142 ± 0,048	0,067 ± 0,021	27,408 ± 2,243	16,465 ± 1,518	23,054 ± 1,690
RLP	-	-	-	-	-	-
CA	0,045 ± 0,008	0,125 ± 0,047	0,093 ± 0,027	28,929 ± 0,860	16,789 ± 0,440	24,836 ± 0,811
RL	0,078 ± 0,022	0,727 ± 0,161	0,194 ± 0,038	31,405 ± 2,225	18,575 ± 0,980	25,817 ± 2,184
DIC.19						
RC	--	--	--	--	--	--
RPP	0,081 ± 0,008	0,232 ± 0,067	0,447 ± 0,080	28,030 ± 1,130	16,392 ± 1,045	23,087 ± 0,595
RLP	-	-	-	-	-	-
CA	--	--	--	--	--	--
RL	--	--	--	--	--	--

Tabla 14. Morfometría de *Corbicula fluminea*. Promedio ± desvío estándar (n=5) de los individuos extraídos en cada sitio por muestreo. DIC.18: diciembre 2018, MZO.19: marzo 2019, JUN.19: junio 2019, SEP.19: septiembre 2019, DIC.19: diciembre 2019. RC: Río Capitán, RPP: Río Paraná de Las Palmas, RLP: Río de la Plata, CA: Canal Arias, RL: Río Luján. -: desaparición de jaulas, --: muerte de individuos.

Tras realizar los cálculos de índices morfométricos con los datos obtenidos de los pesos de los órganos y tallas de las valvas de *C. fluminea*, se comparó entre los animales de

las jaulas extraídas, el factor branquial (FB), el factor de glándula digestiva (FGD) y el índice hepatosomático (IHS), entre sitios para cada uno de los muestreos. En el muestreo de diciembre 2018, el FB y el IHS, no presentaron diferencias entre sitios ($p>0,05$). El FGD de los animales del canal Arias fue significativamente mayor ($p<0,05$) que el FGD de los ejemplares del río Paraná de las Palmas, Capitán y Río de la Plata. El FGD de los ejemplares del río Luján, no difirió de ninguno de los sitios ($p>0,05$). En marzo 2019, se observó un aumento significativo ($p<0,05$) del FGD en los individuos del río Luján. Esta diferencia se intensificó aún más en los muestreos de julio y septiembre 2019, observando los valores más altos en el FB, FGD e IHS ($p<0,05$) en los animales provenientes del río Luján, siendo mayor la diferencia con los individuos del río Capitán que con los ejemplares de los otros sitios. Mientras que el FGD e IHS de animales del río Capitán, Paraná de las Palmas, canal Arias en julio y en septiembre 2019, no presentaron diferencias significativas ($p>0,05$). El FB fue significativamente distinto entre los ejemplares extraídos del río Capitán y Luján ($p<0,05$) (Tabla 15).

Al observar los cambios en los índices morfométricos de *C. fluminea* de una fecha a otra de muestreo, se percibe un descenso en los valores de diciembre 2018 a marzo 2019, solo significativo ($p<0,05$) para el FB de los animales del río Capitán, el FB y FGD de los extraídos en el canal Arias. Seguido de un aumento significativo ($p<0,05$) en junio 2019, superando a los obtenidos en diciembre 2018, con excepción del FGD e IHS de los ejemplares del río Luján, presentando luego una leve disminución en septiembre 2019 ($p>0,05$). Este patrón en los valores, semejante a una pendiente negativa seguido de una curva sigmoidea, en general es observable en los tres índices morfométricos de los animales del río Capitán, Paraná de las Palmas, Río de la Plata, canal Arias y solo en el FB del río Luján. Sin embargo, el FGD y el IHS de los animales del río Luján, aumentaron de un muestreo a otro ($p<0,05$), mostrando un patrón en forma de pendiente positiva (Tabla 15).

DIC.18	FB	FGD	IHS
RC	3,655 ± 0,399 ^a	5,120 ± 0,527 ^{Aa}	35,565 ± 3,858 ^a
RPP	3,228 ± 0,394 ^{ac}	5,144 ± 0,995 ^{Aa}	39,317 ± 4,600 ^a
RLP	3,499 ± 1,051	5,413 ± 0,961 ^A	36,697 ± 4,536
CA	4,319 ± 0,579 ^a	7,452 ± 1,616 ^{Bac}	40,142 ± 10,005
RL	3,901 ± 0,560 ^{ac}	6,572 ± 0,887 ^{Aba}	40,564 ± 2,842 ^a
MZO.19			
RC	1,920 ± 0,477 ^{ABCb}	4,696 ± 1,288 ^{Ab}	45,881 ± 4,172 ^{ABb}
RPP	1,742 ± 0,499 ^{Aa}	5,002 ± 0,587 ^{Aa}	52,037 ± 3,089 ^{Bb}
RLP	2,939 ± 0,834 ^C	6,353 ± 3,022 ^A	42,375 ± 5,210 ^A
CA	1,883 ± 0,280 ^{ABb}	4,763 ± 1,160 ^{Ab}	47,432 ± 7,138 ^{AB}
RL	2,847 ± 0,528 ^{BCa}	10,050 ± 2,123 ^{Ba}	51,391 ± 3,657 ^{ABb}
JUN.19			
RC	3,898 ± 0,445 ^{Aa}	9,446 ± 1,965 ^{Abc}	52,326 ± 4,159 ^{Abc}
RPP	4,808 ± 0,557 ^{ABb}	13,790 ± 2,416 ^{Ab}	51,428 ± 2,201 ^{Ab}
CA	3,668 ± 0,544 ^{Aa}	13,341 ± 5,059 ^{Ab}	52,674 ± 7,184 ^A
RL	5,812 ± 1,198 ^{Bb}	45,730 ± 8,443 ^{Bb}	68,563 ± 8,365 ^{Bc}
SEP.19			
RC	3,550 ± 0,728 ^{Aa}	8,995 ± 2,615 ^{Ac}	53,092 ± 1,784 ^{Ac}
RPP	4,007 ± 0,672 ^{ABbc}	10,347 ± 1,568 ^{Abc}	53,616 ± 3,630 ^{Ab}
CA	3,699 ± 0,342 ^{Aba}	10,301 ± 2,246 ^{Ab}	48,088 ± 4,079 ^A
RL	4,828 ± 0,783 ^{Bbc}	44,665 ± 6,353 ^{Bb}	72,476 ± 3,339 ^{Bc}
DIC.19			
RPP	4,365 ± 1,388 ^{bc}	12, 449 ± 1,058 ^{bc}	30,152 ± 3,152 ^a

Tabla 15. Índices morfométricos de *Corbicula fluminea*. Promedio ± desvío estándar (n=5) de los individuos extraídos. FB: factor branquial, FGD: factor de glándula digestiva, IHS: índice hepatosomático. DIC.18: diciembre 2018, MZO.19: marzo 2019, JUN.19: junio 2019, SEP.19: septiembre 2019. RC: Río Capitán, RPP: Río Paraná de Las Palmas, RLP: Río de la Plata, CA: Canal Arias, RL: Río Luján. Letras mayúsculas y minúsculas distintas indican diferencia significativa entre sitios por muestreo y entre fechas de muestreo por sitio, respectivamente (p<0,05).

Índices morfométricos de *Diplodon delodontus*

Los pesos de los órganos (branquias, glándula digestiva y manto) y las tallas de las valvas (largo, ancho y alto) de los animales de *D. delodontus* extraídos de las jaulas del río Paraná de las Palmas en junio y septiembre 2019, no presentaron diferencias significativas ($p>0,05$) (Tabla 17). Sin embargo, al comparar entre fechas de muestreo, los índices morfométricos calculados para estos mismos ejemplares, el factor branquial (FB) y el factor de glándula digestiva (FGD) aumentaron significativamente ($p<0,05$) de junio a septiembre 2019. Mientras que el aumento del índice hepatosomático (IHS) no llegó a ser significativo ($p>0,05$) (Tabla 18).

FECHA DE MUESTREO	PESO BRANQUIAS (g)	PESO G. DIGESTIVA (g)	PESO MANTO (g)	LARGO VALVA (mm)	ANCHO VALVA (mm)	ALTO VALVA (mm)
JUN.19	0,344 ± 0,168	0,322 ± 0,261	0,504 ± 0,108	60,805 ± 7,475	20,415 ± 3,307	47,298 ± 5,039
SEP.19	0,605 ± 0,205	0,566 ± 0,091	0,639 ± 0,171	65,983 ± 5,985	21,878 ± 2,440	51,015 ± 4,142

Tabla 16. Morfometría de *Diplodon delodontus*. Promedio ± desvío estándar (n=5) de características morfológicas de los animales extraídos en dos fechas de muestreo en el río Paraná de las Palmas. JUN.19: junio 2019, SEP.19: septiembre 2019; RPP: Río Paraná de Las Palmas.

FECHA DE MUESTREO	FB	FGD	IHS
JUN.19	5,664 ± 1,619	5,170 ± 2,583	24,049 ± 7,326
SEP.19	9 ± 2,141 *	8,576 ± 0,873 *	32,249 ± 5,448

Tabla 17. Índices morfométricos de *Diplodon delodontus*. Promedio ± desvío estándar (n=5) de los individuos extraídos comparando las dos fechas de muestreo en el río Paraná de las Palmas. JUN.19: junio 2019, SEP.19: septiembre 2019, RPP: Río Paraná de Las Palmas. El asterisco indica diferencia significativa ($p<0,05$).

Análisis morfométrico comparativo entre *C. fluminea* y *D. delodontus* del río Paraná de las Palmas

El factor branquial (FB) de los animales extraídos en el río Paraná de las Palmas, no difirió de manera significativa ($p>0,05$) de junio a septiembre 2019 para *C. fluminea*. Por el

contrario, en el caso de los individuos de *D. delodontus*, aumentó significativamente del primer al segundo muestreo en un 37,07 %. A su vez, la diferencia entre especies fue significativa en septiembre ($p<0,05$) pero no en junio ($p>0,05$), siendo mayor en ambos muestreos para *D. delodontus*, con un 55,49 % y 15,11 %, respectivamente (Figura 21). El factor de glándula digestiva (FGD), en junio, varió entre especies, siendo en *C. fluminea* 62,51 % más alto que en *D. delodontus* ($p<0,05$). Sin embargo, en septiembre, no se evidenció una diferencia significativa ($p>0,05$) entre especies, pero continuó siendo mayor en *C. fluminea*. Al comparar los valores obtenidos para el factor entre junio y septiembre para cada una de las especies, no se observaron diferencias significativas ($p>0,05$), aunque en la especie invasora el factor presentó una leve disminución mientras que en la nativa se observó un pequeño aumento (Figura 21). El índice hepatosomático (IHS) no presentó diferencias de una fecha de muestreo a otra para cada especie, pero tanto en junio como en septiembre, en *C. fluminea*, fue un 53,24 % y 39,85 % respectivamente más alto ($p<0,05$) que en *D. delodontus*. En general, el FB, FGD e IHS difirió entre especies (Figura 21).

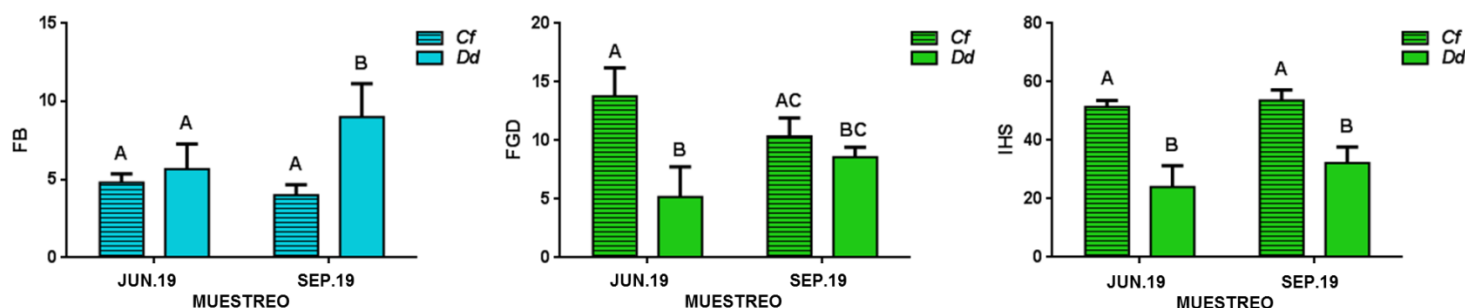


Figura 21. Índices morfométricos *Corbicula fluminea* (Cf) y *Diplodon delodontus* (Dd).

Comparación de los promedios $\pm$ desvío estándar ($n=5$) del factor de masa branquial (FB), factor de masa de la glándula digestiva (FGD) e índice hepatosomático (IHS) entre *Corbicula fluminea* (Cf) y *Diplodon delodontus* (Dd) por fecha de muestreo, y entre muestreos para cada especie. La extracción de los individuos se realizó en los muestreos de junio y septiembre 2019 (JUN.19 y SEP.19) en el río Paraná de las Palmas. Letras distintas indican diferencia significativa ($p<0,05$).

Evaluación histológica de la glándula digestiva en *C. fluminea* y *D. delodontus*

La glándula digestiva, tanto en *C. fluminea* como en *D. Delodontus*, comprende una estructura alvéolo-tubular de múltiples extremos ciegos que rodea el estómago y está conectada a él a través de conductos principales ciliados y secundarios no ciliados. Cada conducto o túbulo digestivo está formado por un epitelio simple sostenido por una membrana basal bien definida (Figura 22). El epitelio del túbulo digestivo está formado por tres tipos celulares diferentes: células digestivas, células basófilas y células vacuolares. Las diferentes alturas de las células hacen que el epitelio se pliegue en algunas secciones, produciendo un lumen en forma de "Y" o de "estrella" particularmente en la fase de absorción del túbulo digestivo (Figura 22 C, D). Los pliegues del epitelio producen cámaras en el perfil del lumen. Además, otra característica importante fue la observación de acumulación densa de material luminal, con leucocitos. Entre los túbulos se observó la extensión de abundante tejido conjuntivo en el que pueden distinguirse tipos celulares hemolinfáticos como hemocitos pequeños y redondeados con núcleo conspicuo, así como hemocitos granulares y semigranulares. Estos hemocitos se observaron de manera más abundante en la fase de desintegración o atrófica (Figura 22 E, F).

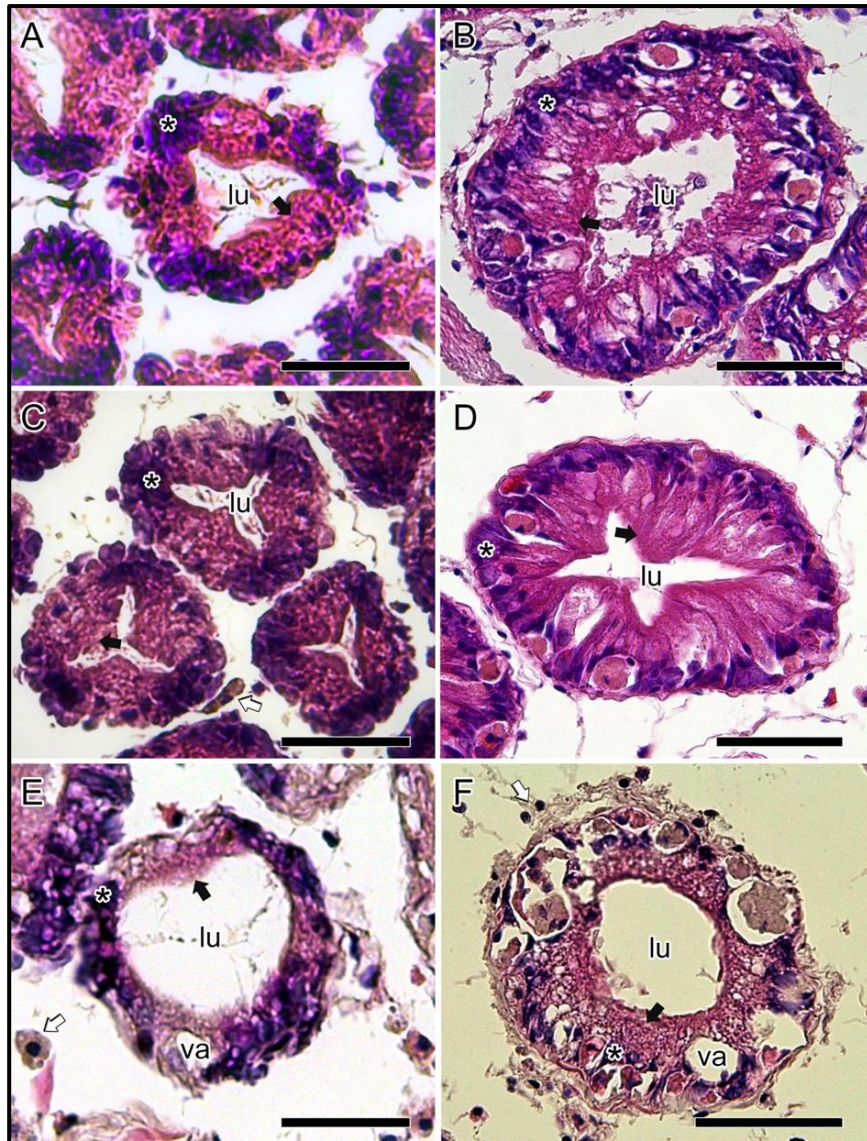


Figura 22. Glándula digestiva de *C. fluminea* (A, C, E) y *D. delodondus* (B, D, F). Túbulo digestivo tipo I retentivo (A, B), tipo II absorbente (C, D) y tipo III desintegrado o atrésico (E, F). Células digestivas y basófilas en el epitelio del túbulo digestivo (asterisco y flecha negra, respectivamente). Células vacuoladas (va), hemocitos (flecha blanca) y lumen del túbulo (lu). Secciones de la glándula digestiva coloreadas con solución Hematoxilina-Eosina. Barras de escala: 20 μm (A, C y E) y 50 μm (B, D y F).

La evaluación histológica de la actividad de la glándula digestiva indicó predominio de los túbulos digestivos tipo II (absorbente) en *C. fluminea* y *D. Delodontus* tanto en junio

(70% y 73,33%, respectivamente) como en septiembre de 2019 (74,44% y 80%, respectivamente). En comparación, la fase de retención tipo I y la fase desintegración o atrésica tipo III mostraron valores más bajos y diferencias significativas ($p < 0,05$) entre especies y entre muestreos para *C. fluminea* (Figura 23). No se observaron diferencias significativas entre fechas de muestreos para *D. delodontus* ($p > 0,05$).

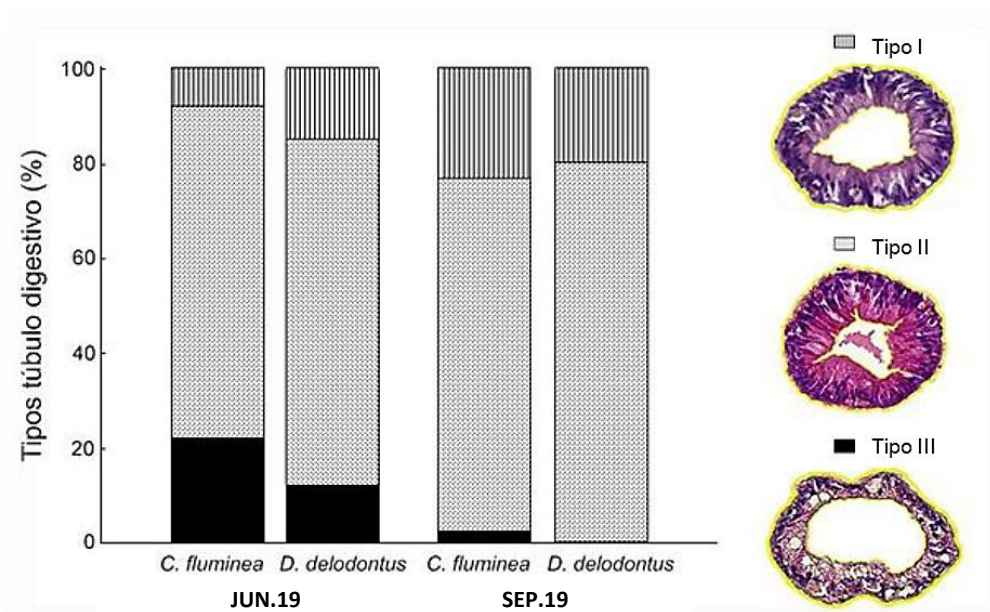


Figura 23. Tipos de túbulos digestivos (%) en *C. fluminea* y *D. delodontus*. Tipo I (retentivo), tipo II (adsorbente) y tipo III (desintegrado o atrófico), de los animales muestreados en junio y septiembre de 2019 en el río Paraná de las Palmas.

Análisis histomorfométrico de la glándula digestiva en *C. fluminea* y *D. delodontus*

Se analizaron 12 individuos de distintas jaulas (360 imágenes de túbulos digestivos), 7 de *C. fluminea* y 5 de *D. delodontus* extraídos en junio y septiembre de 2019 del río Paraná de las Palmas. Se analizó la condición de la glándula digestiva en ambas especies, de manera independiente, comparando los parámetros morfométricos entre las fases de túbulos digestivos (TD) y las fechas de muestreo.

El área del epitelio del TD presentó diferencias significativas entre muestreos para *C. fluminea* ($p < 0,05$), en particular para la fase de absorción (tipo II) que disminuyó de junio ($1,22 \pm 0,35 \text{ mm}^2$) a septiembre 2019 ($0,98 \pm 0,33 \text{ mm}^2$); mientras que no se verificaron diferencias para *D. delodontus* ($p > 0,05$).

En cuanto al perímetro del túbulo (Po), se observaron diferencias significativas entre muestreos en *C. fluminea* ($p < 0,05$), con una reducción en las medidas para las tres fases de junio a septiembre 2019 y una acentuada diferencia en la fase de absorción, aunque no llegó a ser significativa ($p = 0,05$). Por el contrario, no se encontraron diferencias significativas en *D. delodontus* ($p > 0,05$).

Con respecto al área del lumen (Si) del TD se observó una sucesión de estados partiendo de la disminución del área entre los tipos I y II, seguida de un marcado aumento del tipo II al III, y al final una ligera disminución entre III y I en ambas especies para las dos fechas de muestreo. Además, se encontraron diferencias en los valores del área del lumen en relación con las fases ($p < 0,05$); así como diferencias entre meses ($p < 0,05$) en *C. fluminea* y *D. delodontus* ($p < 0,05$). En *C. fluminea*, la fase de absorción presentó mayor diferencia entre meses ($p < 0,05$), donde se observó una reducción de junio ($0,10 \pm 0,05 \text{ mm}^2$) a septiembre 2019 ($0,06 \pm 0,03 \text{ mm}^2$).

El perímetro del lumen presentó diferencias significativas en *C. fluminea* entre fases o tipos de túbulos ($p < 0,05$), en mayor medida entre los tipos II y III, y III y I.

Por su parte, la altura del epitelio (h) del TD presentó diferencias significativas en *C. fluminea* tanto para las fases ($p < 0,05$) como los muestreos ($p < 0,05$). La mayor diferencia entre fases se dio entre la de absorción y desintegración o atrésica ($p < 0,05$). Mientras que en *D. delodontus* sólo se observaron diferencias significativas en la altura del epitelio en relación con las fases ($p < 0,05$).

En cuanto a la circularidad (c), se observaron diferencias significativas en *C. fluminea* de las fases entre fechas de muestreo ($p < 0,05$), siendo más marcada para la fase de absorción. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas para *D. delodontus* ($p > 0,05$).

DISCUSIÓN

La distinción y brecha entre los valores calculados del factor branquial, factor de glándula digestiva e índice hepatosomático, entre los individuos de *C. fluminea* del río Capitan y Luján, más la similitud entre los especímenes del Paraná y canal Arias, estaría relacionado a diferencias en la disponibilidad y calidad del alimento entre sitios, asociada al impacto antrópico. Esto se observó en estudios previos de bivalvos en Patagonia al comparar poblaciones de *Diplodon chilensis* de un sitio limpio con uno con impacto antrópico (Sabatini *et al.*, 2011a; Rochetta *et al.*, 2014b; Yusseppone 2016). A su vez, al comparar entre los sitios analizados, el río Luján presenta un sustrato más fangoso que los otros sitios estudiados. Este tipo de sustrato presenta mayor abundancia de bacterias coliformes que uno arenoso, y al ser incorporadas en la alimentación provocaría un aumento en el tamaño de los individuos (Sabatini *et al.*, 2011). Además, los pesos elevados en la glándula digestiva de *C. fluminea* del río Luján en junio y septiembre 2019, más el aumento significativo en forma de pendiente positiva del factor de glándula digestiva e índice hepatosomático de una fecha de muestreo a otra, sin mostrar diferencias en los otros órganos ni en sus tallas, indicaría una mayor actividad metabólica. Esto estaría relacionado a una mayor disponibilidad de alimento de mala calidad por la contaminación presente en el agua, y a una mayor actividad desintoxicante, que puede verse explicada por la síntesis de lípidos saturados como energía de reserva para la activación/síntesis de compuestos antioxidantes en condiciones de estrés ambiental (Sabatini *et al.*, 2011; Roccheta *et al.*, 2014).

Por otro lado, al comparar los resultados obtenidos para los índices de *C. fluminea* y *D. delodontus* en junio y septiembre 2019 en el río Paraná de las Palmas, se observan ciertas diferencias entre fechas de muestreo y especies. El aumento significativo del factor branquial de junio a septiembre 2019, sumado al incipiente aumento del factor de glándula digestiva para la especie nativa, podría deberse a que la especie nativa se encontraría en el período de preparación del marsupio y acumulación de reservas energéticas para la formación de gametas, período que concluye a fines del verano para distintas especies del género (Semenas y Brugni 2002). Por su parte, la especie invasora, tiene múltiples eventos

reproductivos en el año (los más relevantes en primavera) y no exhibe periodos de inactividad reproductiva, manteniendo por ello, el factor branquial constante y presentando una pequeña disminución del factor de glándula digestiva en septiembre 2019 al ser su evento reproductivo más relevante (Sousa *et al.*, 2008; Cao *et al.*, 2017). La constancia en el índice hepatosomático entre fechas de muestreo para cada una de las especies, indicaría que la disponibilidad de alimento no se modificó en el periodo de tiempo de estos muestreos en el río Paraná. Aunque los recursos serían aprovechados mediante estrategias y respuestas metabólicas distintas, ya que el factor branquial fue mayor en *D. delodontus* mientras que el índice hepatosomático fue mayor en *C. fluminea*, al compararlas (Sabatini *et al.*, 2011a; Rochetta *et al.*, 2014b; Yusseppone 2016).

En cuanto al análisis del estado de la composición y morfología de los túbulos digestivos de la glándula digestiva de los animales de *C. fluminea* y *D. delodontus* extraídos en el río Paraná de las Palmas en junio y septiembre 2019, según diversos autores (Robinson *et al.*, 1981; Owen, 1996; Diniz *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2013) la estructura de la glándula digestiva en ambas especies concuerda con descripciones previas en otros bivalvos. Las diferencias morfológicas de los túbulos digestivos serían el resultado de los ritmos en la digestión intracelular, observando variación en las células digestivas en función del ingreso de los alimentos y en que momento de la digestión intracelular se encuentren (Robinson *et al.*, 1981). Por otro lado, la frecuencia de túbulos en desintegración o atrésicos en la glándula puede utilizarse como biomarcador de estrés ambiental o indicador de lesiones inducidas por contaminantes ambientales (Costa *et al.*, 2013; Cuevas *et al.*, 2015; Rocha *et al.*, 2016). El análisis morfométrico es una de las herramientas utilizadas para evaluar el daño a nivel celular y tisular frente a la contaminación acuática, por esto se ahondará en su análisis en los animales extraídos en los otros sitios en las distintas fechas de muestreo.

CAPÍTULO 4

**DETERMINACIÓN DE
PARÁMETROS
METABÓLICOS EN *Corbicula
fluminea* Y *Diplodon
delodontus***

INTRODUCCIÓN

Dentro de un mismo hábitat, distintos organismos acuáticos acumulan diferentes concentraciones de contaminantes y xenobióticos en sus órganos, incluso dentro de taxones estrechamente relacionados. La captación y toxicidad de los contaminantes está influenciada no sólo por su concentración, sino también por el tiempo de exposición y factores ambientales tales como la salinidad, pH y temperatura (Carriquiriborde, 2021). Entre los animales que son considerados bioacumuladores, se destacan los moluscos filtradores, ya que al procesar grandes volúmenes de agua pueden estar expuestos a diversas sustancias tóxicas disueltas en el agua (Sabatini *et al.*, 2016).

Los moluscos son buenos indicadores ecológicos al ser sensibles a diferentes alteraciones del medio natural (Darrigan, 1993). Su distribución se encuentra condicionada principalmente por el tipo de sustrato, el caudal de agua, variables físicas como la temperatura, químicas como la salinidad, concentración de oxígeno, la disponibilidad de nutrientes, y de factores abióticos tal como la dureza, salinidad, acidez, alcalinidad. Estos factores son capaces de regular las poblaciones, influyendo en la distribución/dispersión (Darrigan *et al.*, 2011), y fluctuación de sus densidades (Vázquez Perera y Gutiérrez Amador, 2007). Por su parte, los elementos químicos y compuestos tóxicos también pueden influenciar la distribución y abundancia de especies (Preston, 2002). Parámetros como riqueza (número de especies presentes en una comunidad), diversidad (tiene en cuenta la riqueza y el carácter de común o raro) y equitatividad (regularidad con que los individuos están distribuidos entre las especies presentes en la comunidad), entre otros, proveen herramientas fundamentales para comparar comunidades (Begon *et al.*, 1986). Todas estas características están influenciadas por la etapa sucesional en que se encuentra la comunidad y eventualmente por la ocurrencia de disturbios, entre ellos los originados por la presencia de xenobióticos (Calcagno *et al.*, 1997, 1998).

Es reconocido el uso de especies de bivalvos como indicadores biológicos de la calidad del agua o de polución ambiental por su participación en procesos de purificación debido a sus altas tasas de filtración (Hellawell, 1986; Darrigan y Coppola, 1994), por sus hábitos sedentarios, su abundancia y por su alta capacidad de bioacumulación (Darrigan y

Lagrec, 2005). La exposición a xenobióticos puede inducir cambios fisiológicos y bioquímicos en las células afectadas por metales traza como resultado de los procesos de detoxificación (Ansari *et al.*, 2004). A nivel de todo el organismo o de la población, la presión de selección puede actuar sobre los animales durante una exposición a metales, pesticidas e hidrocarburos ecotoxicológicamente significativa en su hábitat, por lo que puede resultar selectivamente ventajoso reducir la asimilación de estos elementos (Rainbow *et al.*, 1993).

Dada la gran variedad de productos químicos y contaminantes que tienen el potencial de causar daños en los organismos acuáticos, las determinaciones de parámetros de estrés oxidativo se han propuesto como biomarcadores tempranos de contaminación ambiental (Winston y Di Giulio 1991; Livingstone, 2001; Van der Oost *et al.*, 2003; Sabatini *et al.*, 2009). La producción controlada de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las células aeróbicas tiene un papel esencial en diversos procesos biológicos (Ames *et al.*, 1993), aunque dada su toxicidad, los organismos requieren de numerosos mecanismos antioxidantes para protegerse de reacciones oxidativas no deseadas a distintos componentes celulares (proteínas, lípidos y ADN) (Livingston *et al.*, 1992). En circunstancias normales existe un equilibrio entre la producción de EROs y los procesos antioxidantes. El desequilibrio entre la generación y la neutralización de especies reactivas del oxígeno, ya sea por un déficit de las defensas o por un incremento en la producción de EROs es lo que se denomina estrés oxidativo (Ames *et al.*, 1993; Davies, 1995). Este desequilibrio puede causar efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres que producen daños en las proteínas, los lípidos y el ADN a nivel celular (Sabatini *et al.*, 2016; Carriquiriborde; 2021) (Figura 24).

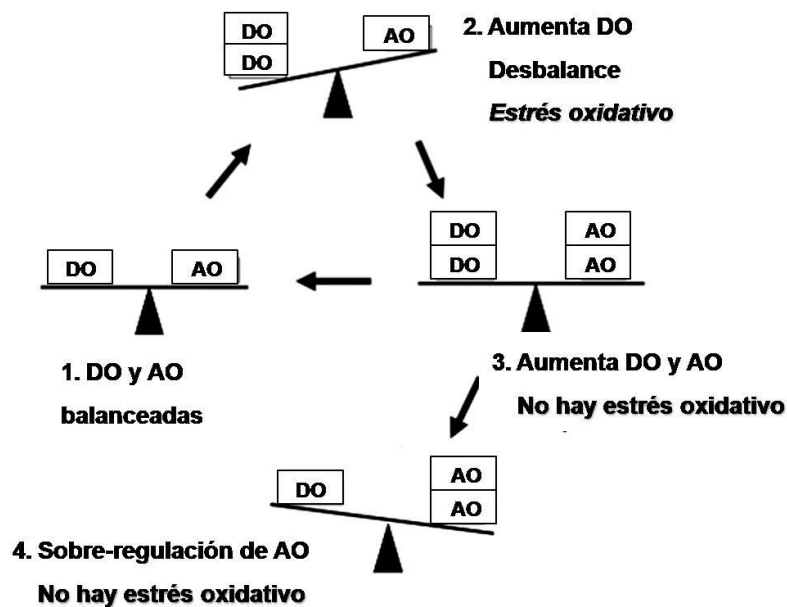


Figura 24. Metabolismo oxidativo. Esquema ilustrativo entre daño oxidativo (DO) y capacidad antioxidante (AO) (adaptado de Monaghan *et al.*, 2009).

Para determinar el balance o desbalance metabólico, se realizan mediciones de distintos biomarcadores, entre los que se pueden mencionar:

- **Catalasa (CAT):** enzima perteneciente a la categoría de las oxidorreductasas cuya función es degradar al H_2O_2 en O_2 y H_2O , utilizando como cofactor al grupo hemo y manganeso (Forman y Fisher, 1981). La CAT es ampliamente utilizada en estudios sobre estrés oxidativo, ya que es la primera línea de defensa antioxidante (Ferrari *et al.*, 2008).

- **Glutación-S-transferasa (GST):** perteneciente a las enzimas de la Fase II de detoxificación, cataliza la conjugación de glutatión reducido (GSH) con diversos compuestos electrofílicos, protegiendo a las células contra los efectos tóxicos de una gran cantidad de sustancias. También, detoxifica productos del estrés oxidativo, mediante la unión del GSH con los aldehídos producidos durante la peroxidación lipídica (Stephensen *et al.*, 2002).

- **Glutatión reducido (GSH):** tripéptido formado por glutamina, cisteína y glicina, juega un rol importante entre los mecanismos de defensas antioxidantes no enzimáticas. Por un lado, funciona como cofactor de las reacciones enzimáticas de la GST y la GPx; por otro, puede actuar como un antioxidante y eliminar EROs con el grupo tiol (-SH) de la

cisteína. La disminución en los niveles de GSH puede deberse a su consumo para la eliminación directa de oxiradicales o como un cofactor para las enzimas. También puede inducirse un aumento en la producción de GSH en condiciones de estrés oxidativo. La enzima glutatión reductasa (GR) mantiene los niveles de GSH, reduciendo el glutatión oxidado (GSSG) (Hermes-Lima *et al.*, 2012). La medición de GSH es usual para determinar el estrés oxidativo como producto de la exposición a una sustancia tóxica o matriz ambiental contaminada (Ferrari *et al.*, 2009).

- **Peroxidación lipídica (daño oxidativo a lípidos):** reacción en cadena en la que agentes oxidantes fuertes causan la rotura de los fosfolípidos que contienen ácidos grasos insaturados, en particular de aquellos presentes en la membrana organelas y células (Hermes-Lima *et al.*, 2012). Su medición aporta información sobre el daño oxidativo producto del estrés oxidativo. Los procesos de peroxidación lipídica son la principal causa de daño y muerte celular ya que forman hidroperóxidos lipídicos que forman radicales libres lipídicos que peroxidan a otros lípidos o son reducidos por la glutatión peroxidasa a alcoholes grasos (Timbrell y Marrs, 2009). Las membranas celulares afectadas por la peroxidación lipídica pierden permeabilidad e integridad, volviéndose más rígidas (Dobretsov *et al.*, 1977). A su vez, los productos de la peroxidación lipídica pueden provocar daños en el ADN, lo cual podría traer graves consecuencias en las células (Peluso, 2020).

Los contaminantes usualmente presentes en los cuerpos de agua impactados por actividades humanas (metales, plaguicidas, compuestos aromáticos, entre otros) pueden producir un aumento en la concentración de sustancias oxidantes y generar EROs (Ferrari *et al.*, 2009). Resulta relevante evaluar diversos biomarcadores de estrés oxidativo como complemento a la evaluación física y química del agua, a fin de analizar de una forma integrada el posible impacto de los cuerpos de agua degradados sobre el desarrollo de los bivalvos. Diferentes autores (Di Salvatore *et al.*, 2013; Ossana *et al.*, 2016; Leis, 2019; Yusseppone *et al.*, 2020; Peluso, 2020; Carriquiriborde, 2021) han propuesto las determinaciones de parámetros de estrés oxidativo como biomarcadores de contaminación ambiental ya que una gran variedad de contaminantes y xenobióticos poseen el potencial de causar daños en los organismos acuáticos. Los estudios ecotoxicológicos pueden aportar

información relevante a la hora de tomar decisiones para restaurar las funciones, estructuras y servicios de los ecosistemas. Tradicionalmente, se utilizaban únicamente los índices de calidad del agua para evaluar la calidad del ambiente y los riesgos sobre la salud humana. Sin embargo, la información proporcionada por estos indicadores resulta insuficiente. La complementación con estudios ecotoxicológicos (Ossana *et al.*, 2016; Di Salvatore *et al.*, 2013; Leis, 2019; Yusseppone *et al.*, 2020; Peluso, 2020), permite estimar eficientemente las consecuencias de la exposición de los organismos a un ambiente contaminado, proporcionando un enfoque más realista de la calidad ambiental y aportando información relevante en la toma de decisiones para restaurar funciones, estructuras y servicios ecosistémicos (Ossana *et al.*, 2016).

OBJETIVOS E HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

O6. Cuantificar parámetros metabólicos de *Corbicula fluminea* en relación de las características físicas y químicas de los distintos cuerpos de agua.

H6. Los parámetros metabólicos de *Corbicula fluminea* se ven afectados negativamente con el deterioro físico y químico del medio acuático.

O7. Comparar el metabolismo de *Corbicula fluminea* y *Diplodon delodontus* en el río Paraná de las Palmas en relación con el tiempo de exposición.

H7. El balance metabólico de *Corbicula fluminea* se ve menos afectado que en *Diplodon delodontus*.

METODOLOGÍA

Diseño Experimental

En el Río de la Plata, donde se extrajeron los ejemplares de *C. fluminea* necesarios para el diseño experimental (desarrollado en las páginas 31, 32 y 33), también se encontraron ejemplares de *D. delodontus*. La presencia de estos animales nativos también se registró en el río Paraná de las Palmas, por lo que se decidió incorporarlos al diseño experimental en ambos sitios. Dado que en estos sitios ambas especies se encontraron en bajas densidades en comparación con otros sitios cercanos al punto de estudio y que para

realizar las mediciones utilizamos individuos adultos (a partir de 1 cm de longitud valvar en el caso de *C. fluminea* y de 7 cm para *D. delodontus*), para esta parte del diseño, en septiembre 2018 se extrajeron 120 individuos de *C. fluminea* y 36 de *D. delodontus*. En el caso de *D. delodontus*, se colocó un individuo en cada una de las 36 jaulas, 18 en cada sitio, teniendo en cuenta la densidad natural. Por su parte, para *C. fluminea*, se confeccionaron 20 jaulas conteniendo 6 individuos, 10 para cada sitio. Debido a la pequeña talla registrada en *C. fluminea*, es que se agruparon individuos de esta especie en una misma jaula para asegurarnos la masa necesaria para poder llevar a cabo todas las mediciones planteadas en los diferentes órganos; esto no fue necesario para *D. delodontus*. Una vez confeccionadas *in situ*, las jaulas se amarraron con tanza y sogas a un muelle, asegurando que los animales estén sobre el sedimento del fondo del río y tengan las condiciones propicias para las especies. En el río Paraná de las Palmas, en junio y septiembre 2019 se extrajeron 5 jaulas de *C. fluminea* y 9 de *D. delodontus* en cada fecha. Los individuos de *C. fluminea* de una misma jaula se tuvieron en cuenta como pseudorepeticiones, teniendo tres pseudorepeticiones por unidad experimental, ya que se realizaron tres homogenatos por jaula (cada uno con dos individuos). Por el contrario, *D. delodontus* no presentó pseudorepeticiones. Cada jaula fue tomada en cuenta como una unidad experimental. Se obtuvo un n=5 en cada muestreo para ambas especies, ya que algunos individuos se utilizaron para realizar determinaciones histológicas. Sin embargo, en el Río de la Plata los individuos se perdieron como consecuencia de la desaparición de los mismos.

Preparación de homogenatos

Los tres órganos para analizar (branquias, glándula digestiva y manto) fueron removidos, pesados y homogeneizados con un homogeneizador motorizado teflón-vidrio (1:5 m/v; 1500 rpm, 25 pasadas) en KCl 0,154 M (pH 7) con el agregado de inhibidores de la proteasa benzamidina 0,2 mM y fenil-metil-sulfonil-fluoruro (PMSF) 0,5 mM en una relación 1:5 (peso/volumen). Una fracción de cada homogenato se centrifugó en una microcentrífuga refrigerada a 11000 rpm por 15 minutos a 4°C, con el fin de utilizar los sobrenadantes en la mayoría de las diferentes determinaciones. El homogenato restante

fue utilizado para la determinación de glucógeno y metales. Para *D. delodontus* se utilizaron los órganos de un único individuo por cada determinación, mientras que para *C. fluminea* se homogenizaron juntos los órganos de dos animales.

Todas las determinaciones de los parámetros de estrés oxidativo se realizaron en un espectrofotómetro modelo UV-160A de Shimadzu Corporation.

Estatus energético

Concentración de proteínas solubles

La concentración de proteínas solubles totales en los diferentes órganos se determinó mediante el método de Bradford (1976), con 4 µl de muestra, 96 µl de H₂O destilada y 1000 µl de reactivo en cada cubeta plástica de 1,5 ml. Se leyó la absorbancia a 595 nm expresando los resultados como mg de proteína/g de peso húmedo. El contenido de proteínas se calculó a partir de una curva de calibración utilizando una solución estándar de albúmina sérica bovina (0,1 mg/mL), realizándola por duplicado con 100, 80, 60, 40, 20 µl de H₂O destilada y 0, 20, 40, 60, 80 µl de BSA respectivamente, más 1000 µl de reactivo de Bradford en cada nivel de la curva. Los resultados se expresan como miligramos de proteína/g de peso húmedo.

Para el reactivo de Bradford, en un matraz aforado, se disolvió con agitación en orden, 10 mg de azul de coomasie g-250 o coomasie brilliant blue, 12,5 ml de H₂PO₄ 85%, llevando todo a 250 ml con H₂O destilada, guardando el reactivo en botella caramelo y filtrando la cantidad necesaria antes de utilizar.

Contenido de glucógeno

El contenido de glucógeno se determinó según lo descrito por Van Handel (1965). Se incubaron 2 µl de homogenato total de glándula digestiva con 200 µl de hidróxido de potasio 33 % a 100°C durante 20 minutos para separar el glucógeno de los monosacáridos y otros compuestos hidrosolubles presentes en la muestra. Después de enfriar, la mezcla de reacción se incubó a 40°C durante 5 minutos con 250 µl de solución saturada de sulfato de sodio para eliminar los monosacáridos y 600 µl de etanol absoluto ya que los

polisacáridos son extremadamente insolubles en alcohol acuoso. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se centrifugó a 3000 x g durante 10 minutos. Se descartó el sobrenadante y se resuspendió el precipitado correspondiente al glucógeno presente con 250 µl de H₂O destilada con 1 ml de antrona al 0,2 % diluida en ácido sulfúrico (siempre cubierta de la luz). El método de antrona se caracteriza por utilizar el ácido sulfúrico concentrado para hidrolizar los enlaces glicosídicos, dando lugar a monosacáridos que al deshidratarse con calor resultan en furfural, el cual reacciona con la antrona y forma un complejo azul-verdoso. En paralelo, se armó la curva de calibración por duplicado con glucógeno 1 mg/ml como estándar con 0, 10, 20, 30 µl de glucógeno; 250, 240, 230, 220 µl de H₂O destilada respectivamente; 1000 µl de antrona en cada nivel, y se incubó junto a las muestras a 100°C durante 10 minutos. La coloración es proporcional a la concentración de carbohidratos y la lectura de absorbancia se leyó a 620 nm dentro de los 10 min desde que se inició la reacción. La concentración de glucógeno se determinó mediante la utilización de dicha curva y los resultados se expresan como mg glucógeno/g de peso húmedo.

Parámetros metabólicos

Defensas enzimáticas

La actividad catalasa (CAT) se midió mediante la técnica de Aebi (1984). La enzima catalasa promueve la descomposición de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Dado que el peróxido de hidrógeno en solución presenta un máximo de absorbancia entre 230 y 250 nm, es posible medir su descomposición por acción de esta enzima como la disminución de absorbancia en el intervalo experimental. Por ello, la tasa de descomposición que es proporcional a la cantidad de enzima activa, es proporcional a la concentración de sustrato presente. En una cubeta de cuarzo se colocó 960 µl de buffer fosfato de potasio pH 7, 10 µl de H₂O₂ y 30 µl de muestra. Se monitoreó la actividad a 240 nm durante 40 seg cada 5 seg. La disminución de la absorbancia a 240 nm es proporcional a la cantidad de CAT presente en la muestra. Los resultados se expresan como unidades de CAT/g de peso húmedo.

Para 100 ml de buffer, se preparó una solución stock de PO₄HK₂ 0,05 M pesando 8,709 g de PO₄HK₂ anhidro (PM=174,18), llevándolo a 1000 ml con H₂O destilada; y otra

solución stock de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ 0,05 M pesando 6,805 g de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ anhidro ($\text{PM}=136,1$), llevándolo a 1.000 ml con H_2O destilada. Luego se mezcló 60 ml de la solución stock de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ 0,05 M con 40 ml de la solución stock de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ 0,05 M. Se verificó si el pH estaba en 7 o ajustó si fue necesario. Por otro lado, en el momento de medir, se preparó 1000 μl de H_2O_2 3 M tomando 305 μl de la solución stock de H_2O_2 30 % v/v (9 M) y 695 μl de H_2O destilada.

La actividad glutatión-S-transferasa (GST) se midió acorde a la técnica de Habig *et al.* (1974). Esta se basa en la utilización de 1 cloro-2,4 dinitrobenzeno (CDNB) como sustrato, que en presencia de glutatión reducido (GSH) forma GS-dinitrobenzeno, compuesto que posee absorbancia máxima a 340 nm: $\text{GSH} + \text{CDNB} \rightarrow \text{GS-DNB}$. En una cubeta de cuarzo, se colocó 970 μL de buffer fosfato 100 mM pH 6.5, 10 μl de GSH (100 mM en buffer fosfato) y 10 μl de muestra, se lleva a cero. Para iniciar la reacción se agregó 10 μl de 1 cloro-2,4 dinitrobenzeno (CDNB) 100 mM en etanol, y se monitorearon los cambios en la absorbancia a 340 nm durante 1 minuto cada 10 segundos. Los resultados se expresan como unidades de GST/mg proteína, donde una unidad GST se define como la cantidad de enzima necesaria para catalizar la formación de 1 μmol de GS-DNB por minuto, a 25° C.

Para los reactivos del protocolo, se utilizó buffer fosfato 100 mM pH 6,5, 0,031 g de GSH en 1 ml de PBS, y 0,020 g de CDBN en 1 ml de etanol.

Defensa no enzimática

Se cuantificó el contenido de glutatión reducido mediante el método de Anderson (1985). En presencia de 5, 5-ditiobis 2-ácido nitrobenzoico (DTNB): $2 \text{ GSH} + \text{DTNB} \rightarrow \text{GSSG} + \text{TNB}$ donde el DTNB oxida al GSH generando un compuesto coloreado, el ácido TNB (5 tio-2-nitrobenzoico), que se monitorea espectrofotométricamente a 412 nm. Para ello, el sobrenadante del homogenato se desproteínizó con 50 μl de ácido sulfosalicílico al 10 % durante 30 minutos a temperatura ambiente y se centrifugó a 10000 rpm durante 10 min. 100 μl del sobrenadante resultante se mezcló con 335 μl de ácido 5,5-ditiobis-(2-nitrobenzoico) (DTNB) 6 mM y 565 μl de buffer sulfato de sodio 0,143 M (con 6,3 mM EDTA) pH 7,5. La absorbancia a 412 nm se midió después de incubar las muestras durante 30

minutos a temperatura ambiente. El contenido de GSH se determina mediante la utilización de una curva de calibración generada con una solución estándar de GSH y los resultados se expresan como nmoles de GSH/g de peso húmedo. La curva de calibración se realizó por duplicado con 0, 10, 20, 30, 40 y 50 µl de GSH 1 µmol/ml en ácido sulfosalicílico 10 %, correspondientes a 0, 10, 20, 30, 40 y 50 nmoles de GSH. Los resultados se expresan como nanomoles de GSH /g de peso húmedo.

Para la preparación de las soluciones se diluyó 27,8 g de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$ 0,2 M en 1.000 ml de H_2O destilada (solución A) y 28,45 g PO_4HNa Anhidro 0,2 M en 1000 ml de H_2O destilada (solución B). Para 100 ml de buffer fosfato de Na 0,143 M pH 7,5 con EDTA 6,3 mM, se mezcló 16 ml de solución A con 84 ml de solución B (siempre verificando el pH) y luego se diluyó 0,2 M a 0,143 M (1,4 veces). Para el DTNB 6 mM (PM: 396,5) se diluyó 23,78 mg con 10 ml de buffer. 1 g de ácido sulfosalicílico se llevó a 10 ml para obtener al 10 % y con 10 ml de ésta se diluyó los 3,0733 mg de GSH (PM: 307,33).

Daño oxidativo a lípidos

Los productos de la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados (peróxidos lipídicos, entre los que se encuentra como producto mayoritario el malondialdehído) reaccionan con el ácido tiobarbitúrico en medio ácido, a alta temperatura, para dar un compuesto coloreado (rosado) (Figura 25) que puede medirse espectrofotométricamente por su pico de absorción a 532 nm (Janero, 1990):

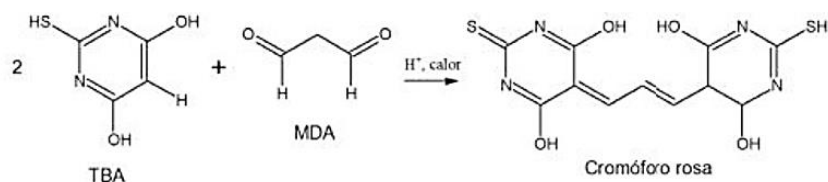


Figura 25. Reacción de la peroxidación lipídica (adaptado de Janero, 1990).

La peroxidación lipídica se determinó a través de la medición de las sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBARS, por sus siglas en inglés) según la técnica modificada de Beuge y Aust (1978). En cada tubo eppendorf perforado en su tapa, se colocó 175 µl del sobrenadante del homogenato se incubaron con 1,4 ml de ácido tiobarbitúrico

(TBA), a 95 - 100 °C durante 45 minutos. Después, la mezcla de la reacción se enfrió 10 minutos en hielo, se centrifugó a 8000 rpm por 10 minutos a 4 °C y se determinó la absorbancia a 535 nm. La concentración de TBARS se estima mediante el coeficiente de extinción del complejo MDA-ácido tiobarbitúrico ($156 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y los resultados se expresan como nanomoles de MDA/g de peso húmedo.

Para 200 ml del Reactivo de TBARS se homogeneizó con agitador y un poco de temperatura, respetando este orden, 60 ml de TCA 50 %, 4,16 ml de HCl, 0,75 g de TBA, 134,48 de H₂O destilada y 1,36 BHT diluido en Etanol (realizada previamente y conservada en frío: BHT 100 mM en Etanol).

Análisis estadísticos

Dado que la concentración de proteínas en los animales presentó variaciones significativas entre los tiempos de extracción para cada órgano, se relativizaron todas las variables metabólicas analizadas en función del peso húmedo de los órganos. Para las comparaciones de *Corbicula fluminea* entre sitios por fecha de muestreo, se realizaron Anovas de Un Factor (Sokal y Rohlf, 1999) con pruebas Tuckey a posteriori, para cada parámetro metabólico determinado en branquias, glándula digestiva y manto, a través del programa GraphPad Prism 8. Para las comparaciones entre *Corbicula fluminea* y *Diplodon delodontus*, se realizaron Anovas de Dos Factores (Sokal y Rohlf, 1999) más pruebas Tuckey entre ambas especies en aquellos meses en los que fueron recolectadas las dos en el río Paraná de las Palmas, por medio del programa GraphPad Prism 6.

CAPÍTULO 4 A

VARIACIÓN DE LOS PARÁMETROS METABÓLICOS DE *Corbicula fluminea* EN FUNCIÓN DE LOS SITIOS POR FECHA DE MUESTREO

RESULTADOS

Estatus energético en *C. fluminea*

Concentración de proteínas solubles

En la Tabla 18 se observa la concentración de proteínas en los tres órganos analizados (branquias, glándula digestiva y manto) de *C. fluminea* y la comparación de los valores obtenidos para cada órgano entre sitios por fecha de muestreo.

En diciembre 2018, la concentración de proteínas en branquias fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en los animales de las jaulas extraídas en el río Capitán y significativamente menor ($p < 0,05$) en los ejemplares del río Paraná de las Palmas. Mientras que en glándula digestiva resultó significativamente mayor ($p < 0,05$) en los individuos del río Luján (Tabla 18).

En marzo 2019, la concentración de proteínas solo se diferenció de manera significativa ($p < 0,05$) en las branquias y glándula digestiva de los individuos del canal Arias, obteniendo los valores más altos en comparación a los demás sitios (Tabla 18).

En junio 2019, los ejemplares extraídos del canal Arias volvieron a presentar la concentración significativamente más alta ($p < 0,05$) de proteínas en los tres órganos (Tabla 18).

En septiembre 2019, la concentración de proteínas resultó significativamente mayor ($p < 0,05$) en los tres órganos de los individuos del río Luján (Tabla 18).

En el último muestreo, diciembre 2019, solo se extrajeron individuos del río Paraná de las Palmas, por ser los únicos sobrevivientes en los sitios de muestreo. En la Tabla 18 se muestra la concentración de proteínas de los tres órganos analizados para estos individuos.

PROTEÍNAS (mg/g de peso húmedo)

FECHA DE MUESTREO		SITIO			
DICIEMBRE 18	RC	RPP	RLP	CA	RL
BRANQUIAS	9,28 ± 0,80 ^A	3,80 ± 0,84 ^B	5,69 ± 0,54 ^C	5,47 ± 1,27 ^C	6,87 ± 0,62 ^C
GLÁNDULA DIGESTIVA	9,52 ± 0,53 ^A	8,09 ± 1,22 ^A	8,77 ± 1,01 ^A	8,51 ± 0,74 ^A	11,98 ± 0,83 ^B
MANTO	14,02 ± 0,96 ^A	12,32 ± 0,56 ^A	12,55 ± 1,56 ^A	14,55 ± 2,20 ^A	12,70 ± 0,89 ^A
MARZO 19					
BRANQUIAS	1,97 ± 0,75 ^A	2,60 ± 0,42 ^A	1,77 ± 0,41 ^A	4,06 ± 1,01 ^B	1,42 ± 0,37 ^A
GLÁNDULA DIGESTIVA	2,56 ± 0,24 ^A	4,22 ± 1,22 ^{AB}	2,65 ± 1,02 ^A	5,13 ± 0,73 ^B	2,23 ± 0,06 ^A
MANTO	4,00 ± 0,62 ^A	5,43 ± 0,46 ^A	4,56 ± 0,71 ^A	4,17 ± 0,81 ^A	5,16 ± 0,48 ^A
JUNIO 19					
BRANQUIAS	4,12 ± 0,34 ^A	3,78 ± 0,38 ^A	-	6,37 ± 0,41 ^B	4,05 ± 0,16 ^A
GLÁNDULA DIGESTIVA	7,07 ± 0,16 ^A	5,31 ± 0,17 ^B	-	7,87 ± 0,48 ^C	5,78 ± 0,14 ^B
MANTO	5,82 ± 0,49 ^A	4,08 ± 0,30 ^B	-	6,48 ± 0,29 ^C	5,26 ± 0,20 ^A
SEPTIEMBRE 19					
BRANQUIAS	4,86 ± 0,14 ^A	4,76 ± 0,89 ^A	-	4,46 ± 0,13 ^A	6,84 ± 0,23 ^B
GLÁNDULA DIGESTIVA	6,43 ± 0,25 ^A	6,63 ± 0,43 ^A	-	6,52 ± 0,39 ^A	10,98 ± 0,26 ^B
MANTO	5,30 ± 0,39 ^A	5,92 ± 0,25 ^A	-	5,83 ± 0,09 ^A	7,86 ± 0,36 ^B
DICIEMBRE 19					
BRANQUIAS	--	4,62 ± 0,63	-	--	--
GLÁNDULA DIGESTIVA	--	5,43 ± 0,52	-	--	--
MANTO	--	4,19 ± 0,83	-	--	--

Tabla 18. Concentración de proteínas (mg/g de peso húmedo) en *Corbicula fluminea*.

Promedio ± desvío estándar (n=5) en tres órganos de los ejemplares extraídos en los distintos sitios en cada una de las fechas de muestreo. RC: río Capitán; RPP: río Paraná de las Palmas; RLP: Río de la Plata; CA: canal Arias y RL: río Luján. -: desaparición de las jaulas; --: muerte de los individuos. Letras distintas indican diferencia significativa.

Contenido de glucógeno

La reserva energética, determinada como contenido de glucógeno en glándula digestiva, resultó siempre significativamente mayor ($p < 0,05$) en los ejemplares extraídos de las jaulas del río Luján en todos los muestreos (Tabla 19).

En diciembre 2018, el contenido de glucógeno también difirió en los individuos del río Capitán y Paraná, resultando significativamente menor ($p < 0,05$) en comparación a los ejemplares de los otros sitios (Tabla 19).

En diciembre 2019, solo se contó con animales extraídos del río Paraná de las Palmas, por lo ya mencionado con anterioridad (Tabla 19).

GLUCÓGENO (mg/g de peso húmedo)					
FECHA DE MUESTREO	SITIO				
DICIEMBRE 18	RC	RPP	RLP	CA	RL
GLÁNDULA DIGESTIVA	1,40 ± 0,10 ^A	0,71 ± 0,08 ^B	2,64 ± 0,40 ^{CD}	2,45 ± 0,16 ^C	3,01 ± 0,15 ^D
MARZO 19					
GLÁNDULA DIGESTIVA	1,95 ± 0,32 ^A	3,17 ± 0,59 ^A	2,22 ± 0,85 ^A	3,29 ± 1,60 ^A	8,11 ± 0,97 ^B
JUNIO 19					
GLÁNDULA DIGESTIVA	0,48 ± 0,03 ^A	1,24 ± 0,20 ^A	-	1,80 ± 0,31 ^A	26,88 ± 4,43 ^B
SEPTIEMBRE 19					
GLÁNDULA DIGESTIVA	0,49 ± 0,13 ^A	1,06 ± 0,15 ^A	-	0,62 ± 0,11 ^A	17,06 ± 1,79 ^B
DICIEMBRE 19					
GLÁNDULA DIGESTIVA	--	2,71 ± 0,41	-	--	--

Tabla 19. Sustancia de reserva (mg de glucógeno/g de peso húmedo) en *Corbicula fluminea*. Promedio ± desvío estándar (n=5) en tres órganos de las ejemplares extraídos en los distintos sitios en cada una de las fechas de muestreo. RC: río Capitán; RPP: río Paraná de las Palmas; RLP: Río de la Plata; CA: canal Arias y RL: río Luján. -: desaparición de las jaulas; --: muerte de los individuos. Letras distintas indican diferencia significativa.

Parámetros metabólicos en *C. fluminea*

Defensas enzimáticas

En cuanto a las defensas enzimáticas antioxidantes, se obtuvieron resultados de la actividad catalasa (CAT) y glutatión-S-transferasa (GST), comparando cada órgano entre sitios en cada una de las fechas de muestreo (Tablas 20 y 21).

En diciembre 2018, la actividad CAT fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en las branquias de los animales del Río de la Plata y en glándula digestiva de los ejemplares del Río de la Plata, canal Arias y río Luján (Tabla 20). La actividad GST resultó significativamente mayor ($p < 0,05$) en las branquias de los individuos del canal Arias y río Luján, y en glándula digestiva del río Paraná de las Palmas. Mientras que en glándula digestiva de los animales del río Capitán fue significativamente menor ($p < 0,05$) (Tabla 21).

En marzo 2019, la defensa enzimática CAT resultó significativamente mayor ($p<0,05$) nuevamente en las branquias de los individuos del Río de la Plata, en glándula digestiva de los ejemplares del canal Arias y en glándula digestiva y manto del río Luján (Tabla 20).

En junio 2019, la actividad CAT fue significativamente mayor ($p<0,05$) en las branquias y manto de los individuos extraídos del río Capitán, y en glándula digestivo de los animales del río Luján (Tabla 20).

En septiembre 2019, la actividad CAT resultó significativamente mayor ($p<0,05$) en las branquias de los animales del río Paraná de las Palmas, en glándula digestiva y manto de los ejemplares del río Luján (Tabla 20). La actividad enzimática GST fue significativamente mayor ($p<0,05$) en las branquias de los individuos extraídos del canal Arias, y en las branquias y manto del río Luján (Tabla 21).

En el muestreo de diciembre 2019, se obtuvo la actividad enzimática catalasa y glutatión-S-transferasa en branquias, glándula digestiva y manto de los individuos extraídos en el río Paraná de las Palmas. En los demás sitios ya no se obtuvieron individuos, debido a su mortandad (Tabla 20 y 21).

CATALASA (U/g de peso húmedo)

FECHA DE MUESTREO		SITIO			
DICIEMBRE 19	RC	RPP	RLP	CA	RL
BRANQUIAS	52,96 ± 8,68 ^A	42,29 ± 8,95 ^A	368,90 ± 19,11 ^B	69,27 ± 6,98 ^A	53,63 ± 13,35 ^A
GLÁNDULA DIGESTIVA	106,50 ± 13,63 ^A	56,67 ± 7,52 ^B	135,5 ± 11,31 ^C	148,00 ± 22,34 ^C	148,7 ± 6,19 ^C
MANTO	306,00 ± 44,45 ^A	342,60 ± 3,16 ^A	360,40 ± 9,24 ^A	309,60 ± 59,97 ^A	396,60 ± 27,85 ^A
MARZO 19					
BRANQUIAS	82,92 ± 12,92 ^A	73,75 ± 12,30 ^A	161,60 ± 9,98 ^B	76,04 ± 2,30 ^A	66,88 ± 2,29 ^A
GLÁNDULA DIGESTIVA	163,50 ± 38,46 ^A	220,40 ± 51,55 ^A	236,80 ± 22,98 ^A	399,80 ± 29,37 ^B	367,50 ± 18,33 ^B
MANTO	66,56 ± 19,13 ^A	65,69 ± 8,75 ^A	54,44 ± 8,66 ^A	32,71 ± 6,17 ^A	142,40 ± 27,21 ^B
JUNIO 19					
BRANQUIAS	225,90 ± 23,89 ^A	57,81 ± 12,53 ^B	-	63,33 ± 3,75 ^B	77,08 ± 8,80 ^B
GLÁNDULA DIGESTIVA	226,30 ± 56,12 ^{AB}	187,10 ± 44,47 ^A	-	232,30 ± 24,03 ^{AB}	281,10 ± 37,87 ^B
MANTO	178,10 ± 12,38 ^A	64,24 ± 10,21 ^B	-	66,98 ± 10,66 ^B	114,70 ± 12,38 ^C
SEPTIEMBRE 19					
BRANQUIAS	48,44 ± 9,36 ^A	260,10 ± 49,19 ^B	-	74,58 ± 4,17 ^A	151,6 ± 21,71 ^C
GLÁNDULA DIGESTIVA	222,80 ± 43,09 ^A	255,70 ± 29,70 ^{AB}	-	260,80 ± 34,70 ^{AB}	309,80 ± 29,71 ^B
MANTO	90,69 ± 7,19 ^A	175,60 ± 9,32 ^B	-	88,33 ± 2,09 ^A	202,5 ± 18,71 ^C
DICIEMBRE 19					
BRANQUIAS	--	227,80 ± 16,06	-	--	--
GLÁNDULA DIGESTIVA	--	264,40 ± 37,29	-	--	--
MANTO	--	129,10 ± 5,41	-	--	--

Tabla 20. Defensa enzimática catalasa (U de CAT/g de peso húmedo) en *Corbicula*

fluminea. Promedio ± desvío estándar (n=5) en tres órganos de los animales extraídos en los distintos sitios en cada una de las fechas de muestreo. RC: río Capitán; RPP: río Paraná de las Palmas; RLP: Río de la Plata; CA: canal Arias y RL: río Luján. -: desaparición de las jaulas; --: muerte de los individuos. Letras distintas indican diferencia significativa.

GLUTATIÓN-S-TRANSFERASA (U GST/g de peso húmedo)

FECHA DE MUESTREO		SITIO			
DICIEMBRE 19	RC	RPP	RLP	CA	RL
BRANQUIAS	2,62 ± 0,42 ^A	2,58 ± 0,60 ^A	2,99 ± 0,66 ^A	5,66 ± 0,61 ^B	5,17 ± 0,36 ^B
GLÁNDULA DIGESTIVA	6,12 ± 0,33 ^A	16,18 ± 0,70 ^B	8,70 ± 0,39 ^D	10,22 ± 0,28 ^{CD}	11,74 ± 1,45 ^C
MANTO	5,16 ± 0,78 ^{AB}	4,79 ± 0,43 ^B	5,88 ± 0,68 ^{AB}	5,57 ± 1,07 ^{AB}	6,27 ± 0,47 ^A
MARZO 19					
BRANQUIAS	0,60 ± 0,13 ^A	1,02 ± 0,21 ^B	0,79 ± 0,11 ^{AB}	0,94 ± 0,09 ^B	0,86 ± 0,14 ^{AB}
GLÁNDULA DIGESTIVA	3,60 ± 0,99 ^A	3,08 ± 0,10 ^A	3,77 ± 0,20 ^A	3,93 ± 0,41 ^A	3,31 ± 0,71 ^A
MANTO	6,73 ± 1,25 ^{AB}	8,14 ± 1,16 ^A	5,46 ± 0,79 ^B	6,37 ± 0,76 ^{AB}	5,32 ± 1,43 ^B
JUNIO 19					
BRANQUIAS	4,92 ± 0,64 ^A	4,05 ± 0,66 ^A	-	4,22 ± 1,30 ^A	5,31 ± 0,86 ^A
GLÁNDULA DIGESTIVA	25,81 ± 2,93 ^A	23,27 ± 2,23 ^A	-	26,29 ± 1,70 ^A	22,34 ± 1,45 ^A
MANTO	5,48 ± 1,52 ^A	7,82 ± 1,10 ^{AB}	-	6,59 ± 1,18 ^A	10 ± 1,44 ^B
SEPTIEMBRE 19					
BRANQUIAS	2,78 ± 0,04 ^A	12,08 ± 1,54 ^B	-	5,63 ± 0,10 ^C	6,23 ± 1,10 ^C
GLÁNDULA DIGESTIVA	31,86 ± 0,87 ^{AB}	31,07 ± 4,19 ^{AB}	-	24,70 ± 3,81 ^A	37,71 ± 1,92 ^B
MANTO	6,42 ± 0,78 ^A	6,21 ± 0,98 ^A	-	9,64 ± 0,67 ^B	13,33 ± 2,38 ^C
DICIEMBRE 19					
BRANQUIAS	--	8,04 ± 0,87	-	--	--
GLÁNDULA DIGESTIVA	--	29,05 ± 6,63	-	--	--
MANTO	--	9,86 ± 1,33	-	--	--

Tabla 21. Defensa enzimática glutatión-S-transferasa (U de GST/g de peso húmedo) en *Corbicula fluminea*. Promedio ± desvío estándar (n=5) en tres órganos de los ejemplares extraídas en los distintos sitios en cada una de las fechas de muestreo. RC: río Capitán; RPP: río Paraná de las Palmas; RLP: Río de la Plata; CA: canal Arias y RL: río Luján. -: desaparición de las jaulas; --: muerte de los individuos. Letras distintas indican diferencia significativa.

Defensa no enzimática

En diciembre 2018, el contenido de glutatión reducido (GSH) determinado como defensa antioxidante no enzimática, fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en los tres órganos (branquias, glándula digestiva, manto) de los ejemplares extraídos del río Luján y branquias, glándula digestiva de los individuos del Río de la Plata (Tabla 22).

En marzo 2019, el GSH resultó significativamente mayor ($p<0,05$) en branquias y manto de los ejemplares del río Capitán, mientras que fue significativamente menor ($p<0,05$) en el manto de los animales del río Luján (Tabla 22).

En junio 2019, la defensa no enzimática GSH fue significativamente mayor ($p<0,05$) en branquias de los individuos extraídos del río Paraná de las Palmas, en glándula digestiva de los del río Luján, y significativamente menor ($p<0,05$) en el manto de los del río Capitán (Tabla 22).

En septiembre 2019, el GSH resultó significativamente mayor ($p<0,05$) en glándula digestiva de los animales río Paraná, como también en manto de los individuos del Paraná y Capitán (Tabla 22).

En diciembre 2019, solo se obtuvieron resultados para los animales del río Paraná ya que fueron los únicos sobrevivientes (Tabla 22).

GLUTATIÓN REDUCIDO (nmoles GSH/g de peso húmedo)

FECHA DE MUESTREO		SITIO			
DICIEMBRE 18	RC	RPP	RLP	CA	RL
BRANQUIAS	11,67 ± 1,56 ^A	13,84 ± 3,40 ^A	6,06 ± 0,91 ^B	14,68 ± 2,71 ^A	5,71 ± 0,72 ^B
GLÁNDULA DIGESTIVA	43,48 ± 6,49 ^A	38,18 ± 3,68 ^A	74,86 ± 4,60 ^B	45,73 ± 1,17 ^A	76,59 ± 4,27 ^B
MANTO	98,05 ± 1,69 ^A	103 ± 5,75 ^A	102,4 ± 3,72 ^A	100,4 ± 3,78 ^A	86,18 ± 5,37 ^B
MARZO 19					
BRANQUIAS	151,68 ± 1,14 ^A	28,41 ± 1,91 ^B	26,32 ± 2,43 ^B	25,91 ± 0,96 ^B	26,67 ± 1,60 ^B
GLÁNDULA DIGESTIVA	10 ± 1,20 ^A	11,52 ± 0,69 ^{AB}	13,53 ± 2,86 ^{AB}	13,73 ± 0,67 ^{AB}	15,76 ± 3,41 ^B
MANTO	30,23 ± 1,59 ^A	20,91 ± 2,77 ^{BC}	15,07 ± 4,01 ^C	22,88 ± 4,20 ^{ABC}	6,36 ± 0,91 ^D
JUNIO 19					
BRANQUIAS	60,45 ± 3,31 ^A	96,27 ± 4,03 ^B	-	66,48 ± 4,14 ^A	89,91 ± 4,57 ^B
GLÁNDULA DIGESTIVA	84,36 ± 5,63 ^A	111,4 ± 4,47 ^B	-	100,7 ± 5,16 ^{AB}	132,4 ± 15,91 ^C
MANTO	60,55 ± 4,11 ^A	96,09 ± 4,04 ^B	-	90,68 ± 6,35 ^B	96,18 ± 5,61 ^B
SEPTIEMBRE 19					
BRANQUIAS	89,24 ± 10,54 ^A	99,09 ± 9,43 ^A	-	80,19 ± 2,41 ^{AB}	64,24 ± 6,96 ^B
GLÁNDULA DIGESTIVA	112,60 ± 6,61 ^A	137,40 ± 13,37 ^B	-	97,12 ± 2,62 ^A	95,91 ± 3,11 ^A
MANTO	98,98 ± 7,58 ^A	111,50 ± 3,49 ^A	-	79,70 ± 5,68 ^B	78,18 ± 9,25 ^B
DICIEMBRE 19					
BRANQUIAS	--	24,85 ± 4,94	-	--	--
GLÁNDULA DIGESTIVA	--	54,55 ± 2,97	-	--	--
MANTO	--	43,64 ± 4,13	-	--	--

Tabla 22. Contenido de glutatión reducido (nmoles GSH/g de peso húmedo) en *Corbicula fluminea*. Promedio ± desvío estándar (n=5) en tres órganos de los animales extraídos en los distintos sitios en cada una de las fechas de muestreo. RC: río Capitán; RPP: río Paraná de las Palmas; RLP: Río de la Plata; CA: canal Arias y RL: río Luján. -: desaparición de las jaulas; --: muerte de los individuos. Letras distintas indican diferencia significativa.

Daño oxidativo a lípidos

En lo que respecta el daño oxidativo a lípidos, en diciembre 2018, resultó significativamente mayor ($p < 0,05$) en branquias de los animales extraídos del Río de la Plata y Luján, en glándula digestiva en los del río Capitán y manto en los ejemplares del Luján (Tabla 23).

En junio 2019, el daño oxidativo resultó significativamente menor en el manto de los animales extraídos del río Paraná de las Palmas (Tabla 23).

En septiembre 2019, el daño oxidativo a lípidos fue significativamente mayor en las branquias de los individuos del río Paraná y en manto de los ejemplares del Luján (Tabla 23).

En diciembre 2019, solo se obtuvo los datos de daño en los animales del río Paraná de las Palmas al ser los únicos sobrevivientes (Tabla 23).

MALONDIALDEHÍDO (nmoles MDA/g de peso húmedo)

FECHA DE MUESTREO		SITIO			
DICIEMBRE 18	RC	RPP	RLP	CA	RL
BRANQUIAS	18,81 ± 1,73 ^A	13,01 ± 1,14 ^B	28,94 ± 2,34 ^C	16,72 ± 1,62 ^{AB}	27,95 ± 3,20 ^C
GLÁNDULA DIGESTIVA	42,75 ± 3,03 ^A	25,71 ± 3,75 ^B	30,12 ± 1,97 ^B	30,40 ± 2,96 ^B	31,21 ± 4,04 ^B
MANTO	6,29 ± 1,39 ^A	20,18 ± 1,42 ^B	23,70 ± 2,65 ^{BC}	10,16 ± 1,57 ^A	27,76 ± 3,51 ^C
MARZO 19					
BRANQUIAS	18,56 ± 0,21 ^{AB}	16,03 ± 1,19 ^A	20,34 ± 1,50 ^B	19,28 ± 1,53 ^{AB}	17,34 ± 2,12 ^{AB}
GLÁNDULA DIGESTIVA	28,82 ± 8,60 ^A	34,25 ± 6,02 ^A	24,89 ± 1,55 ^A	31,98 ± 4,25 ^A	26,25 ± 9,34 ^A
MANTO	10,90 ± 1,87 ^A	10,90 ± 1,37 ^A	11,11 ± 1,57 ^A	14,74 ± 2,33 ^A	13,13 ± 1,48 ^A
JUNIO 19					
BRANQUIAS	11,50 ± 2,69 ^{AC}	9,71 ± 2,40 ^A	-	14,24 ± 1,98 ^{BC}	16,74 ± 1,50 ^B
GLÁNDULA DIGESTIVA	20,88 ± 2,18 ^A	16,45 ± 3,54 ^A	-	17,40 ± 1,98 ^A	19,16 ± 1,49 ^A
MANTO	11,26 ± 1,37 ^A	7,22 ± 1,70 ^B	-	12,55 ± 1,50 ^A	13,37 ± 1,99 ^A
SEPTIEMBRE 19					
BRANQUIAS	3,27 ± 0,99 ^A	10,22 ± 3,57 ^B	-	5,09 ± 0,94 ^A	6,23 ± 1,10 ^{AB}
GLÁNDULA DIGESTIVA	32,86 ± 2,08 ^{AB}	33,09 ± 5,30 ^{AB}	-	24,70 ± 3,89 ^A	35,57 ± 4,22 ^B
MANTO	6,42 ± 0,78 ^A	6,21 ± 0,98 ^A	-	9,64 ± 0,67 ^B	13,33 ± 2,38 ^C
DICIEMBRE 19					
BRANQUIAS	--	7,33 ± 0,79	-	--	--
GLÁNDULA DIGESTIVA	--	12,73 ± 0,48	-	--	--
MANTO	--	5,50 ± 0,69	-	--	--

Tabla 23. Daño oxidativo a lípidos (nmoles MDA/g de peso húmedo) en *Corbicula fluminea*. Promedio ± desvío estándar (n=5) en tres órganos de los animales extraídos en los distintos sitios en cada una de las fechas de muestreo. RC: río Capitán; RPP: río Paraná de las Palmas; RLP: Río de la Plata; CA: canal Arias y RL: río Luján. -: desaparición de las jaulas; --: muerte de los individuos. Letras distintas indican diferencia significativa.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este capítulo contribuyen al conocimiento de la fluctuación espacio-temporal en las respuestas metabólicas en *C. fluminea*, asociadas a las diferencias observadas en la variabilidad espacial y temporal de los parámetros físicos y químicos acuáticos a lo largo de la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense. Mayoritariamente, en cada una de las fechas de muestreo, en los tres órganos, los parámetros metabólicos analizados (CAT, GST, GSH, MDA) mostraron valores significativamente mayores en los animales enjaulados en el río Luján, seguido de los del Río de la plata, canal Arias, río Paraná de las Palmas y por último los colocados en el río Capitán. La única excepción se observó en marzo 2019, muestreo en el que los valores obtenidos no difirieron entre sitios o fueron significativamente mayores en el río Paraná de las Palmas y Capitán. Esta diferencia sería consistente con el mayor nivel hídrico registrado durante varios días previos y el mismo día a realizar el muestreo, aportando tanto al río Paraná de las Palmas como al Capitán una mayor carga sedimentaria en suspensión y en consecuencia un mayor aporte en la concentración de contaminantes en la columna de agua. Las respuestas metabólicas son una combinación los efectos crónicos a lo largo del tiempo, como también de los efectos agudos provocados por los cambios en los días previos a la extracción y medición en los individuos. La significancia obtenida en el aumento de las defensas antioxidantes y mayor daño oxidativo a lípidos en los animales extraídos del río Luján, evidenciaría una situación de estrés oxidativo, reflejada por el aumento en las defensas antioxidantes las cuales resultaron insuficientes para contrarrestar el daño oxidativo a lípidos en los individuos. En trabajos anteriores se ha reportado que el aumento en la actividad de enzimas antioxidantes y peroxidación en organismos acuáticos está asociado a la exposición de distintos contaminantes en el ambiente (Duarte *et al.*, 2011; Sabatini *et al.*, 2011 a, b; Rocchetta *et al.*, 2014 a, b). Esto se debe a que la mayoría de los contaminantes tienen la capacidad de generar especies reactivas del oxígeno (EROs) mediante la reacción de Fenton (Goldstein *et al.*, 1993; Livingstone 2001). Los organismos cuentan con mecanismos celulares para disminuir el efecto de las EROs, permitiendo su supervivencia en condiciones ambientales desfavorables (Valavanidis *et al.*, 2006).

Nuestros resultados muestran un aumento en las defensas antioxidantes, los cuales no serían suficientes para contrarrestar el daño oxidativo en los tres órganos analizados, pero en mayor medida en glándula digestiva. Resultados similares fueron descriptos por Pinto *et al.*, (2003), quien reportó que en condiciones de exposición crónica a metales en algas, provocó un aumento en los niveles de glutatión reducido (GSH) y de la actividad de enzimas antioxidantes (GST y CAT). Por su parte, Sabatini (2010), determinó que el aumento de cobre en el medio acuático y su exposición crónica en algas, bivalvos y cangrejos, generó estrés oxidativo en los organismos, ya que un aumento de las defensas antioxidantes no fueron suficientes para prevenir el daño oxidativo, al presentar altos niveles de MDA, tal como los resultados obtenidos en esta tesis.

Por su parte, cuando la concentración de proteínas difirió entre sitios, fue significativamente mayor en el río Luján (en glándula digestiva en diciembre 2018 y en los tres órganos en septiembre 2019) o canal Arias (en glándula digestiva en marzo 2019 y en los tres órganos en junio 2019), lo que podría indicar, según Sabatini (2010), la inducción de la síntesis de proteínas protectoras como mecanismo para reducir los efectos de los metales en agua y bioacumulados. A su vez, los mayores valores de glucógeno observados en los animales del río Luján, también podría estar relacionado a los efectos de los metales en agua, ya que según Días y García (2001) y Yusseppone *et al.* (2019), en sus estudios previos en otros bivalvos, la bioacumulación de metales induciría la acumulación de glucógeno, mediante la activación de la enzima glucógeno sintetasa e inhibición de la glucógeno fosforilasa. Las diferencias observadas en el tamaño, peso de la glándula digestiva y la acumulación de glucógeno en los animales del río Luján en comparación a los demás sitios, podría explicarse a que estos individuos serían capaces de alimentarse de materia orgánica y de bacterias coliformes tal como se observó en diversos trabajos (Sabatini, 2010; Sabatini *et al.*, 2011 a; Rochetta *et al.*, 2014 b; Yusseppone 2016) en otro bivalvo de agua dulce (*Diplodon chilenses*). También, podría ser consecuencia de la síntesis de lípidos saturados de reserva de energía para la activación y síntesis de compuestos antioxidantes bajo condiciones de estrés ambiental (Moore, 1988; Helm *et al.*, 1991; Sabatini, 2010). Por ende, el aumento del tamaño, peso de la glándula digestiva y el contenido de glucógeno, podría

estar en relación directa con la cantidad/calidad de alimento disponible y la concentración de tóxicos presentes en el medio acuático (Fassiano, 2016).

En general, para todos los sitios y todas las fechas de muestreo, la glándula digestiva presentó los mayores valores, siendo a su vez, de los tres órganos analizados, el más sensible a las variaciones en el ambiente. Esto puede estar relacionado con la importancia de la glándula digestiva en la eliminación de tóxicos y en la activación de los sistemas antioxidantes para contrarrestar el estrés oxidativo inducido por contaminantes. Estos resultados explicarían en parte la plasticidad mostrada por *Corbicula fluminea* para ocupar nichos con distinto grado de impacto antrópico.

CAPÍTULO 4 B

ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE *Corbicula fluminea* Y *Diplodon delodontus* EN EL RÍO PARANÁ DE LAS PALMAS

Los mismos parámetros metabólicos y de estatus energéticos medidos para *C. fluminea*, fueron determinados para *D. delodontus*. Los resultados obtenidos fueron analizados de manera comparativa entre especies y muestreos (junio y septiembre 2019) del río Paraná de las Palmas.

RESULTADOS

Estatus energético en *C. fluminea* y *D. delodontus*

Concentración de proteínas solubles

La concentración de proteínas reveló el mismo patrón de variación entre órganos (branquias, glándula digestiva y manto), tanto en los individuos de *C. fluminea* como de *D. delodontus*. En junio 2019, las proteínas resultaron significativamente más altas ($p < 0,05$) en los tres órganos de *C. fluminea*, mientras que en septiembre 2019 solo lo fue en manto, en comparación con *D. delodontus* (Figura 26). Para ambas especies, la concentración de proteínas aumentó significativamente ($p < 0,05$) de junio a septiembre 2019, con excepción del manto para *D. delodontus* (Figura 26).

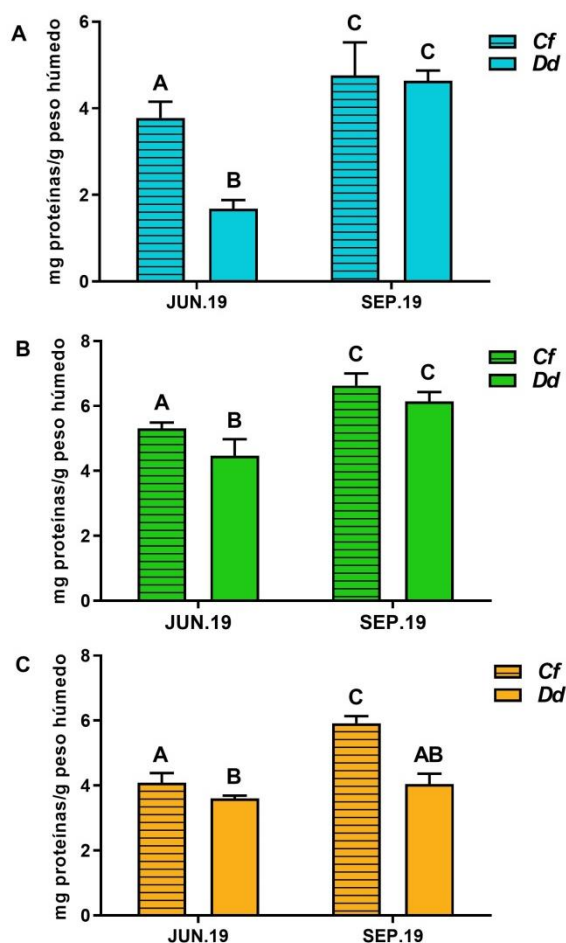


Figura 26. Concentración de proteínas (mg/g de peso húmedo) en *Corbicula fluminea* (Cf) y *Diplodon delodontus* (Dd). Promedio $\pm$ desvío estándar (n=5) en branquias (A), glándula digestiva (B) y manto (C) de los animales extraídos de cada especie en el río Paraná de las Palmas en los muestreos de junio 2019 y septiembre 2019. Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$).

Contenido de glucógeno

El contenido de glucógeno mostró una respuesta distinta entre especies. En *D. delodontus* aumentó significativamente ($p < 0,05$) de junio a septiembre 2019, mientras que en *C. fluminea* no se observaron diferencias significativas (Figura 27). Al comparar entre especies en junio 2019, el contenido de glucógeno resultó significativamente mayor

($p < 0,05$) en *C. fluminea*. Sin embargo, en septiembre 2019 lo fue ($p < 0,05$) en *D. delodontus* (Figura 27).

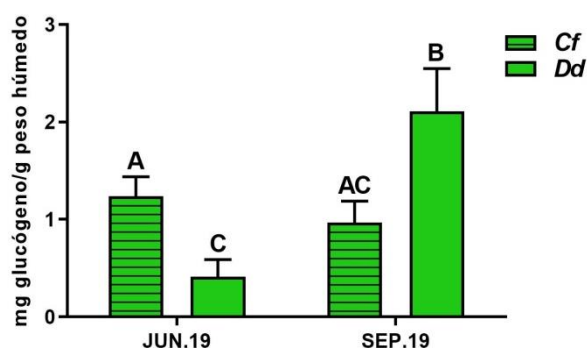


Figura 27. Contenido de glucógeno (mg de glucógeno/g de peso húmedo) en *Cobricula fluminea* (*Cf*) y *Diplodon delodontus* (*Dd*). Promedio $\pm$ desvío estándar ($n=5$) en glándula digestiva de los ejemplares extraídos de cada especie en el río Paraná de las Palmas en los muestreos de junio 2019 y septiembre 2019. Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$).

Parámetros metabólicos en *C. fluminea* y *D. delodontus*

Defensas enzimáticas

La actividad catalasa mostró una respuesta similar entre órganos para *C. fluminea*, mientras que en *D. delodontus* la respuesta fue similar entre la glándula digestiva y el manto, pero distinta en las branquias (Figura 28). En junio 2019, la defensa enzimática CAT resultó significativamente mayor ($p < 0,05$) en los tres órganos de *D. delodontus*. Sin embargo, en septiembre 2019 solo se observaron diferencias entre especies en glándula digestiva, resultando significativamente mayor en *C. fluminea* (Figura 28).

La actividad glutatión-S-transferasa (GST) mostró una respuesta similar en los tres órganos para *D. delodontus*, mientras que en *C. fluminea* también lo fue entre las branquias y glándula digestiva pero no en manto. Tanto en junio como en septiembre 2019, la GST resultó significativamente mayor ($p < 0,05$) en los tres órganos de *C. fluminea* con respecto a *D. delodontus* (Figura 29). En *C. fluminea*, la actividad GST aumentó significativamente ($p < 0,05$) de junio a septiembre 2019 en branquias y glándula digestiva, pero no en manto. Mientras que *D. delodontus* no presentó diferencias entre un muestreo y otro (Figura 29).

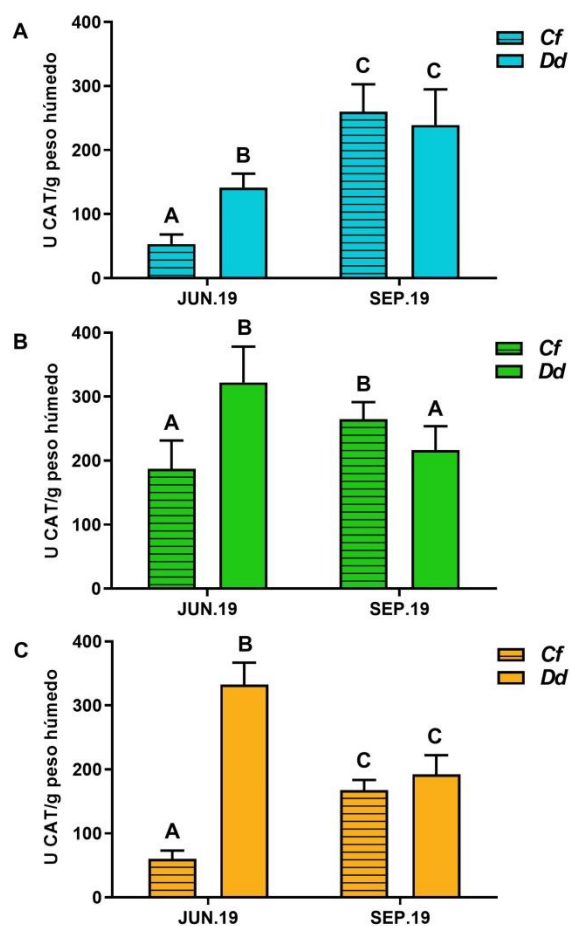


Figura 28. Actividad catalasa (U CAT/g de peso húmedo) en *Corbicula fluminea* (Cf) y *Diplodon delodontus* (Dd). Promedio $\pm$ desvío estándar (n=5) en branquias (A), glándula digestiva (B) y manto (C) de los animales extraídos de cada especie en el río Paraná de las Palmas en los muestreos de junio 2019 y septiembre 2019. Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$).

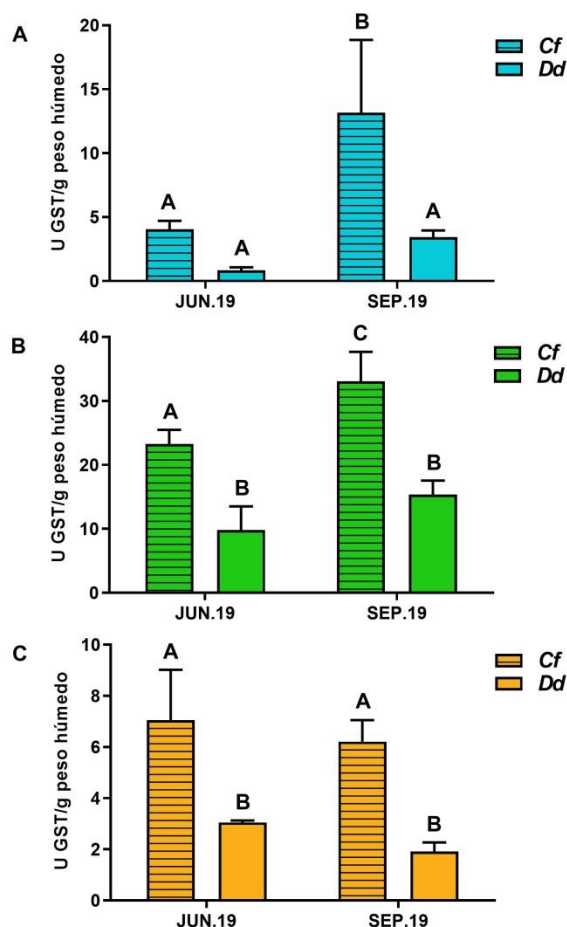


Figura 29. Actividad glutatión-S-transferasa (U GST/g de peso húmedo) en *Corbicula fluminea* (Cf) y *Diplodon delodontus* (Dd). Promedio $\pm$ desvío estándar (n=5) en branquias (A), glándula digestiva (B) y manto (C) de los ejemplares extraídos de cada especie en el río Paraná de las Palmas en los muestreos de junio 2019 y septiembre 2019. Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$).

Defensa no enzimática

El contenido de glutatión reducido mostró similares respuestas entre órganos para *D. delodontus*, mientras que en *C. fluminea* la respuesta de las branquias fue distinta a la de la glándula digestiva y el manto. En junio 2019, la defensa no enzimática GSH resultó significativamente mayor ($p < 0,05$) en branquias y manto de *C. fluminea*, aunque no en glándula digestiva. En septiembre 2019, solo se observó una diferencia significativa ($p < 0,05$) en las branquias resultando mayor en *D. delodontus* (Figura 30).

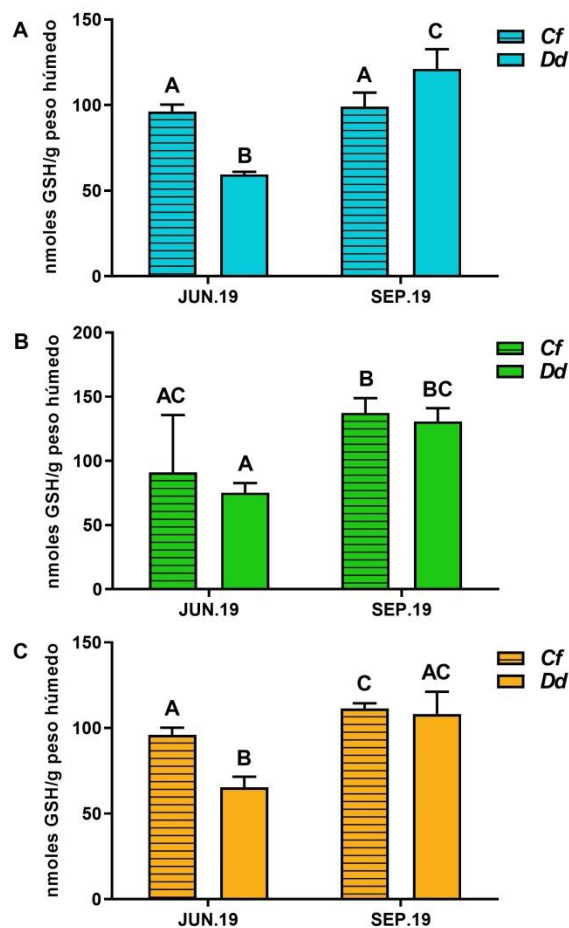


Figura 30. Contenido de glutatión reducido (nmol GSH/g de peso húmedo) en *Corbicula fluminea* (Cf) y *Diplodon delodontus* (Dd). Promedio $\pm$ desvío estándar (n=5) en branquias (A), glándula digestiva (B) y manto (C) de los individuos extraídos de cada especie en el río Paraná de las Palmas en los muestreos de junio 2019 y septiembre 2019. Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$).

Daño oxidativo a lípidos

El daño oxidativo a lípidos mostró una respuesta variable en función del órgano analizado, siendo la misma para ambas especies y resultando similar entre las branquias y glándula digestiva pero diferente del manto. (Figura 31). En junio 2019, el daño oxidativo fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en las branquias de *C. fluminea*, mientras que en glándula digestiva lo fue en *D. delodontus*, sin mostrar diferencias entre especies en cuanto

al manto. En septiembre 2019, solo se observó diferencia significativa ($p<0,05$) entre el daño oxidativo en la glándula digestiva resultando mayor en *D. delodontus* (Figura 31).

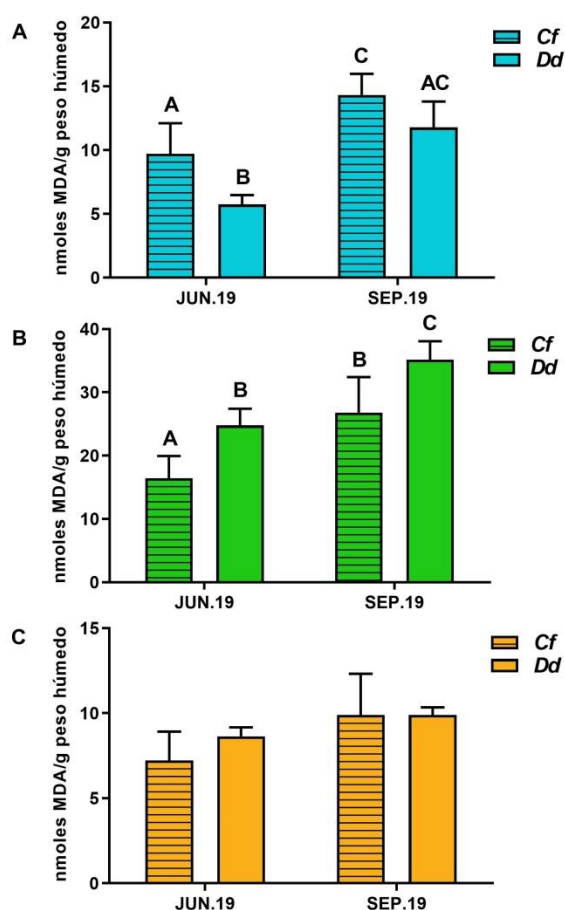


Figura 31. Contenido de TBARS (nmoles de MDA/g de peso húmedo) en *Corbicula fluminea* (Cf) y *Diplodon delodontus* (Dd). Promedio $\pm$ desvío estándar (n=5) en branquias (A), glándula digestiva (B) y manto (C) de los animales extraídos de cada especie en el río Paraná de las Palmas en los muestreos de junio 2019 y septiembre 2019. Letras distintas indican diferencia significativa ($p<0,05$).

DISCUSIÓN

En nuestra investigación, la respuesta de la actividad de catalasa (CAT) en glándula digestiva y manto presentó diferencias entre especies, aumentando en *C. fluminea* y disminuyendo en *D. delodontus* en ambos órganos. Esta diferencia entre especies se debería a que la especie nativa tiene una tasa metabólica baja y un crecimiento lento, en comparación con otras especies bivalvos, al ser una especie longeva (Aldrige 1999; Valdovinos y Pedreros 2007; Rocchetta *et al.*, 2014 a). Las especies longevas como *D. delodontus*, presentan valores basales de las variables relacionadas al daño oxidativo y respuestas antioxidantes más bajas que en individuos menos longevos como sería el caso de *C. fluminea*. A su vez, estas respuestas también van disminuyendo con la edad en las especies longevas (Yusseppone 2016). Esto podría explicar las diferentes respuestas entre especies frente a variaciones en el ambiente, visualizando respuestas más tarde en el tiempo en la especie nativa que en la invasora, es decir, que mientras en *C. fluminea* se observó un aumento de las defensas antioxidantes para contrarrestar el daño en el primer muestreo, en *D. delodontus* se visualizó en la siguiente fecha de muestreo. La mayor actividad de la enzima glutatión-S-transferasa (GST) en *C. fluminea* en comparación con *D. delodontus*, podría estar evidenciando estas diferencias en la fase de oxidación de los xenobióticos entre especies (Lushchak, 2011). A su vez, la alta e inmediata respuesta metabólica de *C. fluminea*, se ha interpretado como beneficioso en trabajos previos en el Río de la Plata y se ha relacionado con el éxito de esta especie invasora en estos tipos de ambientes (Hünicken *et al.*, 2022).

En el río Paraná de las Palmas, en el presente estudio, se observó además un incremento en el contenido de glutatión reducido (GSH) de junio a septiembre tanto en *C. fluminea* como en *D. delodontus*. En trabajos previos se ha reportado que la exposición de bivalvos a metales como así también a pesticidas produce un aumento de los niveles de GSH (Sabatini *et al.*, 2011 a, b; Rocchetta *et al.*, 2014 a, b; Peluso 2020; Yusseppone *et al.*, 2020). El aumento observado en los niveles de GSH tanto en *C. fluminea* como en *D. delodontus* estaría indicando que en ambas especies el glutatión reducido tiene una participación activa

en la defensa antioxidante frente a la exposición de los metales y pesticidas registrados en el río Paraná de las Palmas.

El aumento de los valores de peroxidación lipídica (MDA) de junio a septiembre, tanto en branquias como en glándula digestiva de *C. fluminea* y *D. delodontus*, indicaría que ambas especies sufren daño oxidativo a lípidos. Los mayores valores registrados en branquias y glándula digestiva, no así en manto, en la especie invasora, probablemente se deban a una respuesta diferida en el tiempo entre especies por las diferencias en los metabolismos (ya nombradas con anterioridad), sumado a que dichos órganos están en contacto directo con partículas y sustancias disueltas por más tiempo que el manto (Sar *et al.*, 2018). Las branquias son el órgano donde se realiza el intercambio gaseoso y la captura del alimento; mientras que la glándula digestiva es el principal sitio de bioacumulación de contaminantes y detoxificación, constituyendo dos órganos blanco de contaminantes ambientales (Jing *et al.*, 2006; Attig *et al.*, 2010). Resultados similares se obtuvieron en trabajos previos de *Diplodon chilensis* expuesto a metales en el norte de la Patagonia Argentina (Rocchetta *et al.*, 2014 a, b; Yusseppone 2016; Yusseppone *et al.*, 2020).

El contenido de glucógeno, otro indicador del estado metabólico general, mostró diferencias entre especies. Mientras que *C. fluminea* mantuvo la concentración constante entre las dos fechas de muestreo analizadas, en *D. delodontus* se registró un aumento considerable en el mes de septiembre. Las diferencias encontradas entre ambas especies podrían deberse a que la especie nativa se encontraría en el período de acumulación de reservas energéticas para la formación de gametas, período que concluye a fines del verano para distintas especies del género (Semenas y Brugni 2002). Por su parte, la especie invasora, tiene múltiples eventos reproductivos en el año (los más relevantes en primavera) y no exhibe periodos de inactividad reproductiva, manteniendo así una concentración constante de glucógeno (Sousa *et al.*, 2008; Cao *et al.*, 2017). Otra hipótesis que explicaría las diferencias observadas en el contenido de glucógeno entre especies, sería a la variabilidad en la disponibilidad de alimento, asociado al impacto antrópico, siendo *D. delodontus* quien aprovecha mejor los recursos alimenticios por tener estrategias y respuestas metabólicas distintas frente a la presencia de contaminantes con en el medio

acuático. En estudios previos de otra especie de este género, realizados en el norte de la Patagonia Argentina, se observó que la contaminación bacteriana por coliformes fecales en los sitios impactados constituía una fuente de alimento alternativa para *D. chilensis* (Sabatini *et al.*, 2011 a; Rochetta *et al.*, 2014 b; Yusseppone 2016). Por otro lado, como ya se dijo con anterioridad, en otras especies de bivalvos se ha observado un incremento en el contenido de glucógeno en respuesta a la acumulación de metales como el cobre y el plomo (Díaz y García, 2001). Esto se explica por el aumento de la actividad de la enzima glucógeno sintetasa e inhibición de la glucógeno fosforilasa (Díaz y García, 2001), en relación directa con la cantidad de alimento disponible y a la concentración de tóxicos presentes en el medio acuático (Fassiano, 2016).

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran un desbalance en el estatus energético y los parámetros metabólicos en los tres órganos investigados a lo largo del tiempo, en ambas especies de bivalvos, posiblemente en respuesta a los cambios ocurridos en los parámetros físicos y químicos más la presencia de contaminantes en el medio acuático, observados en los anteriores capítulos. Estos cambios son más evidentes en las branquias y la glándula digestiva de *C. fluminea*, ya que esta especie presenta respuestas metabólicas más inmediatas en el tiempo que *D. delodontus*. Sin embargo, en ambas especies, se observa un efecto prooxidante evidenciado por la activación del sistema de defensas antioxidantes enzimáticas y no enzimáticas, el cual no logró prevenir el daño oxidativo. Adicionalmente, las respuestas relacionadas con el estrés oxidativo se vieron potenciadas en septiembre 2019, debido al aumento en las concentraciones de los metales, como también de las demás variables físicas y químicas, de junio a septiembre 2019 en el río Paraná de las Palmas.

Nuestros resultados muestran que, en conjunto al estudio de variables físicas y químicas del medio acuático, *C. fluminea* y *D. delodontus*, constituirían modelos útiles en la evaluación de la calidad del agua, para monitorear sitios impactados por actividades antrópicas. Proponemos la utilización conjunta de especies nativas e invasoras para obtener una visión más amplia del impacto antrópico de la zona y de cómo este afecta en forma diferencial a las especies que la habitan, además de proveer en paralelo datos significativos

para la conservación de especies autóctonas. Consideramos entonces que esta tesis constituye un aporte valioso para el conocimiento del estado ambiental de la Primera Sección de Islas Bonaerenses, ya que la mayoría de los estudios se realizan habitualmente río arriba del Paraná de las Palmas, cerca de su desembocadura en el Río de la Plata o río arriba en el Luján. A su vez, los resultados obtenidos en esta tesis permitirían una correcta interpretación del efecto de los cambios en las distintas variables físicas y químicas más la presencia de contaminantes y xenobióticos en el medio acuático, sobre las respuestas metabólicas de *C. fluminea* y *D. delodontus*. Toda esta información en conjunto, otorga además, herramientas para explicar la dispersión y colonización de una especie invasora en detrimento de una nativa en la Primera Sección de Islas y extrapolarlo, a futuro, a todo el Delta Bonaerense.

CONCLUSIONES GENERALES

Los resultados obtenidos en esta tesis aportan evidencias a favor de la hipótesis de que los cuerpos de agua en la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense presentan diferencias físicas y químicas en función de sus características hidrológicas y que estas se ven alteradas diferencialmente según el tipo e intensidad de las actividades antrópicas que se realizan en sus cursos y afluentes. Teniendo en cuenta que la concentración de contaminantes y xenobióticos en el agua no solo fluctúa por lo antedicho sino también por los fenómenos hidrometeorológicos típicos del Delta, debido a los cambios en el nivel hídrico y las sudestadas. Por ello concluimos que:

- Las mayores diferencias espaciales de los parámetros físicos y químicos del agua están en relación directa con las características hidrológicas del sitio (ancho, profundidad, caudal).

- Las diferencias temporales en las concentraciones de contaminantes presentes en el agua dependen tanto de la intensidad diferencial de la actividad antrópica que los originan como también del régimen hidrológico (nivel hídrico, mareas y sudestadas).

- Si bien las respuestas metabólicas resultaron órganos dependientes en ambas especies, las branquias y glándula digestiva muestran mayores respuestas en menor tiempo. A su vez, en *C. fluminea* las defensas antioxidantes se activan antes que en *D. delodontus* en el río Paraná de las Palmas.

- Las diferentes respuestas metabólicas de *C. fluminea* observadas en los distintos sitios de la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense, contribuyen a explicar la plasticidad mostrada por esta especie para colonizar nichos contaminados.

- Los resultados obtenidos proveen información realista del impacto de las concentraciones ambientales de metales y pesticidas en los distintos cuerpos de agua analizados y su efecto diferencial en especies nativas e invasoras que lo habitan. Las mayores concentraciones de defensas enzimáticas y no enzimáticas registradas en los tres órganos de *C. fluminea* y el mayor daño oxidativo en *D. delodontus*, frente al deterioro del ambiente acuático, podrían contribuir a explicar la plasticidad en la dispersión y

colonización de una especie invasora en detrimento de una nativa en la Primera Sección de Islas del Delta Bonaerense.

En la siguiente infografía resumimos e integramos los resultados obtenidos en los cuatro capítulos de la tesis, para observar un panorama completo y concluyente (Figura 32).

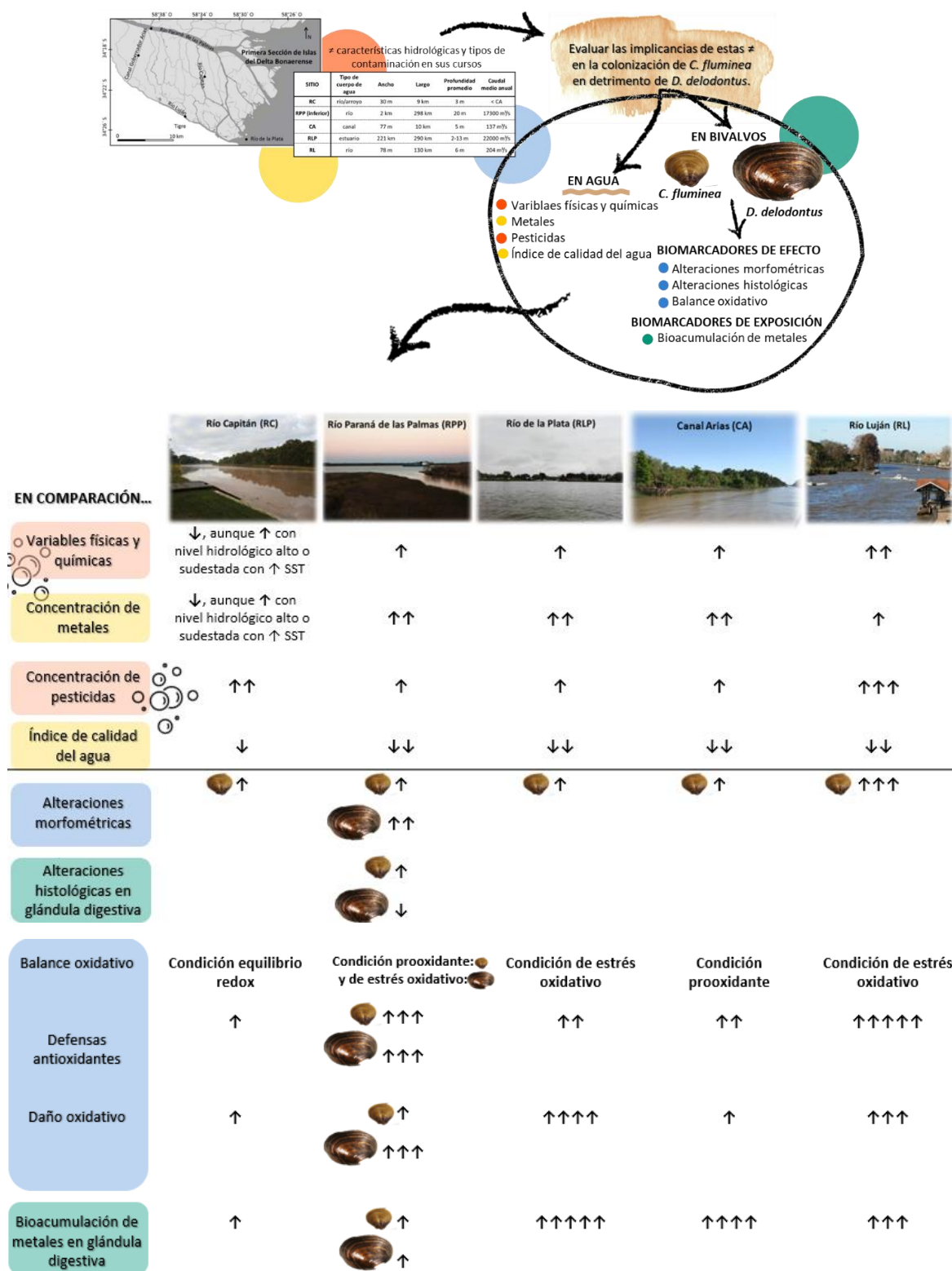


Figura 32. Integración de los resultados.

RECOMENDACIONES A FUTURO

Resulta necesario analizar y tratar de comprender la problemática de la contaminación acuática basándose en la investigación y monitoreo de los ambientes dulceacuícolas para poder desarrollar e implementar estrategias efectivas de gestión. Para ello, los organismos gubernamentales y no gubernamentales, la ciencia y la sociedad, deben actuar en conjunto con el fin de encontrar las mejores estrategias para evitar y/o solucionar los problemas derivados de la contaminación acuática. Los resultados obtenidos en esta tesis dejan en evidencia la necesidad de implementar buenas prácticas en el cuidado de ambiente, fortaleciendo el marco regulatorio y las actividades de control, con sustento científico.

A futuro recomendamos realizar las distintas determinaciones hechas en agua en muestras de sedimento. También realizar múltiples muestreos en cada una de las estaciones del año: con nivel hídrico bajo, nivel hídrico alto, nivel normal del cuerpo de agua y durante el fenómeno de sudestada. Si esto no fuera posible, tener en cuenta el mismo nivel hídrico en cada cuerpo de agua para los muestreos en el tiempo o estacionales. Además, continuar la investigación con ensayos de laboratorio en condiciones controladas para evaluar la toxicidad de las concentraciones ambientales observadas y establecer niveles de tolerancia de los distintos contaminantes, aportando información importante en el desarrollo y actualización de reglamentos de prevención y niveles guías que permitan buenas condiciones de la vida acuática.

BIBLIOGRAFÍA

A

- Aarab N., B.F. Godal and R.K. Bechmann. 2011. Seasonal variation of histopathological and histochemical markers of PAH exposure in blue mussel (*Mytilus edulis* L.). Marine Environmental Research. 71 (3), 213-217. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2011.01.005>.
- Abele D., T. Brey and E. Philipp. 2009. Bivalve models of aging and the determination of molluscan lifespans. Experimental Gerontology. 44 (5), 307-315. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2009.02.012>.
- Achard M., M. Baudrimont, A. Boudou and J.P. Bourdineaud. 2004. Induction of a multixenobiotic resistance protein (MXR) in the Asiatic clam *Corbicula fluminea* after heavy metals exposure. Aquatic Toxicology. 67 (4), 347-357. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.01.014>.
- Adler-Ivanbrook L. and V.T. Breslin. 1999. Accumulation of copper, chromium, and arsenic in blue mussels (*Mytilus edulis*) from laboratory and field exposures to wood treated with chromated copper arsenate type c. Environmental Toxicology and Chemistry. 18 (2), 213-221.
- Aebi H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology. 105, 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3).
- Alberro N., P. Bedregal, R. Crubellati y S. Stegen. 2011. Manual de protocolos armonizados y evaluados para la toma de muestra y el análisis de agua y sedimentos para la región de América Latina y el Caribe. Proyecto ARCAL RLA. Vol. 10.
- Aldrige D.C. 1999. The morphology, growth and reproduction of Unionidae (Bivalvia) in a fenland waterway. Journal of Molluscan Studies. 65, 47-60. <https://doi.org/10.1093/mollus/65.1.47>.
- Aldridge D.C. and S.J. Müller. 2001. - The Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, in Britain: current status and potential impacts. Journal of Conchology. 37 (2), 177-183.
- Altındağ A. and S. Yiğit. 2005. Assessment of heavy metal concentrations in the food web of lake Beyşehir, Turkey. Chemosphere. 60 (4), 552-556. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.01.009>.
- Amé V. y P. Carriquiriborde (coords.). 2021. Principios de ecotoxicología. Medio Ambiente. Universidad Nacional de La Plata. Libro de cátedra digital, EDULP, 1ra edición. 343 págs. ISBN: 978-950-34-1987-8.
- Ames B.N., M.K. Shigenaga and T.M. Hagen. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of AME. 90 (17), 7915-7922. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.17.7915>.
- Ansari T.M., I.L. Marr and N. Tariq. 2004. Heavy Metals in Marine Pollution Perspective-A Mini Review. Journal of Applied Sciences. 4 (1), 1-20. <https://doi.org/10.3923/jas.2004.1.20>.
- Anderson M.E. 1985. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. Methods in Enzymology. 113, 548-553. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(85\)13073-9](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(85)13073-9).
- Aparicio V., E. De Gerónimo, K. Hernández Guijarro, D. Pérez y R.V.C. Portocarrero. 2015. Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el ambiente. En INTA Ediciones. 53, 9.
- APHA. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th ed. Washington DC: American Public Health Association.
- Araujo R., D. Moreno and M.A. Ramos. 1993. The asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Bivalvia: Corbiculidae) in Europe. American Malacological Bulletin. 10 (1), 39-49.
- Archambault J.M., W.G. Cope and T.J. Kwak. 2013. Burrowing, byssus, and biomarkers: behavioral and physiological indicators of sublethal thermal stress in freshwater mussels (Unionidae). Marine and Freshwater Behaviour and Physiology. 46(4), 229-250. <http://dx.doi.org/10.1080/10236244.2013.805891>.
- Athor J. 2014. El Delta Bonaerense – Naturaleza, conservación y patrimonio cultural. Fundación de Historia Natural Félix de Azara. Buenos Aires. 420 págs. ISBN 978-987-3781-06-3.
- Attig H., A. Dagnino, A. Negri, J. Jebali, H. Boussetta, A. Viarengo, F. Dondero and M. Banni. 2010. Uptake and biochemical responses of mussels *Mytilus galloprovincialis* exposed to sublethal nickel concentrations. Ecotoxicology and Environmental Safety. 73, 1712-1719.
- Atkins D.A. 1937. On the ciliary mechanisms and interrelationships of lamellibranchs. Part III: Types of lamellibranch gills and their food currents. Quarterly Journal of Microscopical Science. 79, 375-421.
- Avila Perez P.D., D. Cicerone, D. Da Costa Lauria y P. Bedregal. 2011. Propuesta de un índice de calidad de agua para la región de Latinoamérica y el Caribe. Bedregal Salas Patricia, Lima.

B

- Baigún, C.R., A. Puig, P.G. Minotti, P. Kandus, R. Quintana, R. Vicari, R. Bo, N.O. Oldani and J.A.J.E. Nestler. 2008. Resource use in the Parana River Delta (Argentina): moving away from an ecohydrological approach?. *Ecohydrology and Hydrobiology*. 8(2-4), 245-262.
- Barrenechea, A. 2004. Aspectos físicoquímicos de la calidad del agua. Tratamiento de agua para consumo humano. 54 págs.
- Baudrimont M., A. Sandrine, G. Durrieu and A. Boudou. 2003. The key role of metallothioneins in the bivalve *Corbicula fluminea* during the depuration phase, after in situ exposure to Cd and Zn. *Aquatic Toxicology*. 63 (2), 89-102. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(02\)00134-0](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(02)00134-0).
- Bassack S.B., M.L. Oneto, N.R. Verrengia Guerrero and E.M. Kesten. 1997. Accumulation and elimination of pentachlorophenol in the freshwater bivalve *Corbicula fluminea*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 58, 497-503.
- Begon M., J.L. Harper and C.R. Townsend. 1986. Ecology. Individuals, populations and communities. Departamento de Zoología, Universidad de Liverpool, UK. 2899 pages. ISBN:0632013370.
- Beuge J.A. and S.D. Aust. 1978. The Thiobarbituric Acid assay. *Methods in Enzymology*. 52, 306-307.
- Bianchi V.A. 2014. El bivalvo de agua dulce *Diplodon chilensis* como herramienta para el estudio de ambientes acuáticos contaminados en Patagonia Norte. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Comahue, Centro Regional Universitario Bariloche. 185 págs.
- Bocchetti R., C.V. Lamberti, B. Pisanelli, E.M. Razzetti, C. Maggi, B. Catalano, G. Sesta, G. Martuccio, M. Gabellini and F. Regoli. 2008. Seasonal variations of exposure biomarkers, oxidative stress responses and cell damage in the clams, *Tapes philippinarum*, and mussels, *Mytilus galloprovincialis*, from Adriatic sea Marine Environmental Research. 66 (1), 24-26. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2008.02.013>.
- Boelsterli U.A. 2003. Diclofenac-induced liver injury: a paradigm of idiosyncratic drug toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 192 (3), 307-322. [https://doi.org/10.1016/S0041-008X\(03\)00368-5](https://doi.org/10.1016/S0041-008X(03)00368-5).
- Bogan A.E. 1993. Freshwater bivalve extinctions (Mollusca: Unionoida) A search for causes. *American Zoologist*. 33 (6), 599-609. <https://doi.org/10.1093/icb/33.6.599>.
- Bogan A.E. 2008. Global diversity of freshwater mussels (Mollusca, Bivalvia) in freshwater. *Hydrobiology*. 595, 139-147.
- Boltovskoy D., N. Correa, D. Cataldo, J. Stripeikis and M. Tudino. 1997. Environmental stress on *Corbicula fluminea* (Bivalvia) in the Paraná river delta (Argentina): complex pollution-related disruption of population structures. *Archiv fur Hydrobiologie*. 138 (4), 483-507. <https://doi.org/10.1127/archiv-hydrobiol/138/1997/483>.
- Bonetto A.A., Y. Zolocar y E.R. Vallejos. 1982. Contribución al conocimiento del fitoplancton del Paraná Medio. I. Ecosur. 9 (18), 189-212.
- Bonetto C.A., Y. Zalocar De Domitrovic y E.R. Vallejos. 1983. Fitoplancton y producción primaria del río Alto Paraná (Argentina). *Physis*. 41, 81-93.
- Botello A.V., J. Rendón von Osten, G. Gold-Bouchot y C. Arnaz-Hernández (eds.). 2005. Golfo de México: contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias. 2ª edición. Universidad Autónoma de Campeche. 695 págs.
- Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72 (1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- Byllaardt J.V. y J.D. Ackerman. 2014. Hydrodynamic habitat influences suspension feeding by unionid mussels in freshwater ecosystems *Freshwater Biology*. 59, 1187-1196. <https://doi:10.1111/fwb.12339>.

C

- Cajaraville M.P., I. Marigómez and E. Angulo. 1993. Correlation between cellular and organismic responses to oil-induced environmental stress in mussels. *Science of The Total Environment*. 134 (2), 1353-1371. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(05\)80142-1](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(05)80142-1).
- Calcagno J.A., J. López Gapa and A. Tablado. 1997. Growth and Production of the Barnacle *Balanus Amphitrite* in an Intertidal Area Affected by Sewage Pollution. *Journal of Crustacean Biology*. 7 (3), 417-423. <https://doi.org/10.2307/1549436>.

- Calcagno J.A., J. López Gapa and A. Tablado. 1998. Population Dynamics of the Barnacle *Balanus Amphitrite* in an Intertidal Area Affected by Sewage Pollution. *Journal of Crustacean Biology*. 18 (1), 128-137. <https://doi.org/10.1163/193724098X00133>.
- Camino M. y V. Aparicio (eds.). 2010. Aspectos Ambientales del Uso de Glifosato. INTA Ediciones. 304 págs.
- Cao L., C. Damborenea, P.E. Penchaszadeh and G. Darrigran. 2017. Gonadal cycle of *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae) in Pampean streams (Southern Neotropical Region). *PLoS ONE* 12 (10), e0186850. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186850>.
- Cao L.M. 2020. Conservación de las poblaciones de bivalvos nativos (Mollusca: Bivalvia: Unionoida) en Argentina. Variabilidad morfológica, molecular y distribución de *Diplodon delodontus*. Tesis Doctoral en Ciencias Naturales. Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Naturales y Museo. 161 págs.
- Carriquiriborde P. (coord.). 2021. Principios de Ecotoxicología. Libros de Cátedra. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata. 343 págs.
- Castellanos Z. y N. Landoni. 1995. Mollusca Pelecypoda y Gastropoda. P 759-801 En: Lopretto E.C. y G Tell (eds). Ecosistemas de Aguas Continentales. Metodologías para su estudio. Ediciones Sur, Tomo 2, La Plata, Argentina.
- Cataldo D. and D. Boltovskoy. 1999. Population dynamics of *Corbicula fluminea* (Bivalvia) in the Paraná River Delta (Argentina). *Hydrobiology*. 380, 153-163. <https://doi.org/10.1023/A:1003428728693>.
- Cataldo D.H. 2001. Dinámica poblacional y potencial bioindicador de contaminación acuática del molusco bivalvo *Corbicula fluminea* en el delta del Río Paraná. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3351_Cataldo.pdf.
- Cataldo D.H., D. Boltovskoy, J. Stripeikis and M. Pose. 2001a. Condition index and growth rates of field caged *Corbicula fluminea* (Bivalvia) as biomarkers of pollution gradients in the Paraná river delta (Argentina). *Aquatic Ecosystem Health and Management*. 4 (2), 187-201. <https://doi.org/10.1080/14634980127712>.
- Cataldo D., J.C. Colombo, D. Boltovskoy, C. Bilos and P. Landoni. 2001b. Environmental toxicity assessment in the Paraná river delta (Argentina): simultaneous evaluation of selected pollutants and mortality rates of *Corbicula fluminea* (Bivalvia) early juveniles. *Environmental Pollution*. 112 (3), 379-389. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00145-7](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00145-7).
- Caffrey J.M., J.T.A. Dick, E.L. Frances, E. Davis, A. Niven and N.E. Coughlan. 2016. First record of the Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Bivalvia, Cyrenidae) in Northern Ireland. *BiolInvasions Records*. 5 (4), 239-244. <http://dx.doi.org/10.3391/bir.2016.5.4.08>.
- Carr G.M. and J.P. Neary. 2008. Water quality for ecosystem and human health, UNEP/Earthprint.
- Carella F., S.W. Feist, J.P. Bignell and G. De Vico. 2015. Comparative pathology in bivalves: aetiological agents and disease processes. *Journal of Invertebrate Pathology*. 131, 107-120. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.012>.
- Ceballos D., M. García Cortés y M. Campos. 2014. Cambios de uso de la tierra en los humedales del Bajo Delta del Paraná. 4, 294-300. En: J. Athor (edit.). 2014. El Delta Bonaerense - Naturaleza, conservación y patrimonio cultural. Fundación de Historia Natural Félix de Azara. Buenos Aires, Argentina. 420 págs. ISBN 978-987-3781-06-3.
- Chaparro O.R., R.J. Thompson and J.E. Ward. 1993. *In vivo* observations of larval brooding in the Chilean Oyster, *Ostrea chilensis* Philippi, 1845. *Biological Bulletin*. 185, 365-372. <https://doi.org/10.2307/1542477>.
- Chapman P.M., H.E. Allen, K. Godtfredsen and M.N. Z'Graggen. 1996. Evaluation of Bioaccumulation Factors in Regulating Metals. *Environmental Science and Technology*. 30 (10). <https://doi.org/0013-936X/96/0930-448AS12.00/0>.
- Chen C.Y, S.R. Stemberger, B. Klaue, J.D. Blum, P.C. Pickhardt and C.L. Folt. 2000. Accumulation of heavy metals in food web components across a gradient of lakes. *Limnology and Oceanography*. 45 (7), 1525-1536. <https://doi.org/10.4319/lo.2000.45.7.1525>.
- Chen Z., J. Liu, S. Xu, D. Wang and X. Zheng. 2005. Impact of macrofaunal activities on the DIN exchange at the sediment-water interface along the tidal flat of Yangtze River estuary. *Environmental Science*. 26 (6), 43-50. PMID: 16447427.
- Cherry D., J. Scheller, N. Cooper and J. Bidwell. 2005. Potential effects of Asian clam (*Corbicula fluminea*) die-offs on native freshwater mussels (Unionidae) I: water-column ammonia levels and ammonia toxicity. *North American Benthological Society*. 24 (2), 369-380. <https://doi/pdf/10.1899/04-073.1>.

- Clavijo C. 2009. Distribución del género *Anodontites* (Mollusca:Bivalvia: Mycetopodidae) en Uruguay. Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay. 9 (92), 201-210. ISSN: 0037-8607.
- Clesceri, L.S., A.E. Greenberg and A. Eaton. 1986. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, Washington DC, USA. 162-173.
- Colombo J.C., C. Bilos, M. Campanaro, M.J. Rodriguez Presa, and J.A. Catoggio. 1995. Bioaccumulation of polychlorinated biphenyls and chlorinated pesticides by the Asiatic Clam *Corbicula fluminea*: its use as sentinel organism in the Río de la Plata estuary, Argentina. Environmental Science and Technology, 29: 914-927. <https://doi.org/10.1021/es00004a011>.
- Colombo J.C., C. Brochu, C. Bilos, P. Landoni and S. Moore. 1997. Long term accumulation of individual PCBs, dioxins, furans, and trace metals in Asiatic Clams from the Rio de la Plata Estuary, Argentina. Environmental Science and Technology. 31, 3551-3557. <https://doi.org/10.1021/es970308z>.
- Conti M.E., J. Stripeikis, M.G. Finoia and M.B. Tudino. 2011. Baseline trace metals in bivalve molluscs from the Beagle Channel, Patagonia (Argentina). Ecotoxicology. 20, 1341-1353. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0690-5>.
- Conti M.E., J. Stripeikis, M.G. Finoia and M.B. Tudino. 2012. Baseline trace metals in gastropod mollusks from the Beagle Channel, Tierra del Fuego (Patagonia, Argentina). Ecotoxicology. 21, 1112-1125. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0866-7>.
- Costa P.M., S. Carreira, M.H. Costa and S. Caeiro. 2013. Development of histopathological indices in a commercial marine bivalve (*Ruditapes decussatus*) to determine environmental quality. Aquatic Toxicology. 126, 442-454. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.08.013>.
- Cossa D. 1988. Cadmium in *Mytilus spp.*: worldwide survey and relationship between seawater and mussel content. Marine Environmental Research. 26, 265-284.
- Cuevas N., I. Zorita, P.M. Costa, J. Franco and J. Larreta. 2015. Development of histopathological indices in the digestive gland and gonad of mussels: integration with contamination levels and effects of confounding factors. Aquatic Toxicology. 162, 152-164. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.03.011>.
- Cyr H., K.J. Collier, J.S. Clearwater, B.J. Hicks and S.D. Stewart. 2017. Feeding and nutrient excretion of the New Zealand freshwater mussel *Echyridella menziesii* (Hyriidae, Unionida): implications for nearshore nutrient budgets in lakes and reservoirs. Aquatic Sciences. 79, 557-571. <https://doi.org/10.1007/s00027-016-0517-9>.

D

- Darrigan G. 1993. Los moluscos del Río de la Plata como indicadores de contaminación ambiental. En: Goin F. y R. Goñi (ed.). Elementos de Política Ambiental. Cámara de Diputados de la Provincia de Buenos Aires. 309-313.
- Darrigran G. 1999. Longitudinal distribution of molluscan communities in the Río de la Plata estuary as indicators of environmental conditions. Freshwater Mollusca. 8, 1-12.
- Darrigran G. 2002. Potential Impact of Filter-feeding Invaders on Temperate Inland Freshwater Environments. Biological Invasions. 4, 145-156. <https://doi.org/10.1023/A:1020521811416>.
- Darrigan G. y A. Coppola. 1994. Los bivalvos invasores del Río de la Plata. Su potencial uso como bioindicadores ambientales. Tankay. 1, 150-152.
- Darrigran G., I. Agudo-Padrón, P. Baez, et al. 2020. Non-native mollusks throughout South America: emergent patterns in an understudied continent. Biological Invasions. 4. <https://doi.org/10.1007/s10530-019-02178-4>.
- Darrigran G. and M.C. Damborena. 2005. A bioinvasion history in South America. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), the golden mussel. American Malacological Bulletin. 20, 105-112.
- Darrigan G., C. Damborenea, E.C. Drago, I. Ezcurra de Drago and A. Paira. 2011. Environmental factors restrict the invasion process of *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) in the Neotropical region: A case study from the Andean tributaries. Annales de Limnologie-International Journal of Limnology. 47 (3), 221-229. <https://doi.org/10.1051/limn/2011025>.
- Darrigan G. y M. Lagreca. 2005. Moluscos litorales del estuario del río de la Plata, Argentina. ProBiota: Serie Técnica y Didáctica, no. 8. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Buenos Aires, Argentina. ISSN: 1515-9329.
- Darrigan G. y N. Arcarí. 2009. Las invasiones biológicas en la costa Argentina y en la cuenca del Plata. 179-192. En: López R.A. y S.C. Marcomini (coord.) 2009. Problemática de los ambientes costeros Sur de Brasil, Uruguay y Argentina. 211 págs. Editorial Croquis S.R.L. ISBN 978-987-1527-24-3.

- Darrigran G., V. Nufiez y S. Torres. 2014. Los Moluscos del Delta Bonaerense. 3, 230-242. En: J. Athor (edit.). 2014. El Delta Bonaerense - Naturaleza, conservación y patrimonio cultural. Fundación de Historia Natural Félix de Azara. Buenos Aires, Argentina. 420 págs. ISBN 978-987-3781-06-3.
- Davies K.J.A. 1995. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. Biochemical Society Symposia. 61, 1-31. <https://doi.org/10.1042/bss0610001>.
- De Gerónimo E., V.C. Aparicio, S. Bárbaro, R. Portocarrero, S. Jaime y J.L. Costa. 2014. Presence of pesticides in surface water from four sub-basins in Argentina. Chemosphere, 107 (February), 423-431. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.039>.
- del Giorgio P., A.L. Vinocur, R.J. Lombardo and G. Tell. 1991. Progressive changes in the structure and dynamics of the phytoplankton community along a pollution gradient in a lowland river. A multivariate approach. Hydrobiologia. 224, 129-154.
- Díaz A. and J. García. 2001. Concentration of the heavy metal Cu and Pb and their relationship with the synthetase glycogen and phosphorylase glycogen enzymatic activity in the mussel (*Perna viridis*). Zootecnia Tropical. 19, 115-129.
- Di Marzio W.D., M. Sáenz, J. Alberdi, M. Tortorelli and S. Galassi. 2005. Riskassessment of domestic and industrial effluents unloaded into a freshwater environment. Ecotoxicology and Environmental Safety. 61 (3), 380-391. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.10.002>.
- Diniz M.S., H.M. Santos, P.M. Costa, I. Peres, M.H. Costa, S. Alves y J.L. Capelo-Martínez. 2008. Efectos de la exposición al arsénico en *Corbicula fluminea*: Evaluación de las respuestas histológicas, histoquímicas y bioquímicas. Ciencias Marinas. 34 (3), 307-316. <http://dx.doi.org/10.7773/cm.v34i3.1396>.
- Di Rienzo J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada y C.W. Robledo. 2014. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>.
- Di Salvatore P., J.A. Calcagno, N. Ortiz, M.C. Ríos de Molina and Sabatini SE. 2013. Effect of seasonality on oxidative stress responses and metal accumulation in soft tissues of *Aulacomya atra*, a mussel from the South Atlantic Patagonian coast. Marine Environmental Research. 92, 244-252. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.10.004>.
- Dimitriadis V.K., G.P. Domouhtsidou and M.P. Cajaraville. 2004. Cytochemical and Histochemical Aspects of the Digestive Gland Cells of the Mussel *Mytilus galloprovincialis* (L.) in Relation to Function. Journal of Molecular Histology. 35, 501-509. <https://doi.org/10.1023/B:HIJO.0000045952.87268.76>.
- Dobretsov G.E., T.A. Borschevskaya, V.A. Petrov and Y.A. Vladimirov. 1977. The increase of phospholipid bilayer rigidity after lipid peroxidation. FEBS letters. 84 (1), 125-128. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(77\)81071-5](https://doi.org/10.1016/0014-5793(77)81071-5).
- Doherty F.G., D.S. Cherry and J.R. Cairns. 1987. Spawning Periodicity of the Asiatic Clam *Corbicula fluminea* in the New River, Virginia. The American Midland Naturalist. 117 (1), 71-82. <https://doi.org/10.2307/2425709>.
- Domouhtsidou G.P. and V.K. Dimitriadis. 2000. Ultrastructural localization of heavy metals (Hg, Ag, Pb and Cu) in gills and digestive gland of mussels, *Mytilus galloprovincialis* (L). Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 38, 472-478. <https://doi.org/10.1007/s002449910062>.
- Duarte C.A., E. Giarratano, O.A. Amin and L.I. Comoglio. 2011. Heavy metal concentrations and biomarkers of oxidative stress in native mussels (*Mytilus edulis chilensis*) from Beagle Channel coast (Tierra del Fuego, Argentina). Marine Pollution Bulletin. 62 (8), 1895-1904. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.031>.

E

- Eisler R. 1981. Trace Metal Concentrations in Marine Organisms. Pergamon Press, Oxford. 687 pages.
- Elton, C.S. 1958. The ecology of invasions by animals and plants. 1ra Edition. Methuen and Co, London. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-34721-5>.
- Etchegoyen M.A., A.E. Ronco, P. Almada, M. Abelando and D.J. Marino. 2017. Occurrence and fate of pesticides in the Argentine stretch of the Paraguay-Paraná basin. Environmental monitoring and assessment 189 (2), 63. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-5773-1>.
- Eversole A.G., K.R. Stuart and D.E. Brune. 2008. Effect of temperature and phytoplankton concentration of Partitioned Aquaculture System water on freshwater mussel filtration. Aquaculture Research. 39, 1691-1696. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02043.x>.

F

- Falfushynska H.I., L.L. Gnatyshyna, O.Y. Osadchuk, A. Farkas, A. Vehovszky, D.O. Carpenter *et al.* 2014. Diversity of the molecular responses to separate wastewater effluents in freshwater mussels. *Comparative Biochemistry and Physiology*, C. 164, 51-58. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2014.04.007>.
- Faria M., D. Huertas, D.X. Soto, J.O. Grimalt, J. Catalan, M.C. Riva and C. Barata. 2010. Contaminant accumulation and multi-biomarker responses in field collected zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) and crayfish (*Procambarus clarkii*), to evaluate toxicological effects of industrial hazardous dumps in the Ebro river (NE Spain). *Chemosphere*. 78 (3), 232-240. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.11.003>.
- Farombi E.O., O.A. Adelowo and Y.R. Ajimoko. 2007. Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African cat fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun river. *Int J Environmental Research and Public Health*. 4 (2), 158-165. <https://doi.org/10.3390/ijerph2007040011>.
- Fassiano A. 2016. Toxicodinamia del herbicida Imazetapir en *Scenedesmus vacuolatus*. Efecto de un formulado comercial, sus componentes y la mezcla con glifosato. Transferencia en una cadena trófica. Tesis de Doctorado, FCEN, Universidad de Buenos Aires. 174 págs.
- Ferrari A., C.I. Lascano, O.L. Anguiano, A.M.P. de D'Angelo and A. Venturino. 2009. Antioxidant responses to azinphos methyl and carbaryl during the embryonic development of the toad *Rhinella (Bufo) arenarum* Hensel. *Aquatic toxicology*. 93(1), 37-44. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.03.003>.
- Fichet D., G. Boucher, G. Radenac and P. Miramand. 1999. Concentration and mobilisation of Cd, Cu, Pb and Zn by meiofauna populations living in harbour sediment: their role in the heavy metal flux from sediment to food web. *Science of The Total Environment*. 243-244, 263-272. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00401-5](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00401-5).
- Forman H.J. and A.B. Fisher. 1981. Antioxidant Defenses. En: Gilbert D.L. (eds) *Oxygen and Living Processes. Topics in Environmental Physiology and Medicine*. Springer, NY. 235-249. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-5890-2_12.
- Foster-Smith R.L. 1975. The role of mucus in the mechanism of feeding in three filter-feeding bivalves. *Proceedings of the Malacological Society of London*. 41, 571-588.
- Frías-Espéricueta M.G., J.I. Osuna-López, G. Izaguirre-Fierro, M. Aguilar-Juárez y D. Voltolina. 2010. Cadmio y Plomo en organismos de importancia comercial de la zona costera de Sinaloa, México: 20 años de estudio. *CICIMAR Oceanides*. 25 (2), 121-134.

G

- Gagneten A.M., L. Regaldo, M. Álvarez, H. Agostini y A. Harte (eds.). 2021. Informe técnico-científico sobre el uso e impactos del herbicida atrazina en Argentina. 1ra ed., Programa Naciones Unidas para el Desarrollo - PNUD, Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de la Nación. ISBN 978-987-1560-92-9 1.
- Gallardo C.S. 1993. Reproductive habits and life cycle of the small clam *Kingiella chilensis* (Bivalvia: Cyamiidae) in an estuarine sand flat from South of Chile. *Marine Biology*. 115, 595-603. <https://doi.org/10.1007/BF00349367>.
- Galtsoff P.S. 1964. The American Oyster, *Crassostrea Virginica* Gmelin. Volumen 64 of the Fishery Bulletin of the Fish and Wildlife Service. U.S. Government Printing Office. 480 pages.
- Ganser A.M., T.J. Newton and R.J. Haro. 2015. Effects of elevated water temperature on physiological responses in adult freshwater mussels. *Freshwater Biology*. 60, 1705-1716. <https://doi.org/10.1111/fwb.12603>.
- Gerritsen J., A.F. Holand and D.E. Irvine. 1994. Suspension-feeding bivalves and the fate of primary production: An estuarine model applied to Chesapeake Bay. *Estuaries* 17, 403-416. <https://doi.org/10.2307/1352673>.
- Goldstein S., D. Meyerstein and G. Czapski. 1993. The Fenton reagents. *Free Radical Biology and Medicine*. 15 (4), 435-445. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(93\)90043-T](https://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90043-T).
- Grandon M., J.A. Barros y R.R. González. 2012. Caracterización metabólica de *Diplodon chilensis* (Gray, 1828) (Bivalvia: Hyriidae) expuesto a anoxia experimental. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 43(3), 531-537. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572008000300012>.
- Gümgüm B., E. Ünlü, Z. Tez and Z. Gülsün. 1994. Heavy metal pollution in water, sediment and fish from the Tigris River in Turkey. *Chemosphere*. 29 (1), 111-116. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(94\)90094-9](https://doi.org/10.1016/0045-6535(94)90094-9).

H

- Habig W.H., M.J. Pabst and W.B. Jakoby. 1974. Glutathione S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*. 249 (22), 7130-7139. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)42083-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)42083-8).
- Harikumar P.S., U.P. Nasir and M.P. Mujeebu Rahman. 2009. Distribution of heavy metals in the core sediments of a tropical wetland system. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 6, 225-232. <https://doi.org/10.1007/BF03327626>.
- Hartmann J.T., S. Beggel, K. Auerswald, B.C. Stoeckle and J. Geist. 2016. Establishing mussel behavior as a biomarker in ecotoxicology. *Aquatic Toxicology*. 170, 279-288. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.06.014>.
- Hellawell J.M. 1986. Biological Indicators. *Biological Indicators of Freshwater Pollution and Environmental Management. Part of the Pollution Monitoring Series*. 3, 45-77. https://doi.org/10.1007/978-94-009-4315-5_3.
- Helm M.M., D.L. Holland, S.D. Utting and J. East. 1991. Fatty acids composition of early non-feeding larvae of european flat oyster *Ostrea edulis* L.J. *Marine Biological Association. U.K.* 71, 675-691.
- Hermes-Lima M., C. Carreiro, D.C. Moreira, C. Polcheira, D.P. Machado and É.G. Campos. 2012. Glutathione status and antioxidant enzymes in a crocodilian species from the swamps of the Brazilian Pantanal. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*. 163(2), 189-198. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.06.006>.
- Hermida G.N. 2003. Microanatomía del sistema respiratorio en *Bufo arenarum* y *Melanophryniscus stelnzeri* (Anura, Bufonidae). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. 297 págs. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3655_Hermida.pdf.
- Hermida G.N. 2019. Histología Animal Comparada: Técnicas básicas de microscopía óptica y electrónica. Guía de Trabajos Prácticos de Curso de Postgrado. 9° Edición. Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. 56 págs.
- Hinton D.E. and D.J. Laurén. 1990. Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes. In: Adams S.M. (ed). *Biological Indicators of Stress in Fish*. Bethesda, Maryland. American Fisheries Society Symposium. 51-66.
- Hoffman D.J., B.A. Rattner, G.A. Burton Jr and J. Cairns Jr. 2002. *Handbook of ecotoxicology*. 2nd Edition. CRC press. Chapter 31. ISBN: 9780429137464.
- Homberg, M., S. Bogan, J.M. Meluso, E. Carini, T. Noya Abad y V. Bauni. 2016. Observatorio Ambiental del Delta de Tigre. Informe Técnico Final. Fundación de Historia Natural Félix de Azara. Buenos Aires, Argentina. 116 págs.
- Hünicken L.A. 2020. Invasión de *Corbicula spp.* en Argentina: distribución, variaciones morfológicas y metabolismo de un bivalvo invasor global. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires, FCEyN, Departamento EGE. 151 págs.
- Hünicken, L.A., F. Sylvester and E.M. Paolucci. 2022. Physiological and morphological assessments suggest opposite structural allocation strategies between closely related invasive clams. *Hydrobiologia*. 849, 2859-2875. <https://doi.org/10.1007/s10750-022-04906-9>.

I

- Ituarte C.F. 1994. *Corbicula* and *Neocorbicula* (Bivalvia: Corbiculidae) in the Paraná, Uruguay, and Rio de la Plata Basins. *Nautilus*, 107, 129-135.
- Ituarte C. 2009. Unusual modes of oogenesis and brooding in bivalves: the case of *Gaimardia trapesina* (Mollusca: Gaiardiidae). *Invertebrate Biology*. 128, 243-251. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7410.2009.00171.x>.

J

- Janero D.R. 1990. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Biology and Medicine*. 9 (6), 515-540. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(90\)90131-2](https://doi.org/10.1016/0891-5849(90)90131-2).

- Jing G., Y. Li, L. Xie and R. Zhang. 2006. Metal accumulation and enzyme activities in gills and digestive gland of pearl oyster (*Pinctada fucata*) exposed to copper. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, Toxicology and Pharmacology*. 144, 184-190.
- Jørgensen B.C. 1996. Bivalve filter feeding revisited. *Marine Ecology Progress Series*. 5, 291-296. <https://doi.org/10.3354/meps142287>.
- Jaynes D.B., S.I. Ahmed, K.J.S. Kung and R.S. Kanwar. 2001. Temporal dynamics for preferential flow to a subsurface drain. *Soil Science Society of America Journal*. 65, 1368-1376.

K

- Kandus P., R.D. Quintana y R.F. Bó. 2006. Patrones de paisaje y biodiversidad del Bajo Delta del Río Paraná. Pablo Casamajor Ediciones. Buenos Aires, Argentina. 48 págs. ISBN 987-22886-0-7.
- Kandus P., N. Morandeira y F. Schivo (eds). 2010. Bienes y Servicios Ecosistémicos de los Humedales del Delta del Paraná. Fundación Humedales / Wetlands International. Buenos Aires, Argentina. 32 págs. ISBN 978-987-24710-2-6.
- Kandus P., P. Minotti y M. Borro. 2011. Contribuciones al conocimiento de los humedales del Delta del Río Paraná: herramientas para la evaluación de la sustentabilidad ambiental. UNSAM Edita, 1 ed. Universidad Nacional de Gral. San Martín, Buenos Aires, Argentina. 32 págs. ISBN 978-987-1435-35-7.
- Kim H., J.H. Lee and S.J. Hwang. 2011. Inter- and intra-specific differences in filtering activities between two unionids, *Anodonta woodiana* and *Unio douglasiae*, in ambient eutrophic lake waters. *Ecological Engineering*. 37, 1957-1967. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2011.08.008>.
- Kohata K., T. Hiwatari and T. Hagiwara. 2003. Natural water-purification system observed in a shallow coastal lagoon: Matsukawa-ura, Japan. *Marine Pollution Bulletin*. 47 (1-6), 148-154. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(03\)00055-9](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(03)00055-9).
- Kovitvadhi S., U. Kovitvadhi, P. Sawangwong and J. Machado. 2008. A laboratory-scale recirculating aquaculture system for juveniles of freshwater pearl mussel *Hyriopsis (Limnoscapha) myersiana* (Lea, 1856). *Aquaculture*. 275, 169-177. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.12.029>.
- Krishnakumar P.K., E. Casillas and U. Varanasi. 1994. Effect of environmental contaminants on the health of *Mytilus edulis* from Puget Sound, Washington, USA. I. Cytochemical measures of lysosomal responses in the digestive cells using automatic image analysis. *Marine Ecology Progress Series*. 106, 249-261.

L

- Lam P.K.S and J.S. Gray. 2003. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. *Marine Pollution Bulletin*. 46 (2), 182-186. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00449-6](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00449-6).
- Lamarck J.B.M. 1819. Histoire naturelle des animaux sans vertèbres. Tome sixième, 1re partie. Paris: published by the Author. VI, 343 pp. <http://www.biodiversitylibrary.org/item/47441>.
- Landrum P.F., W.S. Dupuis and J. Kukkonen. 1994. Toxicokinetics and toxicity of sediment-associated pyrene and phenanthrene in *Diporeia* sp: examination of equilibrium-partitioning theory and residue- based effects for assessing hazard. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 13 (11), 1769-1780. <https://doi.org/10.1002/etc.5620131108>.
- Lara G., A. Contreras y F. Encina. 2002a. La almeja de agua dulce *Diplodon chilensis* (Bivalvia: Hyriidae) potencial biofiltro para disminuir los niveles de coliformes en pozos. Experimento de laboratorio. *Gayana*, 66 (2), 113-118. ISSN 0717-652X.
- Lara G., E. Parada y S. Peredo. 2002b. Alimentación y conducta alimentaria de la almeja de agua dulce *Diplodon chilensis* (Bivalvia: Hyriidae). *Gayana*. 66(2), 107-112. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382002000200004>.
- Lee T., S. Siripattawan, C.F. Ituarte and D.O. Foighil. 2005. Invasion of the clonal clams: *Corbicula* lineages in the New World. *American Malacological Bulletin*. 20, 113-122.
- Leis M. 2019. Efecto de la actividad antrópica sobre parámetros metabólicos e histológicos en el mejillón *Mytilus edulis* (Mollusca, Bivalvia) del Golfo San Matías (Río Negro). Tesis de Licenciatura, Universidad de Buenos Aires, Argentina. 87 págs.
- León V.M., R. Moreno-González, E. González, F. Martínez, V. García and J.A. Campillo. 2013. Interspecific comparison of polycyclic aromatic hydrocarbons and persistent organochlorines bioaccumulation in bivalves from a Mediterranean coastal lagoon. *The Science of the Total Environment*. 463-464, 975-987.

- Livingstone D.R. 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*. 42 (8), 656-666. ISSN 0025-326X.
- Livingstone D.R., F. Lips, P. Garcia Martinez and R.K. Pipe. 1992. Antioxidant enzymes in the digestive gland of the common mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology*. 112, 265-276. <https://doi.org/10.1007/BF00702471>.
- Loez C.R. and A. Salibian, 1990. Premières données sur le phytoplancton et les caractéristiques physico-chimiques du Río Reconquista (Buenos Aires, Argentine). Une rivière urbaine polluée. *Revue d'Hydrobiologie Tropicale*. 23 (4), 283-296. ISSN 0240-8783.
- Loez C. and M.L Topalián. 1999. Use of algae for monitoring rivers in Argentina with a special emphasis for the Reconquista river (region of Buenos Aires). In: Prygiel J., B.A. Whitton, J. Bukowska (eds.). *Use of Algae for Monitoring Rivers III*. Douai. 72-83.
- Lombardo R.J., I. O'Farrell and M. dos Santos Afonso. 2010. Spatial and Temporal Ion Dynamics on a Complex Hydrological System: The Lower Luján River (Buenos Aires, Argentina). *Aquatic Geochemistry*. 16, 293-309. <https://doi.org/10.1007/s10498-009-9064-5>.
- López Van Oosterom M.V., C.S. Ocón, F. Brancolini, M.E. Maroñas, E.D. Sendra and A. Rodrigues Capítulo. 2013. Trophic relationships between macroinvertebrates and fish in a pampean lowland stream (Argentina). *Iheringia*. 103 (1), 57-65. <https://doi.org/10.1590/S0073-47212013000100009>.
- Lurman G.J., J. Walter and H.H. Hoppeler. 2014. The effect of seasonal temperature variation on behavior and metabolism in the freshwater mussel (*Unio tumidus*). *Journal of Thermal Biology*. 43, 13-23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtherbio.2014.04.005>.
- Lushchak V.I. 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*. 101 (1), 13-30. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.10.006>.

M

- Mack R.N., D. Simberloff, W.M. Lonsdale, H. Evans, M. Clout and F.A. Bazzaz. 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications*. 10, 689-710. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2000\)010\[0689:BICEGC\]2.0.CO](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010[0689:BICEGC]2.0.CO).
- Maiztegui C.E. 2009. Actualidad del derecho ambiental argentino y su importancia para el Defensor del Pueblo de la Nación (Documento de Capacitación HCDN). Recuperado de: <http://capacitacion.hcdn.gob.ar/wp-content/uploads/09/Actualidad-del-derecho-ambiental-argentino.pdf>.
- Mansur M.C., I. Heydrich, D. Pereira, L.M. Zani Richinitti, J.C. Tarasconi y E. De Carvalho Rios. 2003. Moluscos. En: Fontana C.S., G.A. Bencke y R.E. Reis (eds). 2003. *Livro vermelho da fauna ameaçada de extinção no Rio Grande do Sul*. EDIPUCRS, Porto Alegre. 632 págs.
- Marigomez J.A., M.P. Cajaraville and E. Angulo. 1990. Histopathology of the digestive gland-gonad complex of the marine prosobranch *Littorina litorea* exposed to cadmium. *Diseases of Aquatic Organisms*. 9, 229-238.
- Marigómez I., M. Soto, M.P. Cajaraville, E. Angulo and L. Giamberine. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Microscopy Research and Technique*. 56, 358-392. <https://doi.org/10.1002/jemt.10040>.
- Marino D. and A. Ronco (2005). Cypermethrin and chlorpyrifos concentration levels in surface water bodies of the Pampa Ondulada, Argentina. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 75(4), 820-826. <https://doi.org/10.1007/s00128-005-0824-7>.
- Marker A.F.M. 1980. The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardization of methods: conclusions and recommendations. *Archiv fur Hydrobiologie Beih.* 14, 91-106.
- Mathew S. and R. Damodaran. 1997. Lipofuscin as physiological indicator of heavy metal stress in *Sunetta scripta* (yellow clam) and *Perna viridis* (green mussel). *Indian Journal Marine Science*. 26 (1), 64-67.
- Matteucci S.D. 2006. Crecimiento urbano y sus consecuencias sobre el entorno rural: El caso de la ecorregión pampeana. En: Matteucci S.D., J. Morello y G. Buzai. 2006. *Ecología de paisajes. Filosofía, conceptos y métodos*. Orientación Gráfica Editora 1ra ed., Buenos Aires. 368 págs. ISBN 978-987-9260-45-6.
- McMahon R.F. 2002. Evolutionary and physiological adaptations of aquatic invasive animals: r selection versus resistance. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 59, 1235-1244. <https://doi.org/10.1139/f02-105>.
- Minchin J.D. and R. Boelens. 2018. Natural dispersal of the introduced Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Cyrenidae) within two temperate lakes. *BioInvasions records*. Helsinki: Regional Euro-Asian Biological Invasions Centre. 7 (3), 259-268. <https://doi.org/10.3391/bir.2018.7.3.06>.

- Modesto V., M. Ilarri, A.T. Souza, M. Lopes-Lima, K. Douda, M. Clavero and R. Sousa. 2018. Fish and mussels: Importance of fish for freshwater mussel conservation. *Fish and Fisheries*. 19, 244-259. <https://doi.org/10.1111/faf.12252>.
- Monaghan P., N. Metcalfe and R. Torres. 2009. Oxidative stress as a mediator of life history. *Ecology Letters*. 12, 75-92. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01258.x>.
- Moore M.N. 1988. Cytochemical responses of the lysosomal system and NADPH-ferrihemoprotein reductase in molluscan digestive cells to environmental and experimental exposure to xenobiotics. *Marine Ecology Progress Series*. 46, 81-89.
- Moore M.N. 1990. Lysosomal cytochemistry in marine environmental monitoring. *The Histochemistry Journal*. 22 (4), 187-191.
- Morello J. y S.D. Matteucci. 2000. Singularidades territoriales y problemas ambientales de un país asimétrico y terminal. *Educación Ambiental*. 27 págs. Ecoportal.net.
- Morris T.J. and L.D. Corkum. 1999. Unionid growth patterns in rivers of differing riparian vegetation. *Freshwater Biology*. 42, 59-68. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.1999.00468.x>.
- Morton B. 1983. Feeding and digestión in Bivalvia. En: *The Mollusca*, Vol. 5 (Physiology, Part. 2). Saleuddin A.S.M. and K.M. Wilbur (eds.). Academic Press. New York, EEUU. 65-147.
- Mosto G.A. 2008. Producción Urbana. Estructura por sector de actividad. <http://www.atlasdebuenosaires>.
- Mouneyrac C., S. Linot, J.C. Amiard, C. Amiard-Triquet, I. Métais, C. Durou, C. Minier and J. Pellerin. 2008. Biological indices, energy reserves, steroid hormones and sexual maturity in the infaunal bivalve *Scrobicularia plana* from three sites differing by their level of contamination. *General and Comparative Endocrinology*. 157, 133-133. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2008.04.010>.
- Municipalidad de Tigre, Fundación Metropolitana, Universidad Tecnológica Nacional y Consultora Silvia Fajre y Asociados. 2012. II Etapa del Plan de Manejo del Delta de Tigre. Documento Base. 136 págs.

N

- Neary B., K. Cash, S. Hebert, H. Khan, K. Saffran, L. Swain and D. Williamson. 2001.. Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. CCME WATER QUALITY INDEX 1.0 Technical Report. Winnipeg. 13 p.
- Nobles T. and Y. Zhang. 2015. Survival, Growth and Condition of Freshwater Mussels: Effects of Municipal Wastewater Effluent. *PLoS ONE*. 10 (6), e0128488. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128488>.
- Nogarol L.R., A.L. Brossi-Garcia, R. Bastao de Souza and C.S. Fontanetti. 2016. Histopathological effects of the herbicide atrazine on gills of the Brazilian endemic bivalve *Diplodon expansus*. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 96 (4), 387-403. <https://doi.org/10.1080/03067319.2016.1150461>.
- Nott J.A., J. Bebiannom, J. Langstonw and K.P. Ryan. 1993. Cadmium in the gastropod *Littorina littorea*. *Journal Marine Biological Assessment*. UK. 13, 655-665.

O

- Ockelmann K.W. 1964. *Turtonia minuta* (fabricius), a neotenous veneracean bivalve. *Ophelia*. 1, 121-146. <https://doi.org/10.1080/00785326.1964.10416275>.
- O'Farrell, I. 2022. Floraciones de cianobacterias. 163-170 en Giorgi, A., E. Domínguez y N. Gómez (eds.). *Técnicas de monitoreo para ecosistemas fluviales de la Argentina*. REM_AQUA- CONICET, Buenos Aires.
- O'Farrell I., R.J. Lombardo, P. de Tezanos Pinto and C. Loez. 2002. The assessment of water quality in the Lower Luján River (Buenos Aires, Argentina): phytoplankton and algal bioassays. *Environmental Pollution* 120 (2), 207-218. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00136-7](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00136-7).
- Oldfield E. 1964. The reproduction and development of some members of the Erycinidae and Montacutidae (Mollusca, Eulamellibranchiata). *Journal of Molluscan Studies*. 36, 79-120.
- Oropesa A.L., J.J. Moreno y L.J. Gómez. 2017. Lesiones histopatológicas en peces originadas por la exposición a contaminantes emergentes: recopilando y analizando datos. *Revista Toxicología*. 34, 99-108. ISSN: 0212-7113.
- Ossana N., B. Eissa, F. Baudou, P. Castañé, S. Soloneski and L. Ferrari. 2016. Multibiomarker response in ten spotted live-bearer fish *Cnesterodon decemmaculatus* (Jenyns, 1842) exposed to Reconquista river water. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 133, 73-81. <http://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.06.046>.

- Owen G. 1978. Classification and the bivalve gill. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B. Biological Sciences. 284, 377-385. <https://doi.org/10.1098/rstb.1978.0075>.
- Owen G. 1996. Feeding. In: Wilburn K.M. and C.M. Yonge (Eds.). Physiology of Mollusca. Academic Press, New York. 2, 1-5.

P

- Padulles, M.L., P. Nannavecchia e I. O'Farrell. 2017. Impacto de la contaminación orgánica sobre el fitoplancton de un arroyo de la llanura pampeana. Ecología Austral. 27 (3), 437-448. <http://doi.org/10.25260/EA.17.27.3.0.579>.
- Páez-Osuna, F. 2005. Efectos de los metales. Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: diagnóstico y tendencias. 329-360.
- Palanaippan, M., P.H. Gleick, L. Allen, M.J. Cohen, J. Christian-Smith and C. Smith. 2017. Clearing the waters: a focus on water quality solutions, United Nations Environment Programme.
- PAN (Pesticide Action Network). 2020. Consolidated List of Banned Pesticides. <http://paninternational.org/pan-international-consolidated-list-of-banned-pesticides/>.
- Parrish R.H., D.L. Mallicoate and R.A. Klingbeil. 1986. Age dependent fecundity, number of spawnings per year, sex ratio, and maturation stages in northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fishery Bulletin. 84 (3), 503-517.
- Parrish C.C., D. Deibel and R.J. Thompson. 2009. Effect of sinking spring phytoplankton blooms on lipid content and composition in suprabenthic and benthic invertebrates in a cold ocean coastal environment. Marine Ecology Progress Series. 391, 33-51. <https://doi.org/10.3354/meps08148>.
- Peluso J. 2020. Evaluación de la calidad de cuerpos de agua pertenecientes a la cuenca baja del río Paraná mediante indicadores fisicoquímicos y toxicológicos. Tesis doctoral. Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, IIIA, UNSAM, CONICET. 240 págs.
- Peluso J., C.S. Pérez Coll and C.M. Aronzon. 2021. In situ exposure of amphibian larvae (*Rhinella fernandezae*) to assess water quality by means of oxidative stress biomarkers in water bodies with different anthropic influences. Chemosphere. 271, 129598. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129598>.
- Pérez Espejo, R. 2008. El lado oscuro de la ganadería. Problemas del desarrollo. Revista Latinoamericana de Economía. Universidad Nacional Autónoma de México. 39(154): 217-227. ISSN: 0301-7036.
- Pérez J., I. Domingues, M. Monteiro, A.M.V.M. Soares and S. Loureiro. 2013. Synergistic effects caused by atrazine and terbuthylazine on chlorpyrifos toxicity to early-life stages of the zebrafish *Danio rerio*. Environmental Science and Pollution Research. 20, 4671-4680.
- Petersen C.T., J. Holm, C.B. Koch, H.E. Jensen and S. Hansen. 2002. Movement of pendimethalin, ioxynil and soil particles to field drainage tiles. Pest Management Science. 59, 85-96.
- Phelps H.L. 1994. He asiatic clam (*Corbicula fluminea*) invasion and system-level ecological change in the Potomac River Estuary near Washington, D.C. Estuaries 17, 614-621. <https://doi.org/10.2307/1352409>.
- Pimentel D., R. Zuniga and D. Morrison. 2005. Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. Ecological Economics. 52 (3), 273-288. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2004.10.002>.
- Pinto E., T.C.S. Sigaud-Kutner, M.A.S. Leitao, O.K. Okamoto, D. Morse and P. Colepicolo. 2003. Heavy metal-induced oxidative stress in algae. Journal of Phycology. 39, 1008-1018.
- Haydée P., P. Rodríguez, S. M. Bonaventura, I. O'Farrell and I. Izaguirre. 2007. The sudestadas: a hydro-meteorological phenomenon that affects river pollution (River Luján, South America). Hydrological Sciences Journal. 52 (4), 702-712. <https://doi.org/10.1623/hysj.52.4.702>.
- Preston B.J. 2002. Indirect effects in aquatic ecotoxicology: Implications for ecological risk assessment. Environmental Management. 29, 311-323. <https://doi.org/10.1007/s00267-001-0023-1>.
- Prezant R.S. and K. Chalermwat. 1984. Flotation of the Bivalve *Corbicula fluminea* as a Means of Dispersal. Science 225, 1491-1493. <https://doi.org/10.1126/science.225.4669.1491>.

R

- Rainbow P.S. 1987. Heavy metals in barnacles. In: Southward A.J. (ed.). Barnacle Biology, Crustacean Issues 5. A.A., Balkema. 405-417.

- Rainbow P.S. 1990. Heavy metal levels in marine invertebrates. In: Furness R.W., P.S. Rainbow (eds.). Heavy Metals in the Marine Environment. CRC Press, Boca Raton, Florida. 67-79. ISBN 13:978-1-351-07315-8.
- Rainbow P.S., Z.G. Huang, S.K. Yan and B. Smith. 1993. Barnacles as biomonitors of trace metals in the coastal waters near Xiamen, China. *Asian Marine Biology*. 10, 109-121.
- Ricciardi A., F.G. Whoriskey and J.B. Rasmussen. 1997. The role of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in structuring macroinvertebrate communities on hard substrata. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 54 (11), 2596-2608. <https://doi.org/10.1139/f97-174>.
- Riglos, C., M. Abelando y C. Apartin (2010). Monitoreo de los principales afluentes del río Paraná: análisis de nutrientes. Libro de resúmenes III. Congreso Argentino SETAC. Ecotoxicología: reflexiones en el año del Bicentenario.
- Rizzo A., R. Daga, M. Arcagni, S. Perez Catán, D. Bubach, R. Sánchez, S. Ribeiro Guevara y M.A. Arribére. 2010. Concentraciones de metales pesados en distintos compartimentos de lagos andinos de Patagonia Norte. *Ecología Austral*. 20 (2), 155-171.
- Robinson W.E., M.R. Pennington and R.W. Langton. 1981. Variability of tubule types within the digestive gland of *Mercenaria mercenaria*, *Ostrea edulis* and *Mytilus edulis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 54, 265-276.
- Rocchetta I., B.J. Lomovasky, M.S. Yusseppone, S.E. Sabatini, F. Bieczynski, M.C. Ríos de Molina and C.M. Luquet. 2014a. Growth, abundance, morphometric and metabolic parameters of three populations of *Diplodon chilensis* subject to different levels of natural and anthropogenic organic matter input in a glacial lake of North Patagonia. *Limnologia*. 44, 72-80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.limno.2013.06.004>.
- Rocchetta I., M. Pasquevich, H. Heras, M. Ríos de Molina y C. Luquet. 2014b. Effects of sewage discharges on lipid and fatty acid composition of the Patagonian bivalve *Diplodon chilensis*. *Marine Pollution Bulletin*. 79, 211-219.
- Rocha T.L., S.M. Sabóia-Morais and M.J. Bebianno. 2016. Histopathological assessment and inflammatory response in the digestive gland of marine mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to cadmium-based quantum dots. *Aquatic Toxicology*. 177, 306-315. PMID: 27340787. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.06.003>.
- Rodríguez de la Rúa A., J.M. Arellano, M.L. Gonzalez de Canales, J. Blasco y C. Sarasquete. 2005. Acumulación de cobre y alteraciones histopatológicas en el Ostión *Crassostrea angulata*. *Ciencias Marinas*, 31, 455-466. <http://dx.doi.org/10.7773/cm.v31i3.39>.
- Roper D.S. and C.W. Hickey. 1994. Population structure, shell morphology, age and condition of the freshwater mussel *Hyridella menziesi* (Unionacea: Hyriidae) from seven lake and river sites in the Waikato River system. *Hydrobiology*. <https://doi.org/10.1007/BF00006690>.
- Rovedatti M., P. Castañé, M. Topalián and A. Salibián. 2001. Monitoring of organochlorine and organophosphorus pesticides in the water of the Reconquista River (Buenos Aires, Argentina). *Water Research*. 35(14), 3457-3461. [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(01\)00058-6](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(01)00058-6).
- Ruesink J.L., H.S. Lenihan, A.C. Trimble, K.W. Heiman, F. Micheli, F.E. Byers and M.C. Kay. 2005. Introduction of Non-Native Oysters: Ecosystem Effects and Restoration Implications. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 36, 643-890. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.36.102003.152638>.
- Rumi A., E. Diego, G. Gutiérrez, V. Núñez y G.A. Darrigran. 2008. Malacología Latinoamericana. Moluscos de agua dulce de Argentina. *Revista de Biología Tropical*. 56 (1). ISSN 0034-7744.

S

- Sabatini S.E. 2010. Toxicocinética de contaminantes en organismos acuáticos. Su bioacumulación, efectos y mecanismos de acción. Tesis Doctoral. FCEyN - UBA. 241 págs.
- Sabatini S.E., A.B. Juárez, M.R. Eppis, L. Bianchi, C.M. Luquet and M.C. Ríos de Molina. 2009. Oxidative stress and antioxidant defenses in two green microalgae exposed to copper. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 72 (4), 1200-1206. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.01.003>.
- Sabatini S., I. Rocchetta, C. Luquet, M. Guido and M. Ríos de Molina. 2011a. Effects of sewage pollution and bacterial load on growth and oxidative balance in the freshwater mussel *Diplodon chilensis*. *Limnologia*. 41, 356-362. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2011.04.004>.

- Sabatini S., I. Rocchetta, D. Nahabedian, C. Luquet, M. Eppis and M.C. Ríos de Molina. 2011b. Oxidative stress and histological alterations produced by dietary copper in the freshwater bivalve *Diplodon chilensis*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology. 154 (4), 391-398. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2011.07.009>.
- Sabatini S.E. y J.A. Calcagno. 2014. Los Moluscos como Bioindicadores. 193-196. En: J.A. Calcagno (coord.) Los invertebrados marinos. 1ra edición. Fundación de Historia Natural Félix de Azara y Vazquez Mazzini (ed.). Buenos Aires, Argentina. 354 págs. ISBN 978-987-3781-02-5.
- Sabatini S.E., M.D. Ruíz y J.A. Calcagno. 2016. Los indicadores de la contaminación de las aguas. Monitoreo químico y biomonitoreo. En: Publicación de Divulgación Científica de la Fundación Azara y el Departamento de Ciencias Naturales y Antropológicas de la Universidad Maimónides - N° 4. ISSN 2683-7692.
- Sar A., J.P. Martin, R. Fernandez y C. Caminos. 2018. Ciclo reproductivo y reclutamiento del mejillón *Mytilus edulis platensis* en Bahía San Julián (Santa Cruz, Argentina). Informe Científico Técnico UNPA. 10 (2), 33-51.
- Sartori A.F., F.D. Pasos and O. Domaneschi. 2006. Arenophilic mantle glands in the Laternulidae (Bivalvia: Anomalodesmata) and their evolutionary significance. Acta Zoologica. 87, 265-272. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.2006.00240.x>.
- Scarabino F. 2004. Conservación de la malacofauna Uruguaya. Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay. 8 (82-83), 267-273. ISSN: 0037-8607.
- Semenau L. y N. Brugini. 2002. Características poblacionales y ciclo de vida de *Diplodon chilensis* (d'Orbigny, 1835) (Hyriidae, Bivalvia) en el lago Gutiérrez (Patagonia, Argentina). Ecología Austral. 12 (1), 29-40.
- SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria). 2017. Prohibición de la importación, comercialización y uso de malatión. Resolución N° 2158-E/2017. Ministerio de Salud, Argentina.
- SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria). 2019. Prohibición de comercialización y uso de 2,4-D. Resolución N° 466/2019. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad, Argentina.
- Sharp J., E. Peltzer, M. Alperin, G. Cauwet, J. Farrington, B. Fry, D. Karl, J. Martin, A. Spitzky and S. Tugrul. 1993. Procedures subgroup report. Marine Chemistry. 41, 37-49.
- Simone L.R.L. 2006. Land and freshwater molluscs of Brazil. São Paulo (EGB, Fapesp). 390 pags. ISBN 85-906670-0-6.
- Simpson C.T. 1914. A descriptive catalogue of the Naiades, or pearly freshwater mussels. Privately published by Bryant Walker, Michigan. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.10910>.
- Smolders R., L. Bervoets, W. De Coen and R. Blust. 2004. Cellular energy allocation in zebra mussels exposed along a pollution gradient: linking cellular effects to higher levels of biological organization. Environmental Pollution. 129, 99-112. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2003.09.027>.
- Soldati A.L., D.E. Jacob, B.R. Schöne, M.M. Bianchi and A. Hajduk. 2009. Seasonal periodicity of growth and composition in valves of *Diplodon chilensis patagonicus* (d'Orbigny, 1835). Journal of Molluscan Studies. 75, 75-85. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyn044>.
- Soto D. and G. Mena. 1999. Filter feeding by the freshwater mussel, *Diplodon chilensis*, as a biocontrol of salmon farming eutrophication. Aquaculture. 171 (1-2), 65-81. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00420-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00420-7).
- Sousa R., L. Guilhermino and C. Antunes. 2005. Molluscan fauna in the freshwater tidal area of the River Minho estuary, NW of Iberian Peninsula. Annales de Limnologie - International Journal of Limnology. 41, 141-147. <https://doi.org/10.1051/limn/2005009>.
- Sousa R., C. Antunes and L. Guilhermino. 2008. Ecology of the invasive Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in aquatic ecosystems: an overview. Annales de Limnologie - International Journal of Limnology. 44, 85-94. <https://doi.org/10.1051/limn:2008017>.
- Sousa R., M. Rufino, M. Gaspa, C. Antunes and L. Guilhermino. 2008. - Abiotic impacts on spatial and temporal distribution of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the River Minho Estuary, Portugal. Aquatic Conservation Marine and Freshwater Ecosystems. 18, 98-110. <https://doi.org/10.1002/aqc.838>.
- Stephensen E.K., J. Sturve and L. Förlin. 2002. Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione-related enzymes in rainbow trout liver. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology. 133(3), 435-442. [https://doi.org/10.1016/s1532-0456\(02\)00129-1](https://doi.org/10.1016/s1532-0456(02)00129-1).
- Strayer D.L., J.A. Downing, W.R. Haag, T.L. King, J.B. Layzer, T.J. Newton and S.J. Nichols. 2004. Changing perspectives on pearly mussels, North America's most imperiled animals. Bioscience. 54(5), 429-439. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054\[0429:COPPMN\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054[0429:COPPMN]2.0.CO;2).

- Stuart K.R., A.G. Eversole and D.E. Brune. 2001. Filtration of Green Algae and Cyanobacteria by Freshwater Mussels in the Partitioned Aquaculture System. *Journal of the World Aquaculture Society*. 32(1), 105-111. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2001.tb00928.x>.
- Student. 1908. The Probable Error of a Mean. *Biometrika*. Oxford Journals. 6 (1), 1-25. <https://doi.org/10.2307/2331554>.
- Suárez F. y R. J. Lombardo. 2012. Las Agua del Delta. Amenaza, vulnerabilidad social y riesgo, la construcción de la demanda social. En: Agua y Territorio. Di Pace M. (coord.) y A. Barsky (ed.). UNGS-CICUS.
- Sunila I. 1987. Histopathology of mussels (*Mytilus edulis* L.) from the Tvärminne area, the Gulf of Finland (Baltic Sea). *Annales Zoologici Fennici*. 24 (1), 55-69. <https://www.jstor.org/stable/23734468>.
- Svårdh L. 2003. Tissue sampling from live blue mussels, *Mytilus edulis*. A field study from the Swedish west coast. *Journal of Sea Research*. 49 (3), 221-225. [https://doi.org/10.1016/S1385-1101\(03\)00003-0](https://doi.org/10.1016/S1385-1101(03)00003-0).

T

- Tabachnick, B.G., L.S. Fidell and J.B. Ullman. 2007. Using multivariate statistics. Pearson Boston, MA. ISBN-13: 978-0-13-479054-1.
- Terman A. and U.T. Brunk. 2004. Lipofuscin. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 36 (8), 1400-1404. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2003.08.009>.
- Timbrell J.A. and T.C. Marrs. 2009. Biotransformation of xenobiotics. General, Applied and Systems Toxicology. <https://doi.org/10.1002/9780470744307.gat004>.
- Torres S., G. Darrigran y C. Damborenea. 2013. Distribución del género *Diplodon* (Mollusca: Bivalvia: Hyriidae) en la Cuenca del Plata (Argentina) mediante el uso de Colecciones Biológicas. Número especial I: Aguas. Asociación de Universidades, Grupo Montevideo. ISSN: 1852-2181.
- Torres S., L. Cao, D.E. Gutiérrez Gregoric, M. de Lucía, F. Brea and G.A. Darrigran. 2018. Distribution of the Unionida (Bivalvia, Paleoheterodonta) from Argentina and its conservation in the southern neotropical region. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203616>.
- Tran D., A. Boudou and M.C. Masabau. 2001. How water oxygenation level influences cadmium accumulation pattern in the Asiatic clam *Corbicula fluminea*: A laboratory and field study. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20 (9), 2073-2080. <https://doi.org/10.1002/etc.5620200929>.
- Tulonen T., M. Pihlström, L. Arvola and M. Rask. 2006. Concentrations of heavy metals in food web components of small, boreal lakes. *Boreal Environment Research*. 11, 185-194. ISSN: 1239-6095.
- Turek K. 2013. Master's Theses. Paper 1863.
- Turick C.E., A.J. Sextone and G.K. Bissonnette. 1988. Freshwater mussels as monitors of bacteriological water quality. *Water, Air, and Soil Pollution*. 40, 449-460. <https://doi.org/10.1007/BF00163748>.

V

- Valdovinos C. and P. Pedreros. 2007. Geographic variations in shell growth rates of the mussel *Diplodon chilensis* from temperate lakes of Chile: Implications for biodiversity conservation. *Limnologist*. 37, 63-75. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2006.08.007>.
- Valavanidis A., T. Vlahogianni, M. Dassenakis and M. Scoullos. 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology Environmental Safety*. 64 (2), 178-189. <http://10.1016/j.ecoenv.2005.03.013>.
- Van der Oost R., J. Beyer and N.P.E. Vermeulen. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 13, 57-149. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6).
- Van Ginneken L., J.C. Mohammed and R. Blust. 1999. Bioavailability of cadmium and zinc to the common carp, *Cyprinus carpio*, in complexing environments: A test for the validity of the free ion activity model. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 18 (10), 2295-2304.
- Van Handel E. 1965. Estimation of glycogen in small amounts of tissue. *Analytical Biochemistry*. 11 (2), 256-265. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(65\)90013-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(65)90013-8).
- Vázquez Perera A.A. y A. Gutiérrez Amador. 2007. Ecología de moluscos fluviales de importancia médica y veterinaria en 3 localidades de La Habana. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 59 (2). ISSN 1561-3054.
- Velasco L.A. and J.M. Navarro. 2003. Energetic balance of infaunal (*Mulinia edulis* King, 1831) and epifaunal (*Mytilus chilensis* Hupé, 1854) bivalves in response to wide variations in concentration and quality of seston.

Journal of Experimental Marine Biology Ecology. 296 (1), 79-92. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(03\)00316-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(03)00316-2).

- Verrengia Guerrero N.R. and E.M. Kesten. 1993. Levels of heavy metals in biota from the la plata river. Environmental Toxicology and Water Quality. 8 (3), 335-344. <https://doi.org/10.1002/tox.2530080310>.

- Verlecar X.N., K.B. Jena and G.B.N. Chainy. 2007. Biochemical markers of oxidative stress in *Perna viridis* exposed to mercury and temperature. Chemico-Biological Interactions. 167 (3), 219-226. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2007.01.018>.

- Viarengo A., D. Lowe, C. Bolognesi, E. Fabbri and A. Koehler A. 2007. The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology. 146 (3), 281-300. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2007.04.011>.

- Viarengo A. and J.A. Nott. 1993. Mechanisms of heavy metal cation homeostasis in marine invertebrates. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology. 104 (3), 355-372. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(93\)90001-2](https://doi.org/10.1016/0742-8413(93)90001-2).

W

- Wächtler C., M.C.D. Mansur and T. Ritcher. 2001. Larval Types and Early Postlarval Biology in Naiads (Unionoida). En: Bauer G. and K. Wächtler (Editores) Ecology and Evolution of the Freshwater Mussels Unionoida. Ecological Studies. 145 pages. ISBN 978-3-642-56869-5.

- Walker B.H., J.M. Anderies, A.P. Kinzig and P. Ryan. 2006. Exploring Resilience in Social-Ecological Systems Through Comparative Studies and Theory Development: Introduction to the Special Issue. Ecology and Society. 11 (1), 1-5. <https://www.jstor.org/stable/26267774>.

- Waller T.R. 1980. Scanning electron microscopy of Shell and mantle in the Order Arcoidea (Mollusca: Bivalvia). Smithsonian Contributions to Zoology. 313, 1-58.

- Walsh C.J., A.H. Roy, J.W. Feminella, P.D. Cottingham, P.M. Groffman and R.P. Morgan. 2005. The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. Journal of the North American Benthological Society. 24, 706-723. <https://doi.org/10.1899/04-028.1>.

- Wang W.X., N.S. Fisher and S.M. Luoma. 1995. Assimilation of trace elements ingested by the mussel *Mytilus edulis*: effects of algal food abundance. Marine Ecology Progress Series. 129, 165-176.

- Wang W.X. and N.S. Fisher. 1996. Assimilation of trace elements and carbon by the mussel *Mytilus edulis*: effects of food composition. Limnology and Oceanography. 41 (2), 197-207.

- Ward J.E., B.A. MacDonald and P.G. Beninger. 1993. Mechanisms of suspension feeding in bivalves: Resolution of current controversies by means of endoscopy. Limnology and Oceanography. 38, 265-272. <https://doi.org/10.4319/lo.1993.38.2.0265>.

- Winston G.W. and R.T. Di Giulio. 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. Aquatic Toxicology. 19 (2), 137-161. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(91\)90033-6](https://doi.org/10.1016/0166-445X(91)90033-6).

Y

- Yalkowsky S, H Yan and P Jain. 2010. Handbook of Aqueous Solubility Data. 2ed. E-ISBN: 9780429150715.

- Yamamuro M. and I. Koike. 1994. Diel changes of nitrogen species in surface and overlying water of an estuarine lake in summer: Evidence for benthic-pelagic coupling. Association for the Sciences of Limnology and Oceanography. 39 (7), 1726-1733. <https://doi.org/10.4319/lo.1994.39.7.1726>.

- Yu, M., S. Liu, M. Wang, F. Chen and H. Tang. 2014. Mixture Toxicities of Three Pesticides Having Different Time-Toxicity Profiles. Chinese Journal of Chemistry. 32(6), 545-552. <https://doi.org/10.1002/cjoc.201400133>.

- Yusseppone M.S. 2016. Múltiples marcadores en el bivalvo de agua dulce *Diplodon chilensis* (Gray, 1828) y su potencial aplicación en la caracterización de cuerpos de agua patagónicos. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Natural, Universidad de Buenos Aires. 212 págs.

- Yusseppone M.S. V.A. Bianchi, J.M. Castro, C.M. Luquet, S.E. Sabatini, M.C. Ríos de Molina and I. Rocchetta. 2019. Long-term effects of water quality on the freshwater bivalve *Diplodon chilensis* (Unionida: Hyriidae) caged at different sites in a North Patagonian river (Argentina). Ecohydrology. 13, e2181. <https://doi.org/10.1002/ec0.2181>.

- Yusseppone M.S., V.A. Bianchi, J.M. Castro, T. Noya Abad, Y. S. Minaberry, S. E. Sabatini, C. M. Luquet; M. C. Ríos de Molina and I. Rocchetta. 2020. In situ experiment to evaluate biochemical responses in the freshwater mussel *Diplodon chilensis* under anthropogenic eutrophication conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 193, 110341. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110341>.

Z

- Zaldibar B. 1999. Kadmio eta bentzo(a)pirenoaren eragina muskuiluen liseri-zelulen lisosometako ioi metalikoen edukinean eta zelula basofilikoen kopuruan. MSc Thesis, University of the Basque Country.

- Zhang L., Q. Shen, H. Hu, S. Shao and C. Fan. 2011. Impacts of *Corbicula fluminea* on Oxygen Uptake and Nutrient Fluxes across the Sediment–Water Interface. *Water, Air, & Soil Pollution*. 220, 399-411. <https://doi.org/10.1007/s11270-011-0763-3>.

- Zelaya D.G. and C.F. Ituarte. 2009. A redefinition of *Pseudokellya pelsenner*, 1903 (Bivalvia: Cyamiidae) and the description of a new species from the Southern Ocean. *The Nautilus*. 123, 1-8.

- Zelaya D.G. and C.F. Ituarte. 2013. Two new species of *Waldo* Nicol, 1966 from sub-Antartic waters (Bivalvia: Galeommatoidea). *Marine Biology Research*. 9, 776-784. <https://doi.org/10.1080/17451000.2013.765584>.

- Zelaya D.G. y M. Güller. 2014. Bivalvia. En: J.A. Calcagno (coord.) Los invertebrados marinos. 1ra edición. Fundación de Historia Natural Félix de Azara y Vazquez Mazzini (ed.). Buenos Aires, Argentina. 354 págs. ISBN 978-987-3781-02-5.