

Análisis del impacto del vertido de efluentes urbanos sobre la malacofauna en un río de la Patagonia Austral (Santa Cruz, Argentina), a través de estudios de campo y bioensayos de laboratorio.

Analysis of the impact of urban effluent discharge on malacofauna in a river of Southern Patagonia (Santa Cruz, Argentina), through field studies and laboratory bioassays.

SANTIAGO HERNÁN TORRES^{1,2} , JUAN PABLO MARTIN², FACUNDO TEJEDOR¹, LUCÍA GÁRGANO¹ 

¹Centro de Investigaciones y Transferencia Santa Cruz (CIT Santa Cruz), CONICET-UNPA-UTN.

²Instituto de Ciencias del Ambiente, Sustentabilidad y Recursos Naturales (ICASUR), Unidad Académica San Julián, Universidad Nacional de la Patagonia Austral.

E-mail: santiagotorres87@gmail.com

RESUMEN. Los cuerpos de agua continentales suelen ser receptores de efluentes de origen antrópico, que ocasionan perturbaciones ambientales que pueden manifestarse con cambios en la composición de las comunidades biológicas. Los moluscos pueden ser considerados excelentes indicadores de la salud de los ecosistemas acuáticos, debido a la sensibilidad que presentan ante las alteraciones en el ambiente. El objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto del vertido de efluentes urbanos sobre el ensamble de moluscos en el río Chico (Santa Cruz, Argentina), a través de estudios de campo y de bioensayos en laboratorio. Se realizaron cuatro campañas de muestreo entre marzo de 2017 y marzo de 2019, en épocas con diferente caudal del río. Se establecieron seis estaciones de muestreo: dos estaciones control aguas arriba de la localidad de Gobernador Gregores y cuatro aguas abajo a distancias crecientes del centro urbano. En cada estación se midieron variables fisicoquímicas y se recolectaron cuatro muestras bentónicas utilizando una red manual tipo Surber con malla de 500 µm. Las variables ambientales y los datos de abundancia de los moluscos fueron analizados con métodos estadísticos multivariados. Además, se realizó un ensayo de toxicidad directa bajo condiciones controladas en laboratorio para evaluar el efecto sobre el crecimiento y la supervivencia de *Pectinidens diaphanus* (Lymnaeidae). Las respuestas de las especies de moluscos, en términos de distribución y abundancia, mostraron una fuerte relación con las diferentes condiciones ambientales en las estaciones de muestreo, diferenciándose de acuerdo con su grado de sensibilidad o tolerancia. Los cambios espaciales observados en la composición del ensamble de moluscos son una respuesta a la sumatoria de fuentes puntuales y difusas que aportan contaminantes al río. El bioensayo permitió evaluar aisladamente el efecto puntual del efluente cloacal de la localidad y demostrar su impacto negativo sobre la supervivencia de la especie bajo estudio.

Palabras clave: Bioensayos, impacto ambiental, Lymnaeidae, *Pectinidens diaphanus*, ríos patagónicos.

ABSTRACT. Continental water bodies are usually receivers of anthropogenic effluents, which cause environmental disturbances that can manifest with changes in the composition of biological communities. Mollusks can be considered excellent indicators of the health of aquatic ecosystems, due to their sensitivity to environmental changes. The aim of this study was to examine the impact of urban effluent discharge on mollusk assemblage in the Chico River of Santa Cruz, Argentina, through field studies and laboratory bioassays. Four separate sampling surveys were conducted between March 2017 and March 2019, in seasons with different flow regimes. Six sampling stations were designated, two reference stations upstream of Gobernador Gregores town and four downstream at increasing distances from the town. At each sampling station, physicochemical variables were measured, and four benthic samples were collected using a manual Surber net with a 500- μm mesh. The environmental variables and mollusk abundance data were analyzed using multivariate statistical methods. Additionally, a direct toxicity assessment was performed in laboratory setting to evaluate the effect on growth and survival of *Pectinidens diaphanus* (Lymnaeidae). The response of mollusk species in terms of distribution and abundance, exhibited a strong relationship with the different environmental conditions at the sampling stations, as determined by their degree of sensitivity or tolerance. The observed spatial changes in the composition of the mollusk assemblage are indicative of a response to a combination of point and diffuse sources that introduce pollutants to the river. The bioassay permitted the isolated evaluation of the punctual effect of urban sewage effluent, which was found to negatively affect the survival of the studied species.

Keywords: Bioassays, environmental impact, Lymnaeidae, *Pectinidens diaphanus*, Patagonian rivers.

INTRODUCCIÓN

Los efluentes provenientes de los sistemas cloacales, de la industria, de la actividad agropecuaria y de los sistemas de drenaje urbano, entre otros, son vertidos en los cuerpos de agua continentales, como ríos y lagos, alterando las condiciones fisicoquímicas naturales, con aumento de nutrientes, como fósforo y nitrógeno, variaciones en el pH y el aumento de la demanda de oxígeno debido al incremento de la descomposición biológica de la materia orgánica de origen antrópico (Cortelezzi *et al.*, 2015; Gust *et al.*, 2013).

El efecto de los cambios en las condiciones naturales sobre los componentes bióticos de los cuerpos de agua puede ser evaluado desde diversas perspectivas, de acuerdo con el tipo e intensidad de la perturbación (Prat *et al.*, 2009). Las perturbaciones de intensidad alta e intermedia pueden evidenciarse por las alteraciones en la composición de las comunidades biológicas, que generalmente presentan baja riqueza taxonómica y la dominancia de pocas especies tolerantes (Asueta *et al.*, 2019; Miserendino &

Pizzolón, 1999; Miserendino & Brand, 2009; Prat *et al.*, 2009; Tagliaferro *et al.*, 2019). En cambio, las perturbaciones de baja intensidad pueden no modificar la estructura de la comunidad de forma perceptible, pero sí dar lugar a cambios a nivel individual, como son las alteraciones en el comportamiento, el crecimiento, la maduración, los procesos fisiológicos o la expresión genética (Assef *et al.*, 2014; Bianco *et al.*, 2013; Miserendino *et al.*, 2020; Prat *et al.*, 2009; Thomsett Herbert *et al.*, 2018).

Los efluentes urbanos no tratados pueden generar cambios en la dinámica de nutrientes. Además, el vertido de sustancias químicas de uso cotidiano, como trazas de medicamentos, hormonas, esteroides, pesticidas, etc., pueden presentar efectos aditivos y sinérgicos capaces de producir alteraciones adversas a distintos niveles biológicos (individual, poblacional y de comunidad) (Clarke *et al.*, 2009; Goudreau *et al.*, 1993). A nivel individual, los bioensayos y particularmente los ensayos de toxicidad directa (DTA del inglés Direct Toxicity Assessment), también llamados ensayos de toxicidad total del efluente, permiten determinar la toxicidad aguda y/o crónica total de las descargas de aguas

residuales y el efecto integral de las descargas contaminantes sobre la biota (van Dam & Chapman, 2001). De esta forma, contemplan el efecto de los efluentes tal como llegan al ambiente y permiten generar estrategias de vigilancia (biomonitoreo) de la calidad del agua a partir de la respuesta de determinados organismos denominados centinela (Gust *et al.*, 2013; Sabatini *et al.*, 2011; Tallarico, 2015). Debido a la sensibilidad que presentan frente a los cambios en su entorno, los moluscos se pueden considerar excelentes indicadores de la salud de los ecosistemas en general, siendo los resultados de los bioensayos más susceptibles de extrapolación en los programas de evaluación de riesgos que los basados en taxones menos diversos y menos significativos numéricamente (Tallarico, 2015). Además, la facilidad de cría de algunas especies, principalmente de gasterópodos heterobranquios, los hacen particularmente prácticos para su utilización en estudios de toxicidad tanto aguda como crónica (Bianco *et al.*, 2013; Oehlmann & Schulte-Oehlmann, 2002).

De acuerdo con Martins & Bianchini (2011), las especies nativas son, generalmente, más sensibles a los disturbios ambientales que las especies no nativas. Es por ello que se recomienda la utilización de especies nativas en los programas de monitoreo ambiental a escala regional (Tallarico, 2015). Sin embargo, a pesar de su importante rol ecológico y su utilidad como indicadores biológicos, los moluscos nativos generalmente son menos utilizados en los programas de evaluación de riesgos ambientales que otros taxones (Tallarico, 2015). Esto es especialmente cierto en el caso de los ensayos estándar de productos químicos, en los que se tienen en cuenta las especies de otros grupos de invertebrados, como los artrópodos, principalmente insectos y crustáceos, pero también nemátodos y anélidos (Oehlmann & Schulte-Oehlmann, 2002). La incorporación de moluscos como organismos centinela podría ser una herramienta útil para mejorar la capacidad de los diferentes programas de monitoreo de calidad de aguas en la región (Bianco *et al.*, 2013). El río Chico (Santa Cruz, Argentina), es un cuerpo de agua de gran importancia para la zona centro de la provincia, donde sus aguas

son utilizadas tanto para la actividad agrícola-ganadera como también para el suministro de agua potable de la localidad de Gobernador Gregores. Además, el río actúa como receptor de los efluentes generados por la localidad, cuya planta de tratamiento de líquidos cloacales se estaría acercando al límite de su capacidad operativa y no cuenta, por otra parte, con etapas que permitan reducir eficientemente la carga de nutrientes que se vierten en el río. Este aporte, sumado al proveniente de fuentes de contaminación difusas, como la actividad agropecuaria, le proporciona al río Chico un agregado de nutrientes y materia orgánica que podrían generar problemas de eutrofización y enriquecimiento orgánico, ocasionando importantes alteraciones en el ecosistema fluvial.

Considerando la importancia del río Chico como recurso hídrico para la región y que el impacto antrópico sobre el río y sus comunidades biológicas no ha sido estudiado exhaustivamente, el objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto del vertido de efluentes sobre el ensamble de moluscos, analizando la relación entre la abundancia y la distribución de las especies y las variables ambientales. Además, se realizó un ensayo de toxicidad directa (DTA) bajo condiciones controladas en laboratorio, con el objetivo de conocer el efecto del aporte de efluentes cloacales sobre la especie de la familia Lymnaeidae, *Pectinidens diaphanus* (P. P. King, 1832). Para abordar este último objetivo, se planteó como hipótesis que la exposición a efluentes cloacales tiene efectos negativos sobre *P. diaphanus*, reduciendo su crecimiento y supervivencia. Dicha especie fue seleccionada por su abundancia en el área de estudio, su amplia distribución en la provincia de Santa Cruz, su capacidad reproductiva y por contar con antecedentes en la familia Lymnaeidae de especies que han sido incorporadas en programas de biomonitoreo (Tallarico, 2015).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El río Chico, ubicado en el centro de la provincia de Santa Cruz (Argentina), recorre 600 km desde

sus nacientes, en la confluencia de los ríos Lista y Capitán en la Sierra de las Vacas, atravesando la meseta patagónica de oeste a este hasta su desembocadura en el Océano Atlántico (Figura 1). Este río se alimenta principalmente de los deshielos, llegando a un caudal máximo de 31,34 m³/s a mediados de primavera y a un caudal mínimo de 20,4 m³/s a finales del verano (Díaz, 2019). En el curso medio del río, en el departamento Río Chico, se encuentra la localidad de Gobernador Gregores (48°46' S, 70°15' O). Dicha localidad cuenta con una población aproximada de 6000 habitantes, cuyas principales actividades económicas son la ganadería extensiva, la agricultura a pequeña y mediana escala y la actividad minera (Godoy Manríquez, 2000; INDEC, 2022). Los efluentes urbanos generados en la localidad de Gobernador Gregores son vertidos en el río Chico, previo paso por la planta de tratamiento. El tratamiento de los líquidos cloacales se realiza mediante el proceso denominado barros activados con aireación extendida. La planta está diseñada para una población de

7000 habitantes, con una dotación unitaria de desagüe cloacal de 290 L/hab.día, concentración orgánica media del afluente de 200 mg DBO/L y una concentración de sólidos suspendidos totales del afluente de 200 mg SST/L (SPSE, 2022).

Muestreos bentónicos y análisis fisicoquímicos

Se realizaron cuatro campañas de muestreo sobre el curso medio del río Chico (entre 48°45'6" S, 70°19'18" O y 48°50'8" S, 70°9'46" O) entre marzo de 2017 y marzo de 2019, en épocas del año contrastantes (marzo y noviembre) en función de la dinámica del caudal del río (Díaz, 2019). Se establecieron seis estaciones de muestreo, con dos estaciones control aguas arriba de Gobernador Gregores (estaciones 1 y 2) y cuatro estaciones aguas abajo dispuestas a distancias crecientes de la localidad (estaciones 3, 4, 5 y 6) (Figura 1). Luego del primer muestreo, la estación 5 original (5v) debió ser cambiada de ubicación, ya que en el momento de

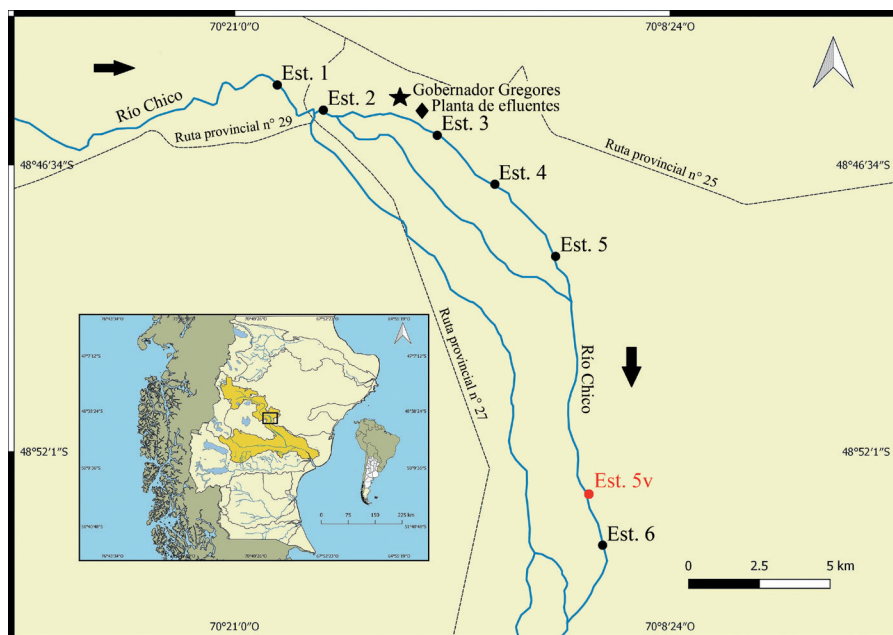


Figura 1. Área de estudio y ubicación de las estaciones de muestreo en el río Chico, provincia de Santa Cruz. Flechas negras: dirección de la corriente del río.

Figure 1. Study area and location of the sampling stations in the Chico River, Santa Cruz province. Black arrows: river stream direction.

mayor caudal (noviembre) la estación quedó inaccesible para realizar el muestreo por el elevado nivel del agua.

En cada estación se tomaron *in situ* datos de pH, temperatura, conductividad, turbidez y concentración de oxígeno disuelto en agua mediante una sonda multiparamétrica Horiba U10. Asimismo, se midió el ancho del cauce, se registró la velocidad de la corriente con un correntómetro Tecmes TS 1001 a una profundidad de entre 30 y 50 cm y se colectaron muestras de agua para análisis fisicoquímicos en laboratorio: alcalinidad (APHA 40₃); concentración de calcio (Ca⁺⁺) (APHA 311 C); concentración de fósforo total (P-total) (APHA 4500-P E); concentración de fosfatos (P-PO₄) (APHA 4500-P E); concentración de nitratos (N-NO₃) (APHA 4500-NO₃⁻ E.); concentración de nitritos (N-NO₂) (APHA 4500-NO₂⁻ B); concentración de amonio (N-NH₄) (APHA 4500-NH₃ F). Estas determinaciones se realizaron en el laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Bacteriológicos del Instituto de Limnología de La Plata (ILPLA) siguiendo los protocolos de APHA (2012) mencionados. Para determinar la concentración de sólidos totales y materia orgánica particulada en suspensión, las muestras de agua fueron filtradas utilizando filtros de fibra de vidrio de 1 µm de poro y bomba de vacío. Los filtros fueron secados en estufa a 70°C hasta peso constante y posteriormente pesados en balanza analítica. El contenido de materia orgánica fue determinado por diferencia de pesos luego de incinerar los filtros en mufla a 450°C por 6 h (Eleftheriou & McIntyre, 2005).

En cada campaña se tomaron cuatro muestras (réplicas) del macrobentos por estación (total 96 muestras) utilizando una red manual tipo Surber con boca de 30 x 50 cm y malla de 500 µm, y un marco metálico para delimitar un área de muestreo de 0,25 m² sobre el fondo (Martin *et al.*, 2014; Rivera Velasco *et al.*, 2017). Las réplicas se tomaron en una transecta paralela a la margen del curso de agua en ambientes de correderas con lecho de grava, a una profundidad de entre 30 y 50 cm. El sustrato en el interior del marco metálico fue removido con pala y en forma manual durante 2 minutos. Las muestras de

macrobentos fueron fijadas *in situ* con solución de formol al 5% y posteriormente se guardaron en alcohol al 70% para su preservación (Martin *et al.*, 2014). En el laboratorio, los moluscos fueron separados mediante lupa estereoscópica (Leica S9D), identificados y contabilizados.

Bioensayo en ambiente controlado

Para evaluar el efecto del efluente mediante bioensayos de exposición, en marzo de 2017 se recolectaron individuos y puestas de *P. diaphanus* del río Chico para su acondicionamiento y cría bajo condiciones de laboratorio. En el laboratorio, los ejemplares fueron acondicionados y criados bajo condiciones similares a las observadas en el ambiente natural (temperatura: 17,17 ± 1,77°C; pH: 7,46 ± 0,42; oxígeno disuelto: 10,30 ± 0,35 mg/L; saturación de oxígeno: > 90%; conductividad eléctrica: 157,40 ± 32,02 µS/cm). Pevio a la realización del ensayo de toxicidad directa (DTA), y con el fin de determinar la curva de crecimiento en condiciones de laboratorio, se seleccionaron 40 individuos de alrededor de una semana desde su eclosión, con un largo inicial (largo total de la concha) promedio de 1,9 mm (± 0,4). Los individuos fueron mantenidos en cuatro acuarios de plástico de aproximadamente un litro (10 ejemplares por acuario) con agua de clorada y aireación continua. El agua fue renovada dos veces por semana y los individuos fueron alimentados *ad libitum* con hojas de lechuga fresca y una vez por semana con alimento escamado balanceado Shulet® de acuerdo con las recomendaciones planteadas por la OECD (2016) para otra especie de la familia Lymnaeidae, *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758). Para confeccionar la curva de crecimiento, los individuos fueron medidos semanalmente con microscopio estereoscópico (Leica MZ6) con ocular graduado durante los primeros cinco meses y luego cada dos semanas hasta llegar al año (Figura 2).

Para la realización del ensayo de toxicidad directa se seleccionaron ejemplares criados en laboratorio de entre 4 y 5 semanas desde su eclosión, con tallas entre 4,5 y 5,6 mm, que se encontraron en el inicio de la etapa de mayor

crecimiento (Figura 2). Un total de 96 ejemplares fueron expuestos a tres tratamientos con una concentración creciente de efluente total en agua dechlorada: Control= 0%, T1= 10%, T2= 25% y T3= 50%, para evaluar el efecto sobre el crecimiento y la supervivencia. Cada tratamiento se realizó por cuadruplicado, con seis ejemplares de *P. diaphanus* por réplica. La

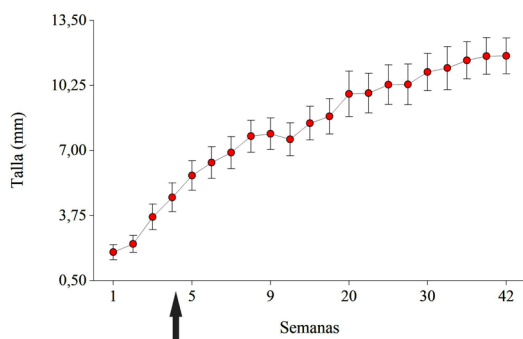


Figura 2. Curva de crecimiento de *Pectinidens diaphanus* (largo total de la concha \pm d.s.) en 42 semanas (N inicial= 40). La flecha indica la edad de los individuos elegidos para el bioensayo de toxicidad directa.

Figure 2. Growth curve of *Pectinidens diaphanus* (total shell length \pm d.s.) at 42 weeks (initial N= 40). The arrow indicates the age of the individuals chosen for the direct toxicity assessment.

muestra del efluente cloacal utilizada en cada tratamiento fue caracterizada *in situ* mediante sonda multiparamétrica (Horiba U10) (Tabla 1), y tomada directamente del emisario, en la localidad de Gobernador Gregores, antes de ser vertido al cuerpo de agua. La duración del ensayo fue de 30 días, en condiciones

semiestáticas en acuarios de plástico con un volumen de 500 ml y renovación de la solución dos veces por semana. Los caracoles fueron alimentados *ad libitum* con hojas de lechuga fresca (OECD, 2016). La temperatura ambiente fue de aproximadamente 20°C y la cantidad de horas luz entre 9 y 10 horas.

Las variables fisicoquímicas (pH, concentración de oxígeno disuelto, conductividad, sólidos disueltos totales y turbidez) de la solución de efluente se registraron mediante sonda multiparamétrica (Horiba U10) en el momento de realizar la renovación periódica en cada uno de los tratamientos (Tabla 1). La supervivencia de los caracoles fue testada dos veces por semana durante la renovación de la solución de los tratamientos y el crecimiento se calculó como la diferencia entre la talla final y la inicial al comienzo de la experiencia. Cada ejemplar fue medido con microscopio estereoscópico Leica MZ6 con ocular graduado.

Análisis estadístico

Los datos de las variables ambientales medidas fueron transformados utilizando $\log_{10}(x+1)$ y analizados utilizando análisis de componentes principales (Principal Component Analysis, PCA). Los datos de abundancia de las diferentes especies de moluscos fueron analizados mediante análisis multivariado, utilizando técnicas de agrupamiento (Hierarchical Agglomerative Clustering, HAC) y de ordenamiento no paramétrico (Multidimensional Scaling, MDS), por medio del software PRIMER versión 6.1. Los datos fueron

Tabla 1. Valores promedio de las variables medidas en la solución de efluente total para cada tratamiento (T) y para el efluente total *in situ*. T1: con 10% de efluente, T2: con 25% de efluente, T3: con 50% de efluente, ET: Efluente total *in situ*, OD: concentración de oxígeno disuelto, CE: conductividad eléctrica, SDT: sólidos disueltos totales.

Table 1. Average values of the variables measured in the total effluent solution for each treatment (T) and for the total effluent *in situ*. T1: with 10% effluent, T2: with 25% effluent, T3: with 50% effluent, ET: Total effluent *in situ*, OD: dissolved oxygen concentration, CE: electrical conductivity, SDT: total dissolved solids.

	% de efluente total	pH	OD (mg/L)	CE (μ S/cm)	SDT (mg/L)	Turbidez (UNT)
Control	0	7,46 \pm 0,42	10,30 \pm 0,35	157 \pm 32	102 \pm 21	0,50 \pm 1,00
T1	10	7,73 \pm 0,08	10,06 \pm 0,28	242 \pm 41	157 \pm 27	36,00 \pm 21,93
T2	25	7,69 \pm 0,04	9,88 \pm 0,59	363 \pm 56	236 \pm 37	16,46 \pm 1,71
T3	50	7,65 \pm 0,06	8,37 \pm 1,13	560 \pm 79	363 \pm 52	158,33 \pm 86,03
ET		9,45 \pm 0,65	5,63 \pm 1,17	1087 \pm 258	706 \pm 167	375,66 \pm 125,92

previamente transformados utilizando raíz cuadrada y posteriormente se aplicó el índice de similitud de Bray-Curtis. Para poner a prueba la hipótesis de diferencias en la composición del ensamble de moluscos entre estaciones de muestreo se utilizó el test de permutación ANOSIM. La significancia estadística de los agrupamientos entre muestras fue corroborada mediante el análisis de similitud SIMPROF y para determinar la contribución de las diferentes especies a la similitud entre muestras se aplicó la rutina SIMPER (Clarke & Warwick, 2001).

Los datos de talla inicial y final, crecimiento y supervivencia de los individuos en el bioensayo de toxicidad directa fueron comparados entre tratamientos mediante análisis ANOVA y el test *post-hoc* de Bonferroni, utilizando el paquete estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2015). La homogeneidad de varianzas fue previamente verificada utilizando la prueba de Levene y la distribución normal de los datos fue comprobada mediante el test de Shapiro-Wilks. El nivel de significancia utilizado en todos los casos fue de $\alpha=0,05$.

RESULTADOS

VARIABLES AMBIENTALES

Se midieron un total de 17 variables ambientales *in situ* y en laboratorio (Tabla 2). Los valores de fósforo total (P Total), amonio ($N-NH_4$) y conductividad alcanzaron su valor más alto en las estaciones 3 y 4 (aguas abajo de la localidad y más cercanas al punto de vertido de la planta de tratamiento de efluentes), al igual que el porcentaje de materia orgánica en suspensión. Los niveles más bajos de oxígeno disuelto se registraron en los muestreos de noviembre en las estaciones 3 y 4, mientras que los valores más altos se presentaron en las estaciones control (estaciones 1 y 2).

El análisis de componentes principales (PCA) mostró el comportamiento de las variables ambientales medidas en las diferentes estaciones de muestreo. El aumento en los valores de concentración de nutrientes, de porcentaje de materia orgánica en suspensión y de conductividad en las estaciones de

Tabla 2. Valores promedio de datos ambientales en cada estación de muestreo (E). CE: conductividad, TUR.: turbidez, OD: oxígeno disuelto, T.: temperatura, V.: velocidad de la corriente, A. Cauc.: ancho del cauce, STS: sólidos totales en suspensión, MOS: materia orgánica en suspensión.

Table 2. Average values of environmental data at each sampling station (E). CE: conductivity, TUR.: turbidity, OD: dissolved oxygen, T.: temperature, V.: current speed, A. Cauc.: channel width, STS: total solids in suspension, MOS.: organic matter in suspension.

		pH	CE ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	Tur. (UNT)	OD (mg/L)	T. ($^{\circ}\text{C}$)	V. (m/s)	A. Cauc. (m)	STS (mg/L)	MOS (mg/L)
Marzo 2017	E 1	8,37	110	180	11,77	12,33	0,53	33,00	49,20	5,80
	E 2	8,47	110	200	11,72	13,00	0,41	10,00	46,80	4,40
	E 3	7,93	150	193	11,31	10,00	0,22	11,00	33,40	6,40
	E 4	7,40	150	213	10,00	13,00	0,35	9,50	48,60	7,40
	E 5v	7,90	120	176	9,58	11,00	0,32	25,00	38,60	5,00
	E 6	7,67	120	166	9,68	11,00	0,72	53,00	43,20	4,80
Noviembre 2017	E 1	7,90	110	826	10,10	13,00	0,57	33,00	376,50	27,00
	E 2	8,03	110	913	9,96	15,00	0,49	12,00	455,00	44,00
	E 3	8,00	120	510	9,30	19,00	0,49	9,70	178,50	26,00
	E 4	7,63	130	443	8,41	17,67	0,54	10,10	134,50	17,00
	E 5	8,87	130	350	11,88	17,67	0,31	15,50	100,00	20,50
	E 6	7,77	110	990	9,68	15,00	0,80	53,00	752,00	56,00
Noviembre 2018	E 1	7,27	119	990	10,92	11,28	0,51	33,00	553,00	52,00
	E 2	7,37	126	990	10,81	12,56	0,52	9,80	508,00	53,00
	E 3	6,77	174	903	9,82	15,93	0,27	9,30	331,00	48,00
	E 4	7,43	172	660	8,19	15,44	0,57	9,10	208,00	24,00
	E 5	7,83	161	446	10,18	16,68	0,27	15,60	121,00	19,00
	E 6	8,13	136	990	10,55	14,83	0,76	53,00	526,00	38,00
Marzo 2019	E 1	7,90	134	100	11,77	9,30	0,31	30,00	11,50	8,50
	E 2	7,50	141	96	11,72	10,27	0,49	6,84	13,00	10,00
	E 3	8,00	190	116	11,31	12,00	0,20	10,76	29,00	15,50
	E 4	7,50	180	146	10,00	10,60	0,37	8,50	23,50	10,00
	E 5	8,57	163	86	9,58	7,63	0,23	14,03	18,50	10,00

Tabla 2 continuación. Valores promedio de datos ambientales en cada estación de muestreo %MO sólidos: porcentaje de materia orgánica en sólidos en suspensión, Alc.: alcalinidad, Ca: Calcio, P Tot.: Fósforo total, P-PO₄: fosfatos, N-NO₃: nitratos, N-NO₂: nitritos, N-NH₄: amonio.

Table 2 continuation. Average values of environmental data at each sampling station %MO solids: percentage of organic matter in solids in suspension, Alc.: alkalinity, Ca: Calcium, P Tot.: Total phosphorus, P-PO₄: phosphates, N-NO₃: nitrates, N-NO₂: nitrites, N-NH₄: ammonium.

		%MO sólidos	Alc. (meq/L)	Ca (mg/L)	P Tot. (mg/L)	P-PO ₄ (mg/L)	N-NO ₃ (mg/L)	N-NO ₂ (mg/L)	N-NH ₄ (mg/L)
Marzo 2017	E 1	11,79	0,97	23,58	0,08	0,01	0,111	0,002	0,074
	E 2	9,40	0,94	27,37	0,07	0,03	0,105	0,002	0,002
	E 3	19,16	0,99	31,16	0,19	0,13	0,118	0,004	1,077
	E 4	15,23	1,25	26,53	0,15	0,04	0,381	0,015	0,344
	E 5v	12,95	1,12	31,29	0,08	0,01	0,119	0,002	0,001
	E 6	11,11	1,09	25,68	0,07	0,01	0,123	0,001	0,001
Noviembre 2017	E 1	7,17	1,02	14,76	0,29	0,05	0,055	0,002	0,001
	E 2	9,67	1,06	17,36	0,31	0,03	0,017	0,005	0,001
	E 3	14,57	1,11	16,93	0,21	0,03	0,080	0,003	0,156
	E 4	12,64	1,33	22,57	0,20	0,07	0,144	0,009	0,268
	E 5	20,50	1,19	18,66	0,16	0,02	0,017	0,005	0,010
	E 6	7,45	1,07	17,79	0,46	0,04	0,027	0,001	0,007
Noviembre 2018	E 1	9,40	0,90	21,70	0,29	0,09	0,128	0,005	0,096
	E 2	10,43	0,93	22,13	0,26	0,05	0,108	0,001	0,101
	E 3	14,50	1,28	26,47	0,28	0,10	0,103	0,001	0,540
	E 4	11,54	1,27	20,40	0,20	0,11	0,093	0,006	0,491
	E 5	15,70	1,11	23,00	0,15	0,10	0,329	0,014	0,143
	E 6	7,22	0,99	22,13	0,31	0,06	0,101	0,002	0,101
Marzo 2019	E 1	11,79	1,09	18,43	0,14	0,08	0,040	0,007	0,001
	E 2	9,40	1,12	21,62	0,15	0,06	0,002	0,006	0,001
	E 3	19,16	1,33	21,66	0,54	0,18	0,307	1,020	0,239
	E 4	15,23	1,31	22,81	0,41	0,11	0,236	0,330	0,001
	E 5	12,95	1,37	22,08	0,31	0,08	0,012	0,118	0,114

muestreo 3 y 4, en el cuadrante inferior derecho del diagrama, evidencian un mayor grado de alteración del ambiente por aguas residuales, tanto en noviembre como en marzo (Figura 3). Del lado izquierdo del diagrama de PCA se ubicaron las estaciones control (estaciones 1 y 2) y la estación más alejada aguas abajo de la localidad (estación 6), donde las concentraciones de nutrientes y el porcentaje de materia orgánica en suspensión disminuyeron, mostrando mejores condiciones ambientales. En el cuadrante inferior izquierdo del PCA se ubicaron las estaciones muestreadas durante el mes de noviembre, cuando el caudal del río fue mayor, mostrando un incremento en los valores de velocidad de la corriente, turbidez y sólidos totales en suspensión.

Ensamble de moluscos

Se contabilizó un total de 3920 moluscos,

identificándose cuatro especies: los gasterópodos *Pectinidens diaphanus* (Lymnaeidae) (2248 individuos), *Chilina perrieri* Mabilie, 1884 (Chiliniidae) (1238 individuos) y "*Heleobia*" *hatcheri* (Pilsbry, 1911) (Tateidae, de acuerdo con Koch et al., 2015) (39 individuos), y el bivalvo *Musculium patagonicum* Pilsbry, 1911 (Sphaeriidae) (395 individuos). *Pectinidens diaphanus* fue la especie más abundante, alcanzando el mayor número de individuos por muestra en la estación 2 (control), tanto en marzo como en noviembre (Tabla 3). Su abundancia disminuyó bruscamente en la estación 3, ubicada aguas abajo y más cercana a la localidad, y aumentó gradualmente hacia las estaciones 4 y 5, principalmente en el mes de noviembre. *Chilina perrieri* fue la segunda especie en importancia y presentó su mayor abundancia por muestra en las estaciones 1 y 2 (control) y las estaciones 5 y 5v más alejadas de la localidad. *Musculium patagonicum* presentó su mayor abundancia en las estaciones 3 y 4,

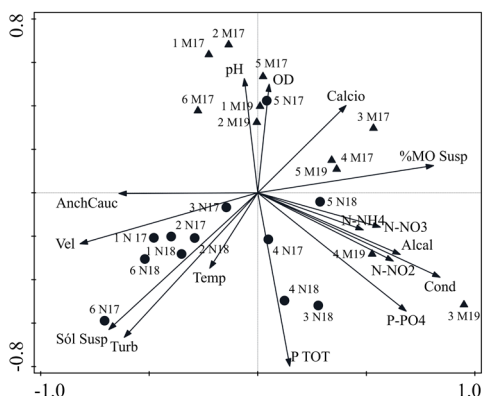


Figura 3. Análisis de componentes principales (PCA) de las variables ambientales. Triángulos: muestreos de marzo; círculos: muestreos de noviembre. M17: estaciones de muestreo marzo 2017; N17: estaciones de muestreo noviembre 2017; N18: estaciones de muestreo noviembre 2018; M19: estaciones de muestreo marzo 2019. OD: concentración de oxígeno disuelto; Cond: conductividad; Alcal: alcalinidad; AnchCauc: ancho de cauce; %MO Susp: porcentaje de materia orgánica en suspensión; Sól Susp: sólidos totales en suspensión; P TOT: fósforo total; Turb: turbidez; P-PO₄: fosfato; N-NO₂: nitritos; N-NO₃: nitratos; N-NH₄: amonio.

Figure 3. Principal component analysis (PCA) of environmental variables. Triangles: March samples; circles: November samples. M17: sampling stations March 2017; N17: sampling stations November 2017; N18: sampling stations November 2018; M19: sampling stations March 2019. OD: dissolved oxygen concentration; Cond: conductivity; Alcal: alkalinity; AnchCauc: channel width; %MO Susp: percentage of organic matter in suspension; Sól Susp: total solids in suspension; P TOT: total phosphorus; Turb: turbidity; P-PO₄: phosphate; N-NO₂: nitrites; N-NO₃: nitrates; N-NH₄: ammonium.

aguas abajo y más cercanas a la localidad (Tabla 3). Los análisis estadísticos multivariados de agrupamiento y de ordenamiento utilizando la abundancia de los moluscos permitieron identificar tres agrupamientos significativos de muestras (Figura 4, Tabla 4). El agrupamiento A, integrado por las muestras de las estaciones 1, 5v y 6, estuvo caracterizado por *C. perrieri*, que contribuyó con el 90,66% a la similitud entre las muestras de este agrupamiento; el agrupamiento B, integrado por las muestras de la estación 2, una muestra de la estación 4 y dos de la estación 5, se encontró caracterizado por *P. diaphanus*, que contribuyó con el 90,47% a la similitud entre las muestras, y el agrupamiento C, integrado por las muestras de las estaciones 3, 4 y 5, estuvo caracterizado principalmente por *M. patagonicum*, que aportó el 64,52% a la similitud entre las muestras de este agrupamiento, y en segundo término por *P. diaphanus* (Figura 4, Tabla 5). La Figura 4 muestra también la abundancia promedio por muestra de cada especie de molusco y su asociación con los diferentes agrupamientos de muestras.

Ensayo de toxicidad directa con *Pectinidens diaphanus*

Al finalizar el ensayo de toxicidad directa, la talla final de los ejemplares en el tratamiento 1 (T1) fue significativamente superior a la registrada en el Control, en el tratamiento 2

Tabla 3. Abundancia promedio (individuos/muestra) de moluscos en cada estación de muestreo (E).

Table 3. Average abundance (individuals/sample) of mollusks at each sampling station (E).

	E 1	E 2	E 3	E 4	E 5	E 5v	E 6
Marzo							
<i>Chilina perrieri</i>	69,25	48,25	0,25	0,25	0	70,25	3
<i>"Heleobia" hatcheri</i>	0,125	0,125	3,25	0	0	0,5	0
<i>Musculium patagonicum</i>	0	0	17,125	8,38	1	0	0
<i>Pectinidens diaphanus</i>	0,375	112,38	0,25	3,88	3,5	0,5	0,75
Noviembre							
<i>Chilina perrieri</i>	0,38	6,13	1,5	0,5	35,63	-	0
<i>"Heleobia" hatcheri</i>	0	0	1,13	0	0,5	-	0
<i>Musculium patagonicum</i>	0	0	11	10,5	2,13	-	0
<i>Pectinidens diaphanus</i>	0	76,25	5,25	18,13	66,38	-	0

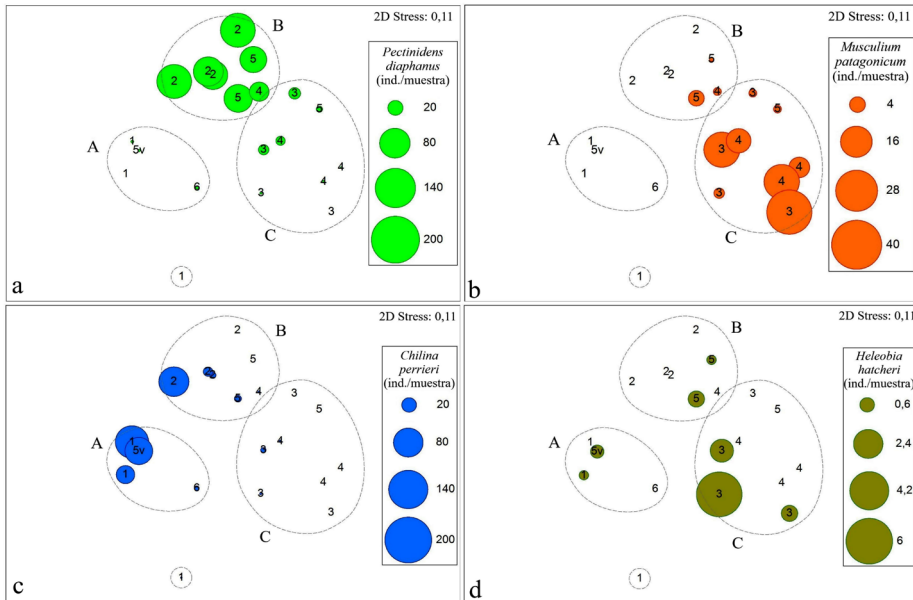


Figura 4. Análisis de Escalamiento Multidimensional (Multidimensional Scaling, MDS) y Agrupamiento jerárquico aglomerativo (Hierarchical Agglomerative Clustering, HAC) de la abundancia promedio de moluscos en cada estación de muestreo, utilizando transformación raíz cuadrada, índice de similitud de Bray-Curtis y ligamiento promedio. Los círculos indican la abundancia promedio de cada especie por muestra.

Figure 4. Multidimensional Scaling (MDS) and Hierarchical Agglomerative Clustering (HAC) analysis of the average abundance of mollusks at each sampling station, using square root transformation, Bray-Curtis similarity index, and average linkage. The circles indicate the average abundance of each species per sample.

Tabla 4. Resultados de test ANOSIM entre agrupamientos de muestras.

Table 4. ANOSIM test results between sample groups.

Test entre Agrupamientos de muestras	R Glob. = 0,798 P= 0,001	
	R	P
A vs B	0,83	0,001
A vs C	0,87	0,002
B vs C	0,79	0,001

(T2) y en el tratamiento 3 (T3), mientras que estadísticamente no se registraron diferencias entre T2, T3 y el Control (Figura 5 y Tabla 6). El crecimiento de los ejemplares en T1 ($2,13 \pm 0,59$ mm) fue significativamente superior al registrado en el Control ($0,48 \pm 0,38$ mm), en T2 ($0,78 \pm 0,1$ mm) y en T3 ($0,4 \pm 0$ mm), mientras que estadísticamente no se registraron diferencias entre T2, T3 y el Control (Tabla 6). La supervivencia fue significativamente inferior en T3 ($12,5 \pm 25\%$) con respecto al Control (100%

$\pm 0\%$), T1 ($87,5 \pm 25\%$) y T2 ($95,83 \pm 8,34\%$), los cuales no mostraron diferencias entre sí (Figura 5 y Tabla 6).

Tabla 5. Análisis SIMPER. Especies que más contribuyeron a la similitud en cada grupo de muestras. S. P.: similitud promedio en el grupo; Ab. T. P. promedio de la abundancia transformada ($\sqrt{}$); % Cont.: porcentaje de contribución a la similitud; % Acumul.: porcentaje acumulado de contribución a la similitud.

Table 5. SIMPER analysis. Species that most largely contributed to the similarity in each group of samples. S. P.: average similarity in the group; Ab. T. P.: average transformed ($\sqrt{}$) abundance; % Cont.: percentage contribution to similarity; % Acumul.: cumulative percentage of contribution to the similarity.

	Ab. T. P.	% Cont.	% Acumul.
Grupo A. S. P.: 40,53			
<i>Chilina perrieri</i>	5,20	90,66	90,66
Grupo B. S. P.: 74,13			
<i>Pectinidens diaphanus</i>	8,55	90,47	90,47
Grupo C. S. P.: 51,76			
<i>Musculium patagonicum</i>	2,97	64,52	64,52
<i>Pectinidens diaphanus</i>	1,65	30,65	95,17

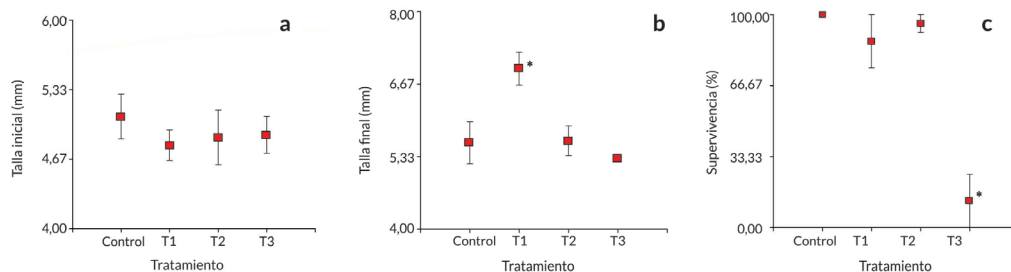


Figura 5. Comparación de las tallas iniciales y finales (largo total en mm) y supervivencia de individuos de *Pectinidens diaphanus* (media \pm d.s.) entre los diferentes tratamientos del bioensayo. Control: solución 0% de efluente, T1: tratamiento 1 con 10% de efluente, T2: tratamiento 2 con 25% de efluente, T3: tratamiento 3 con 50% de efluente. * Diferencias significativas ($p < 0,05$).

Figure 5. Comparison of the initial and final sizes (total length in mm) and survival of individuals of *Pectinidens diaphanus* (mean \pm d.s.) between the different bioassay treatments. Control: 0% effluent solution, T1: treatment 1 with 10% effluent, T2: treatment 2 with 25% effluent, T3: treatment 3 with 50% effluent. * Significant differences ($p < 0.05$).

Tabla 6. ANOVA comparando las tallas al inicio y al final del bioensayo, el crecimiento y la supervivencia entre los diferentes tratamientos. Bonf., test *post-hoc* de Bonferroni.

Table 6. ANOVA comparing the sizes at the start and at the end of the bioassay, growth and survival between the different treatments. Bonf., Bonferroni *post-hoc* test.

	F	p	Bonf.
Talla inicial	0,32	0,81	
Talla final	4,25	0,03*	T1> T2=T3=Control
Crecimiento	13,31	0,001*	T1> T2=T3=Control
Supervivencia	20,68	<0,001*	T3< T1=T2=Control

*Significancia $p < 0,05$

DISCUSIÓN

La abundancia y distribución de las especies de moluscos del río Chico mostraron una fuerte relación con las distintas condiciones ambientales en las estaciones de muestreo, diferenciándose de acuerdo con su grado de sensibilidad o tolerancia. La mayor abundancia de *Pectinidens diaphanus* se registró asociada a la estación 2 (control), con altos valores de oxígeno disuelto y bajos valores de nutrientes, conductividad y materia orgánica en suspensión. *Chilina perrieri* también alcanzó su mayor abundancia en las estaciones control con bajo

grado de alteración. A la inversa, el bivalvo *Musculium patagonicum* fue particularmente abundante en las estaciones con mayor grado de alteración ambiental, tanto en los muestreos de primavera como en los de verano, relacionadas a valores más altos de nutrientes, conductividad y materia orgánica en suspensión. Por su parte, "*Heleobia*" *hatcheri* fue el molusco de menor abundancia, encontrándose el mayor número de ejemplares en la estación de muestreo más impactada.

Los gasterópodos de la familia Lymnaeidae están ampliamente distribuidos en la provincia de Santa Cruz, siendo un componente abundante del macrobentos de diversos cuerpos de agua dulce. De acuerdo con la bibliografía disponible, esta familia es considerada de tolerancia media a alta en los principales índices de calidad biótica utilizados en Argentina (Miserendino & Pizzolón, 1999; Rodrigues Capítulo *et al.*, 2001; Fernández *et al.*, 2002; Prat *et al.*, 2009). Muchas especies de Lymnaeidae presentan plasticidad ecológica, habitando diversos cuerpos de agua como arroyos pequeños, charcas temporales, manantiales, como también grandes lagos oligotróficos y ríos de la Patagonia austral (Castellanos & Landoni, 1981; Vinarski *et al.*, 2019). La amplitud térmica en donde esta familia puede crecer y reproducirse varía entre

10 y 30°C, y tienen la capacidad de resistir temperaturas frías y períodos de sequías disminuyendo su metabolismo e hibernando (Prepelitchi *et al.*, 2011). Ciocco & Scheibler (2008) reportaron para la provincia de Mendoza que la familia Lymnaeidae se encuentra en cuerpos de agua con pH y conductividad que varían entre 6,26 y 8,22 y entre 96 y 721 $\mu\text{S}/\text{cm}$ respectivamente y, en el caso particular de la especie *Galba viator* (d'Orbigny, 1835), puede tolerar valores de conductividad de hasta 1056 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

La familia Chiliniidae es un grupo endémico de la Región Neotropical y, si bien muchas especies han sido catalogadas como sensibles a los cambios ambientales, principalmente a los relacionados con las deficiencias de oxígeno y el enriquecimiento orgánico (Gutiérrez Gregoric, 2008, 2019), en estudios realizados en el Río de la Plata (Darrigran, 1999) se señala a *Chilina fluminea* (Maton, 1809) como una de las especies más tolerantes en dicho ambiente. Para el caso de especies patagónicas, Cossi *et al.* (2015) describen que la especie *Chilina gibbosa* G. B. Sowerby I, 1838 presenta una reducida capacidad para excretar distintos contaminantes, lo que podría provocar diferentes efectos negativos sobre los individuos, aún en ambientes con moderadas a bajas concentraciones de estos. Además, de acuerdo con Ciocco & Scheibler (2008), la familia presenta baja tolerancia a los aumentos de conductividad. Los resultados obtenidos por dichos autores muestran que la especie *Chilina mendozana* Strobel, 1874 es sensible al aumento de los valores de conductividad, lo cual coincide con los resultados obtenidos en el presente trabajo para *C. perrieri*. Es por ello que diferentes especies de la familia Chiliniidae han sido propuestas como organismos centinela para medir el impacto de diversos compuestos químicos presentes en los ambientes acuáticos de la Patagonia, como insecticidas o fertilizantes de origen orgánico (Bianco *et al.*, 2013; Cossi *et al.*, 2015; Fernández San Juan *et al.*, 2020; Herbert *et al.*, 2017).

Para el caso de *H. hatcheri* y *M. patagonicum*, los resultados obtenidos en este estudio coinciden con las valoraciones de sensibilidad/tolerancia planteados en los principales índices de calidad

biótica utilizados en Argentina (Fernández *et al.*, 2002; Miserendino & Pizzolón, 1999; Prat *et al.*, 2009; Rodrigues Capítulo *et al.*, 2001), siendo clasificados como grupos taxonómicos tolerantes a las alteraciones ambientales. Sin embargo, los estudios de estos grupos se han centrado principalmente en su sistemática y patrones de distribución (Cazzaniga, 2011; de Lucía *et al.*, 2021; Fuentealba-Jara *et al.*, 2017; Ituarte, 2009, 2020; Parada *et al.*, 2009), por lo que son necesarios nuevos estudios para comparar los resultados obtenidos.

Los resultados de los ensayos realizados en el presente estudio mostraron que la exposición a baja concentración de efluente (10%) tuvo un efecto positivo sobre el crecimiento y la talla final de *P. diaphanus*, no observándose cambios significativos sobre la supervivencia con respecto al control. Esto podría deberse a un aporte extra de alimento a partir del efluente. En un estudio realizado por Watton & Hawkes (1984), los investigadores describieron que las poblaciones de *Peregriana peregra* (O. F. Müller, 1774) (= *Lymnaea peregra*), presentaron valores de abundancia y biomasa significativamente mayores en los sitios con presencia de efluentes, comparados con sitios con aguas libres de efluentes. Los autores argumentan que sus resultados pueden deberse a una mejora en la disponibilidad de alimentos producto del aumento de las algas verdes filamentosas (principal alimento de la especie) en presencia de efluentes. Sin embargo, no observaron correlación estadística entre la cantidad de algas verdes filamentosas y la abundancia de *P. peregra*. Si bien, en la experiencia de laboratorio realizada en el presente trabajo no se registró el desarrollo de algas, si se pudo observar la decantación de detritos aportados por el efluente, que podrían ser utilizados por *P. diaphanus* como fuente extra de alimento.

Clarke *et al.* (2009), en un estudio sobre reproducción y desarrollo de *Planorbarius corneus* (Linnaeus, 1758) (Planorbidae) bajo la exposición de aguas residuales, encontraron que el tamaño y el peso (tanto de conchillas como de partes blandas) de los caracoles en todos los tratamientos con dosis de efluentes eran ligeramente mayores que las de los caracoles colectados en el río, aunque

en los análisis estadísticos no encontraron diferencias significativas en sus mediciones. Sin embargo, los autores señalan que las diferencias encontradas en el crecimiento y la reproducción no parecen deberse a un aporte extra de nutrientes, sino a otras propiedades del efluente (como la incorporación de hormonas u otras sustancias que alteren el crecimiento), ya que los niveles de proteínas del manto de los caracoles expuestos a un 100% de efluente fueron aproximadamente los mismos que en los caracoles del agua del río, lo que indicaría que el efluente no tuvo un efecto nutricional positivo significativo en los caracoles utilizados en dicho estudio. La presencia de sustancias aportadas por el efluente que aceleren el crecimiento de *P. diaphanus* no puede ser descartada como causa del incremento de la talla final en el tratamiento 1 de nuestros bioensayos.

Los resultados del presente estudio mostraron que la exposición a concentraciones elevadas de efluente (50%) tuvo un efecto negativo sobre la supervivencia de los ejemplares de *P. diaphanus*, que puede estar vinculado a cambios en factores tales como el pH, la conductividad y la concentración de oxígeno disuelto o a la presencia de sustancias que a altas concentraciones podrían tener efectos nocivos para la especie en estudio. De acuerdo con Gust *et al.* (2013), los vertidos de efluentes cloacales en cuerpos de agua contribuyen no solo a los procesos de eutrofización por aumento en los niveles de nutrientes, sino que también liberan un gran número de contaminantes, como metales, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), productos farmacéuticos y de cuidado personal, así como hormonas (como el estradiol-17 y el etinilestradiol-17) que pueden afectar la salud de los organismos acuáticos. Los autores antes mencionados analizaron la respuesta inmunotoxicológica de ejemplares de *L. stagnalis* expuestos a distintas concentraciones de efluentes cloacales. De los resultados obtenidos, los autores concluyeron que la exposición al efluente tiene efectos importantes en los parámetros inmunológicos analizados, tanto a nivel celular como de expresión genética (Gust *et al.*, 2013). Argumentaron que la respuesta observada es, al menos en parte, debido al

aumento de la carga bacteriana del efluente, aunque no descartaron la posibilidad de los efectos de los xenobióticos (principalmente de los productos farmacéuticos) presentes en el efluente.

Los cambios observados en la composición del ensamble de moluscos en el área de estudio pueden ser una respuesta a la sumatoria de fuentes puntuales y difusas que aportan contaminantes al río. En este sentido, el bioensayo nos permitió aislar el efecto puntual del efluente cloacal de la localidad y demostrar que por sí solo tiene un efecto sobre *P. diaphanus*. Los bajos valores de abundancia de *P. diaphanus* en las estaciones de muestreo aguas debajo de la localidad y más próximas al sitio de vertido de efluentes cloacales en el río Chico podrían ser el resultado de las condiciones extremas de exposición al efluente durante las épocas de menor caudal del río. Sin embargo, para confirmar estos supuestos es necesario conocer los datos de caudal medio mensual del efluente vertido, para poder estimar la concentración del efluente en el ambiente natural en las épocas de menor caudal del río. Algunas especies de la familia Lymnaeidae han sido incorporadas en programas de biomonitoreo, principalmente en Europa, América del Norte y Asia (Tallarico, 2015). Una de las especies ampliamente utilizadas es *Lymnaea stagnalis*, la cual no sólo ha sido utilizada en estudios ecotoxicológicos, sino que también ha sido un organismo modelo en otros campos de investigación como la biología evolutiva, la biología del desarrollo, la genómica, las neurociencias, la parasitología y las ciencias de la salud, aportando al conocimiento y entendimiento de diversos procesos biológicos generales por más de 50 años (Fodor *et al.*, 2020). Tal es la importancia de esta especie que es el primer invertebrado acuático no artrópodo en ser reconocido como organismo modelo para evaluaciones de riesgo ambiental por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE, 2016). En América del Sur, Tallarico (2015) menciona que las especies más relevantes en estudios ecotoxicológicos de la región son *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), *B. tenagophila* (D'Orbigny, 1835), *Chilina gibbosa* y *Pomacea canaliculata*

(Lamarck, 1804). Aunque cabe destacar que diferentes especies de la familia Lymnaeidae han tenido relevancia en ensayos de laboratorio en la región, principalmente en el campo de la parasitología y la salud pública, al ser hospedadores intermediarios de parásitos que afectan la salud humana (Salomón y Rumi, 2013). Por su amplia distribución en América del Sur, los estudios sobre especies nativas de Lymnaeidae son importantes para identificar potenciales organismos modelo para el monitoreo de la calidad ambiental y para ensayos toxicológicos en general.

CONCLUSIONES

El vertido de efluentes de origen antrópico altera las condiciones fisicoquímicas del río Chico con el consecuente cambio en la composición del ensamble de moluscos. La respuesta de las diferentes especies estuvo relacionada con las distintas condiciones ambientales en las estaciones de muestreo, de acuerdo con su grado de sensibilidad o tolerancia a las alteraciones del ambiente. Los cambios espaciales observados en el ensamble de moluscos son una respuesta a la sumatoria de fuentes puntuales y difusas que aportan contaminantes al río. Mediante los ensayos realizados en este estudio se pudo conocer el efecto aislado del efluente cloacal, que altera de manera simultánea a múltiples variables ambientales del cuerpo de agua receptor, indicando que altas concentraciones del efluente disminuyen la supervivencia de *Pectinidens diaphanus*. Los resultados expuestos muestran que la especie *P. diaphanus* es un organismo adecuado para ser contemplado en el monitoreo de la calidad de aguas en la región patagónica, ya que es una especie relativamente sencilla de aclimatar a condiciones de laboratorio, con una alta capacidad reproductiva que permite hacer seguimientos de ciclos de vida bajo condiciones controladas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado con fondos del

proyecto de investigación PI 29D078 de la Universidad Nacional de la Patagonia Austral y Becas internas Doctorales del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Queremos agradecer a Jorge Donadelli del Laboratorio de microbiología del ILPLA quién realizó los análisis de agua. A los especialistas que ayudaron en la identificación del material colectado, Dra. Stella Martin, Dr. Diego Gutiérrez Gregoric y Dra. Micaela de Lucía de la División Zoología Invertebrados de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP) y al Dr. Cristián Ituarte del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia". Agradecemos a los revisores por las sugerencias realizadas que contribuyeron a mejorar la redacción del trabajo original.

REFERENCIAS

- APHA. (2012).** Standard methods for the examination of water and wastewater, 22nd edition. Washington DC: American Public Health Association.
- Assef, Y. A., Miserendino, M. L. & Horak, C. N. (2014).** The multixenobiotic resistance mechanism in species of invertebrates associated to an urban stream in the Patagonia mountain. *Water Air Soil Pollution*, 225:2164. <https://doi.org/10.1007/s11270-014-2164-x>.
- Asueta, R., Súnico, A., Martin, J. P. y Sierpe, C. (2019).** Uso de indicadores bióticos basados en macroinvertebrados bentónicos para la determinación de calidad ambiental en la cuenca superior del río Gallegos, Santa Cruz. *ICT-UNPA-197-2019*. <https://doi.org/10.22305/ict-unpa.v11i1.776>.
- Bianco, K., Yusseppone, M. S., Otero, S., Luquet, C., Ríos de Molina, M. C. & Kristoff, G. (2013).** Cholinesterases and neurotoxicity as highly sensitive biomarkers for an organophosphate insecticide in a freshwater gastropod (*Chilina gibbosa*) with low sensitivity carboxylesterases. *Aquatic Toxicology*, 144/145, 26-35. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.09.025>.
- Castellanos Z. A. & Landoni, N. (1981).** Mollusca, Gasteropoda, Lymnaeidae. Fauna de Agua Dulce de la República Argentina, PROFADU

(CONICET) Buenos Aires, 15, 53-82.

- Cazzaniga, N. J. (2011).** *Heleobia* Stimpson, 1865: Taxonomía. En: Cazzaniga, N.J. (Ed.). El género *Heleobia* (Caenogastropoda: Cochliopidae) en América del Sur. *Amici Molluscarum*, Número especial, 12-16. file:///D:/Users/Usuario/Downloads/Cazzaniga.pdf
- Ciocco, N. F. & Scheibler, E. E. (2008).** Malacofauna of the littoral benthos of a saline lake in southern Mendoza, Argentina. *Fundamental and Applied Limnology Archiv für Hydrobiologie*, 172 (2), 87-98. DOI: 10.1127/1863-9135/2008/0172-0087.
- Clarke, K. R. & Warwick, R. M. (2001).** Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. PRIMER-E, Plymouth, UK.
- Clarke, N., Routledge, E. J., Garner, A., Casey, D., Benstead, R., Walker, D., Waterman, B., Gnass, K., Thomsen, A. & Jobling, S. (2009).** Exposure to treated sewage effluent disrupts reproduction and development in the seasonally breeding ramshorn snail (Subclass: Pulmonata, *Planorbarius corneus*). *Environmental Science & Technology*, 43, 2092-2098. <https://doi.org/10.1021/es8020167>.
- Cortelezzi, A., Ocón, C., López Van Oosterom, M. V., Cepeda, R. & Rodrigues Capítulo, A. (2015).** Nutrient enrichment effect on macroinvertebrates in a lowland stream of Argentina. *Iheringia, Série Zoologia*, 105 (2), 228-234. <https://doi.org/10.1590/1678-476620151052228234>.
- Cossi, P. F., Boburg, B., Luquet, C. & Kristoff, G. (2015).** Recovery study of cholinesterases and neurotoxic signs in the non-target freshwater invertebrate *Chilina gibbosa* after an acute exposure to an environmental concentration of azinphos-methyl. *Aquatic Toxicology*, 167, 248-256. DOI: 10.1016/j.aquatox.2015.08.014.
- Darrigran, G. (1999).** Longitudinal distribution of molluscan communities in the Rio de la Plata estuary as indicators of environmental conditions. *Malacological Review, Suplemento Freshwater Mollusca*, 8, 1-12.
- de Lucía, M., Gonçalves, I. C., dos Santos, S. B., Collado, G. & Gutiérrez Gregoric, D. E. (2021).** Phylogenetic and morphological study of the genus *Potamolithus* (Truncatelloidea: Tateidae) in hotspots of diversity at the Paranaense Forest, Argentina, with the addition of six new species. *Zoologischer Anzeiger*, 292, 82-110. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2021.03.003>.
- Díaz, B. (2019).** Curva HQ y dinámica de caudales en el tramo medio del río Chico (Norte). Ensayo y ajuste de funciones HQ para la serie de datos 201 5/05 - 201 9/03 de la estación hidrométrica Gregores (BDHI 2837) - Región Hidrográfica del río Santa Cruz. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Estación Experimental Agropecuaria Santa Cruz. *Informe Técnico INTA*.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M. & Robledo, C. W. (2015).** InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- Eleftheriou, A. & A. McIntyre (Eds.). (2005).** *Methods for the study of marine benthos*. Blackwell Science, Oxford.
- Fernández, H. R.; F. Romero; M. B. Vece; V. Manzo; C. Nieto & M. Orce. (2002).** Evaluación de tres índices bióticos en un río subtropical de montaña (Tucumán, Argentina). *Limnetica*, 21(1-2), 1-13.
- Fernández San Juan, M. R., Cortelezzi, A., Albornoz, C. B., Landro, S., Arrighetti, M. F., Najlea, R. & Lavarías, S. M. L. (2020).** Toxicity of pyrethroid cypermethrin on the freshwater snail *Chilina parchappii*: Lethal and sublethal effects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 196. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110565>.
- Fodor, I., Hussein, A. A. A., Benjamin, P. R., Koene, J. M. & Pinger, Z. (2020).** The natural history of model organisms: The unlimited potential of the great pond snail, *Lymnaea stagnalis*. *eLife*, 9:e56962. <https://doi.org/10.7554/eLife.56962>.
- Fuentealba-Jara, C., D'Elia, G., González, F. y Franco-Jaccard, C. (2017).** Reconstrucción filogenética de Sphaeriidae (Veneroidea: Bivalvia) y la posición filogenética de *Pisidium chilense*. *Hidrobiológica*, 27(1), 115-117.
- Godoy Manríquez, C. J. (Dir.). (2000).** *El gran libro de la Provincia de Santa Cruz*. Buenos Aires:

Milenio Ediciones y Alfa Centro Literario.

Iheringia. *Série Zoologia*, 105, 69-75.

- Goudreau, S. E., Neves, R. J. & Sheehan, R. J. (1993).** Effects of wastewater treatment plant effluents on freshwater mollusk in the upper Clinch River, Virginia, USA. *Hydrobiologia*, 252, 221-230.
- Gust, M., Fortier, M., Garric, J., Fournier, M. & Gagné, F. (2013).** Immunotoxicity of surface waters contaminated by municipal effluents to the snail *Lymnaea stagnalis*. *Aquatic Toxicology*, 126, 393-403. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.09.001>.
- Gutiérrez Gregoric D. E. (2008).** Estudios morfo anatómicos y tendencias poblacionales en especies de la familia Chiliniidae Dall, 1870 (Mollusca: Gastropoda) en la Cuenca del Plata. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP).
- Gutiérrez Gregoric D. E. (2019).** Chiliniidae. En: Lydeard, C., Cummings, K S. (Editors). *Atlas of the Global Distribution of the Freshwater Mollusks of the World* (Pp. 150-154). Johns Hopkins University Press. ISBN: 9781421427317.
- Herbert, L., Castro, J., Bianchi, V., Cossi, P., Luquet, C. & Kristoff, G. (2017).** Effects of azinphos-methyl on enzymatic activity and cellular immune response in the haemolymph of the freshwater snail *Chilina gibbosa*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 150, 71-77.
- INDEC (Instituto Nacional de Estadística y Censos de la República Argentina) (2022).** https://www.censo.gob.ar/index.php/datos_provisionales/ (Fecha de acceso: 20-02-2023).
- Ituarte C. F. (2009).** Mollusca: Bivalvia. En: Domínguez, E, y Fernández, H. (Eds.). *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos: Sistemática y biología* (Pp. 567-594). Tucumán, Fundación Miguel Lillo.
- Ituarte, C. F. (2020).** *Phylum Mollusca*, Bivalvia, Venerida. En: Damborenea, Rogers & Thorp (Eds), *Keys to Neotropical and Antarctic Fauna, Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates - Volume V* (Pp. 392-408). Academic Press.
- Koch, E., Martin, S. M., & Ciocco, N. F. (2015).** A molecular contribution to the controversial taxonomical status of some freshwater snails (Caenogastropoda: Rissosoidea, Cochliopidae) from the Central Andes desert to Patagonia.
- Martin, J. P., Sar, A., Fernández, R., Caminos, C., Pereyra Ginestar, B., Moscardi, C. & Gaspari, G. (2014).** Diversidad de macroinvertebrados bentónicos y aplicación de índices bióticos de calidad ambiental en el Río Santa Cruz (Patagonia austral, Argentina). *Memorias del II Congreso Internacional de Hidrología de Llanuras*, 1-10.
- Martins, S. E. & Bianchini, A. (2011).** Toxicity tests aiming to protect Brazilian aquatic systems: Current status and implications for management. *Journal of Environmental Monitoring*, 13, 1866-1875.
- Miserendino, M. L. & Pizzolón, L. (1999).** Rapid assessment of river water quality using macroinvertebrates: a family level biotic index for the Patagonic Andean zone. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 11, 137-148.
- Miserendino, M. L. & Brand C. (2009).** Environmental effects of urbanization on streams and rivers in Patagonia (Argentina): the use of macroinvertebrates. En: Daniels J.A. (ed.). *Monitoring Advances in Environmental Research*, Volume 6 (Pp. 1-38). Nova Science Publishers, Inc.
- Miserendino, M. L., Epele, L. B., Brand, C. y Manzo, L. M. (2020).** Los indicadores biológicos en la Patagonia. Calidad de agua e integridad ecológica: una mirada desde arroyos a mallines. En: Domínguez, E., Giorgi, A., Gómez, N. (Eds.). *La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de Argentina. Bases para el análisis de la Integridad Ecológica* (Pp. 148-155). Buenos Aires. EUDEBA.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). (2016).** Test No. 243: *Lymnaea Stagnalis* Reproduction Test, OECD Guidelines for The Testing of Chemicals. OECD Publishing.
- Oehlmann, J. & Schulte-Oehlmann, U. (2002).** Molluscs as bioindicators. En: Markert, B. A., Breure, A. M., Zechmeister, H. G. (Eds). *Bioindicators and biomonitors* (Pp. 577-635). Elsevier Science B.V.
- Parada, E., Peredo, S. & Jara-Senguel, P. (2009).** Registro actual de especies del género *Musculium* Link, 1807 (Bivalvia: Sphaeriidae) en Chile con notas sobre morfología y biometría

de sus poblaciones. *Gayana*, 73 (1), 49-56.

Prat, N., Ríos, B., Acosta, R. y Rieradevall, M. (2009). Los macroinvertebrados como indicadores de calidad de las aguas. En: Domínguez, E. y Fernández, H (Eds.). *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos: Sistemática y biología* (Pp. 631-654). Tucumán. Fundación Miguel Lillo.

Prepelitchi, L., Pietrokovsky, S., Kleiman, F., Rubel, D., Issia, L., Moriena, R., Racioppi, O., Álvarez, J. & Wisnivesky-Colli, C. (2011). Population Structure and Dynamics of *Lymnaea columella* (Say, 1817) (Gastropoda: Lymnaeidae) in Wetlands of Northeastern Argentina. *Zoological Studies*, 50 (2), 164-176.

Rivera Velasco, S., Torres, S., Martin, J. P. & Tello, G. (2017). Caracterización de la comunidad de macroinvertebrados bentónicos en un sector del sudoeste de Santa Cruz, Patagonia Austral, Argentina. *Libro de trabajos completos III Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología Ambiental*, 73-78. <https://doi.org/10.24850/jtyca-2017-06-05>.

Rodriguez Capítulo, A., Tangorra, M. & Ocón, C. (2001). Use of benthic macroinvertebrates to assess the biological status of Pampean streams in Argentina. *Aquatic Ecology*, 35 (2), 109-119.

Sabatini, S. E., Rocchetta, I., Luquet, C. M., Guido, M. I. & Ríos de Molina, M. C. (2011). 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>.

Salomón, O. D. y Rumi, A. (2013). *Moluscos de interés sanitario en la Argentina. Puerto Iguazú: INMeT.*

SPSE (Servicios Públicos Sociedad del Estado). (2022). Memoria descriptiva proyecto de la planta de tratamiento de líquidos cloacales localidad: Gobernador Gregores, Provincia de Santa Cruz.

Tagliaferro, M., Giorgi, A., Torremorell, A. & Albariño, R. (2019). Urbanisation reduces litter breakdown rates and affects benthic invertebrate structure in Pampean streams. *International Review of Hydrobiology*, 105 (1-2), 33-43. <https://doi.org/10.1002/iroh.201902000>.

Tallarico, L. F. (2015). Freshwater gastropods as a tool for ecotoxicology assessments in Latin America. *American Malacological Bulletin*, 33 (2), 1-7. <https://doi.org/10.4003/006.033.0220>.

Thomsett Herbert, L., Castroc, J. M., Bianchi, V. A., Cossi P., Luquet, C. M. & Kristoff, G. (2018). Effects of azinphos-methyl on enzymatic activity and cellular immune response in the hemolymph of the freshwater snail *Chilina gibbosa*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 150, 71-77. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.07.005>.

van Dam, R. A. & Chapman, J. C. (2001). Direct toxicity assessment (DTA) for water quality guidelines in Australia and New Zealand. *Australasian Journal of Ecotoxicology*, 7, 175-198.

Vinarski, M.V., Clewing, C. & Albrecht, C. (2019). Lymnaeidae. En: Lydeard, C., Cummings, K S. (Editors). *Atlas of the Global Distribution of the Freshwater Mollusks of the World*. Johns Hopkins University Press, 158-162. ISBN: 9781421427317.

Watton A. J. & Hawkes, H. A. (1984). Studies on the effects of sewage effluent on gastropod populations in experimental streams. *Water research*, 18 (10), 235-247.