

TRANSFERENCIA DE METALES Y METALOIDES A TRAVÉS DE LA CADENA TRÓFICA Y SU ACUMULACIÓN EN ORGANISMOS DESTINADOS A CONSUMO HUMANO. ESTUDIOS DE FITORREMEDIACIÓN

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Químicas

Lic. Julieta Griboff



I C Y T A C

**Universidad Nacional de Córdoba
Facultad Ciencias Químicas
Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba
ICYTAC – CONICET
2018**

Directora de Tesis:

Dra. Magdalena V. Monferrán

Comisión Evaluadora:

Dra. Alicia Fernández Cirelli

Dra. Beatriz Toselli

Dr. Daniel A. Wunderlin

Dr. Martín Theumer

AGRADECIMIENTOS

Nunca fui buena con las palabras, pero aprovecho este medio para contarles lo agradecida que estoy con todos los que me apoyaron y formaron parte de este camino. El doctorado fue una experiencia hermosa, que se me pasó muy rápido; tuvo cosas de todos los colores, y los que hoy están presentes sumaron para que suceda así.

Gracias Magda!! gracias, gracias y más gracias, por brindarme herramientas y oportunidades de crecimiento desde el primer día. Gracias por respetar mis tiempos, por ayudarme a crecer y por estar siempre si te necesito. Por transmitirme tu forma de ver las cosas y por tu practicidad, por hacerme dar cuenta que no todo es tan terrible y que de alguna forma se va a solucionar y DAR ALGO LINDO Y NOVEDOSO jaja!!!

Gracias Daniel! por abrirme puertas, aportar nuevas ideas y alentarme a salir al mundo!

Gracias chicos del Instituto!!! Gracias Mari, Joa, Pablo, Romi, Vero, Pao, Nati y Sil, por toooodos los momentos compartidos! los desayunos de los viernes, los mates amargos y chukereados, los almuerzos con temas candentes, las charlas de la vida y hasta por los días de limpieza y orden que fueron divertidos jaja! Siempre poniéndole onda!! Y Mari... cómo te extrañé este tiempo que estuviste lejos!!! nuestras charlas, consejos facultativos, de diseño, de viajes jaja. Siempre sabes como seguir adelante y hacerme sentir que puedo! Gracias!!

Gracias a tooooda la gente de Bromato, por recibirme siempre de la mejor manera, con un mate de por medio y algún consejo!!!

A las chicas de Walter (Cande y Lau) y a Walter, un grupaso, como los quiero!!! Por más recibidas de títulos juntos, por más martes de juntadas, viajes y vida compartida. Agradezco haberme cambiado de comisión con ustedes para conocerlos y formar parte de sus vidas. Son muy importantes para mi!!! Gracias por haber estado en esta etapa y aguantado que todas las veces que nos veíamos se hablara de "la tesis".

A mi familia, que sin saber muy bien que es esto del Doctorado, de leche, peces y camarones, me bancan con mis nervios y ansiedades. Gracias por apoyarme en mis elecciones y estar cuando los necesito. A mi abuela...

A Guille, por haberse bancado fines de semana de tesis, de carátulas que no me convencían y diseñar un domingo a las 9 de la noche, entre otras jaja. Gracias por ser mi compañero de vida. Gracias por tu apoyo, por siempre decirme "te falta un poquito más y ya estás, aguantá"; esta etapa fue mucho más amena gracias a tu apoyo.

A mis amigas de la vida, que con un mensajito o una cena para cortar la semana, ya son mi cable a tierra.

Gracias a todos por haber sido parte de esta etapa!!

PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

- Griboff, J., Wunderlin, D. A., Monferran, M. V. (2017). Metals, As and Se determination by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in edible fish collected from three eutrophic reservoirs. Their consumption represents a risk for human health?. *Microchemical Journal* 130, 236-244.
- Griboff, J., Horacek, M., Wunderlin, D. A., Monferran, M. V. (2018). Bioaccumulation and trophic transfer of metals, As and Se through a freshwater food web affected by anthropic pollution in Córdoba, Argentina. *Ecotoxicology and environmental safety* 148, 275-284.
- Griboff, J., Wunderlin, D. A., Monferran, M. V. (2018). Phytofiltration of As³⁺, As⁵⁺ and Hg by the aquatic macrophyte *Potamogeton pusillus* L, and its potential use in the treatment of wastewater. *International Journal of Phytoremediation*. En prensa. DOI: 10.1080/15226514.2018.1448360.

ÍNDICE

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	i
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT	v
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
OBJETIVOS	11
CAPÍTULO 1: SISTEMA TERRESTRE.....	13
1.1 INTRODUCCIÓN	15
1.1.1 La lechería Argentina	15
1.1.2 Transferencia de metales y metaloides en el agroecosistema	15
1.1.3 Determinación del origen geográfico de la leche.....	16
1.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
1.2.1 Área de estudio	19
1.2.2 Recolección y procesado de las muestras	22
1.2.3 Determinación multielemental	24
1.2.4. Determinación de isótopos estables de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$).....	25
1.2.5. Análisis estadístico.....	25
1.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
1.3.1 Muestras de agua de bebida animal	27
1.3.2 Muestras de suelo	32
1.3.3 Muestras de forraje	36
1.3.4 Muestras de leche	40
1.3.5 Composición isotópica de las muestras.....	45
1.3.6 Análisis de correlaciones entre matrices.....	51
1.3.7 Diferenciación de muestras según su origen geográfico	53
1.4 CONCLUSIONES.....	61
CAPÍTULO 2: SISTEMA ACUÁTICO.....	63
2.1 INTRODUCCIÓN.....	65
2.1.1 Dinámica de metales y metaloides en los ecosistemas acuáticos.....	65

2.1.2	Uso de isótopos estables en ecología trófica de organismos acuáticos	66
2.1.3	Organismos en estudio	67
2.1.4	Descripción del área de estudio	68
2.2	MATERIALES Y MÉTODOS	73
2.2.1	Área de estudio	73
2.2.2	Recolección y procesado de muestras	73
2.2.2.1	Muestras de origen abiótico	75
2.2.2.2	Muestras de origen biótico	76
2.2.3	Determinación multielemental	76
2.2.4	Determinación de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$	77
2.2.5	Índice de riesgo ecológico	77
2.2.6	Factor de Bioacumulación (FBA)	78
2.2.7	Evaluación de riesgo para la salud humana por consumo de Pejerrey	78
2.2.7.1	Estimación del consumo diario de EI_2	79
2.2.7.2	Cociente de peligro objetivo (CPO)	79
2.2.7.3	Riesgo de cáncer (RC) causado por As	80
2.2.7.4	Tasa máxima de consumo mensual (TMCM)	81
2.2.8	Análisis estadístico	81
2.3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	82
2.3.1	Caracterización físico-química de las muestras de agua	82
2.3.2	Concentración multielemental en matrices abióticas	83
2.3.3	Concentración multielemental en matrices bióticas	93
2.3.3.1	Análisis de muestras de plancton	93
2.3.3.2	Análisis de muestras de camarón	97
2.3.3.3	Análisis de muestras de músculo de pejerrey	100
2.3.4	Bioacumulación de los elementos estudiados	109
2.3.5	Composición isotópica de las muestras analizadas	113
2.3.6	Relación entre las concentraciones de elementos inorgánicos y $\delta^{15}\text{N}$	119
2.3.7	Evaluación de riesgo para la salud	124

2.4. CONCLUSIONES.....	130
CAPÍTULO 3: ENSAYOS DE FITORREMEDIACIÓN.....	133
3.1 INTRODUCCIÓN.....	135
3.1.1 Caracterización del metaloide As.....	135
3.1.2 Caracterización del metal Hg	137
3.1.3 Estrategias de fitorremediación: Fitofiltración.....	138
3.1.4 Organismo de estudio: <i>Potamogeton pusillus</i>	139
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	140
3.2.1 Recolección y aclimatación de los organismos.....	140
3.2.2 Bioensayos para evaluar acumulación	140
3.2.3 Bioensayos para evaluar distribución.....	142
3.2.4 Bioensayos para evaluar toxicidad.....	142
3.2.5 Procesamiento de aguas de exposición.....	142
3.2.6 Procesamiento del material biológico.....	143
3.2.7 Determinación de As y Hg en muestras de agua y plantas	143
3.2.8 Análisis de clorofila-a	143
3.2.9 Análisis de proteínas.....	143
3.2.10 Estadística.....	144
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	145
3.3.1 Remoción de As y Hg de soluciones acuosas.....	145
3.3.2 Acumulación de As y Hg en <i>P. pusillus</i>	147
3.3.3 Factor de bioconcentración.....	150
3.3.4 Distribución de As y Hg en tejidos vegetales.....	151
3.3.5 Impacto de la exposición de Hg y As en parámetros bioquímicos de <i>P. pusillus</i>	153
3.4 CONCLUSIONES.....	158
CONCLUSIONES FINALES.....	159
BIBLIOGRAFÍA	165
ANEXO I	191
ANEXO II.....	215

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

$\delta^{13}C$: Relación isotópica $^{13}C/^{12}C$.

$\delta^{15}N$: Relación isotópica $^{15}N/^{14}N$.

A: Alfalfa.

A y S: Alfalfa y sorgo.

A1: Fracción móvil de metales y metaloides en sedimentos.

A2: Fracción movilizable de metales y metaloides en sedimentos.

A3: Fracción residual de metales y metaloides en sedimentos.

ACC: Análisis de Correlaciones Canónicas.

ACP: Análisis de Componentes Principales.

AD: Análisis Discriminante.

ANOVA: Análisis de la varianza.

APG: Análisis de Procrustes Generalizado.

CANDU: Canada Deuterium Uranium.

CBA-NE: Córdoba noreste.

CBA-SUR: Córdoba sur.

C_F: Concentración final.

C_I: Concentración inicial.

Cl-a: Clorofila-a.

CP: Componente Principal.

CPO: Cociente de Peligro Objetivo.

E_i: Nivel de riesgo ecológico asociado a un elemento.

EH: Estación Húmeda.

ERT: Embalse de Río Tercero.

ES: Estación Seca.

ExS: Expeller de soja.

FBA: Factor de Bioacumulación.

FBC: Factor de Bioconcentración.

ICP-MS: Espectrómetro de Masas Acoplado a Plasma Inductivo.

IDP: Ingesta Diaria Promedio.

IDR: Ingesta Diaria Recomendada.

IR: Índice de Riesgo ecológico potencial.

IRMS: Espectrómetro de Masas de Relación Isotópica.

LD: Límite de Detección.

LLM: Lago Los Molinos.

LQ: Límite de Cuantificación.

LSR: Lago San Roque.

M: Maíz.

MP: Maíz picado.

MP+ExS: Maíz picado+expeller de soja.

MP+PT: Maíz picado+pellet de trigo.

MP+PT+Ad: Maíz picado+pellet de trigo+aditivos.

ND: No Determinado.

OD: Oxígeno Disuelto.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PE: Pescadores.

PG: Población General.

Ps: Peso seco.

RC: Riesgo de Cáncer.

RSA: Residuo Sólido en Agua.

RuBisCo: Ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa.

S: Sorgo.

SA: Semilla de algodón.

SSRHN: Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación.

T: Trigo.

T X: Tambo X (X= 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8).

TMCM: Tasa Máxima de Consumo Mensual.

UE: Unión Europea.

USEPA: Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos.

Los metales y metaloides se encuentran entre los principales contaminantes debido a su fácil transporte, su persistencia en el ambiente, su capacidad de bioacumulación y su alta toxicidad (Chen *et al.*, 2011). La transferencia trófica es un mecanismo importante para la acumulación de estos elementos en organismos de eslabones superiores de la cadena alimentaria, y es una de las principales vías por las cuales los seres humanos están expuestos a tóxicos ambientales (Walton *et al.*, 2010).

En este contexto, esta tesis se planteó dos objetivos: a) avanzar en el estudio de la relación que existe entre el ambiente, sus contaminantes y los alimentos que en él se producen, buscando marcadores químicos que permitan distinguir alimentos procedentes de áreas con distinto grado y tipo de contaminación; b) estudiar estrategias de fitorremediación para reducir o eliminar desde el ambiente elementos inorgánicos potencialmente tóxicos para humanos.

Para cumplir el objetivo a), se estudiaron sistemas terrestres, incluyendo tambos situados en las provincias de Córdoba, Santa Fe y Catamarca, donde se tomaron muestras de agua de bebida animal, suelo, forraje y leche. Por otra parte, se evaluaron sistemas acuáticos, incluyendo los tres cuerpos de agua más importantes de la provincia de Córdoba: Lago San Roque, Lago Los Molinos y Embalse de Río Tercero. En cada uno de ellos se tomaron muestras de agua, sedimento, plancton, camarón (*Palaemonetes argentinus*) y pejerrey (*Odontesthes bonariensis*). Las muestras obtenidas en ambos sistemas fueron procesadas para la determinación del perfil inorgánico multielemental y de isótopos estables de carbono y nitrógeno ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$).

Se identificaron diferencias significativas en el contenido de elementos inorgánicos y de la composición isotópica en muestras de agua, suelo, forraje y leche, entre los distintos tambos. Los elementos B, Mo, V y Zn superaron los niveles establecidos para calidad de agua de bebida animal según la legislación disponible. Por otro lado, B superó el valor guía establecido para calidad de suelo de uso agrícola. En ciertas muestras de forraje (maíz y alfalfa), el Hg superó los máximos establecidos para alimentos destinados a consumo animal. No obstante, elementos como As, Cd y Pb no excedieron los niveles permitidos en leche según la legislación vigente.

A su vez, se encontraron diferencias significativas en la concentración de elementos e isótopos estables entre los organismos, lagos y estaciones evaluados. Se observó que la mayoría de los elementos cuantificados se bioacumularon en los organismos estudiados, especialmente en el plancton. Además, el Hg mostró biomagnificación a través de la cadena trófica del Lago Los Molinos, mientras que Al, Cd, Co, Cr, Fe, Li, Mn, Ni, Se y V, mostraron un patrón general de biodilución en los tres lagos estudiados. Este estudio permitió detectar potenciales riesgos para la salud humana a través del consumo de pejerrey, debido al elevado contenido de Hg y As presente en su músculo. Resultó interesante observar que en el Lago San Roque se encontraron los niveles más altos de $\delta^{15}\text{N}$ en todas las matrices analizadas, lo que indicaría que este lago tiene la mayor influencia de aguas residuales en su ecología.

En su conjunto, los resultados obtenidos para el objetivo a) demuestran que la medición de metales y metaloides, sumado al uso de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, son herramientas útiles para diferenciar distintos entornos geográficos (trazabilidad) y fuentes de contaminación antrópica (seguridad alimentaria). En este sentido, las diferencias ambientales se vieron reflejadas en la composición del producto final (pez y leche), permitiéndonos asociarlas con la procedencia y/o la contaminación propia del área donde se produjo el alimento.

Para cumplir con el objetivo b), se evaluó la capacidad de acumulación total y diferencial (raíz, tallo y hojas) de As^{+3} , As^{+5} y Hg, por parte de la macrófita acuática *Potamogeton pusillus*, sumado a la evaluación del posible efecto tóxico de dichos elementos en esta macrófita (determinación de proteínas y clorofila-a). Los resultados demostraron que *P. pusillus* puede ser utilizada efectivamente para la remoción de Hg y de bajas concentraciones de As^{+3} o As^{+5} ($0,1 \text{ mg.L}^{-1}$) de acuíferos contaminados. A su vez, se demostró que la parte de la planta que experimentará mayor acumulación depende del elemento. La remoción de ambas especies de As y Hg no denotó marcados síntomas de toxicidad sobre el contenido de proteínas, pero sí en cuanto al contenido de clorofila-a.

El presente estudio aporta nuevos datos sobre el uso de plantas acuáticas para la fitorremediación de As^{+3} , As^{+5} y Hg, incluyendo la medición de parámetros químicos. Teniendo en cuenta la capacidad de *P. pusillus* para acumular Hg y As, su distribución silvestre en América del Sur y su fácil recolección, esta especie puede considerarse un buen candidato para ser utilizado en la fitorremediación de cuerpos de agua contaminados y de aguas residuales que contienen estos elementos inorgánicos.

ABSTRACT

Metals and metalloids are among the main pollutants due to their easy transportation, persistence in the environment, bioaccumulation and high toxicity (Chen et al., 2011). Trophic transfer is an important mechanism for the accumulation of these elements in higher organisms of the food web, and is one of the main ways that humans are exposed to environmental toxicants (Walton et al., 2010).

In this context, this thesis has two significant goals: a) to advance in the study of the relationship that exists between the environment, its contaminants and the food produced in it, looking for chemical markers to distinguish foods from areas with different degrees and type of contamination; b) to study phytoremediation strategies to reduce or eliminate from the environment, inorganic elements potentially toxic for humans.

To meet the objective a), terrestrial systems were studied, including dairy farms located in the provinces of Córdoba, Santa Fe and Catamarca, where samples of livestock drinking water, soil, forage and milk were taken. On the other hand, aquatic systems were evaluated, including three of the most important water bodies in the province of Córdoba: San Roque Lake, Los Molinos Lake and the Río Tercero Reservoir. In each of them, samples of water, sediment, plankton, shrimp (*Palaemonetes argentinus*) and silverside (*Odontesthes bonariensis*) were taken. The samples obtained in both systems were processed for the determination of the multielement inorganic profile and stable isotopes of carbon and nitrogen ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$).

Significant differences were identified in the content of inorganic elements and the isotopic composition in samples of water, soil, forage and milk, among the different dairy farms. Elements like B, Mo, V and Zn exceeded the levels established for livestock drinking water quality according to the legislation available. Furthermore, B exceeded the guideline value established for agricultural land use quality. In certain samples of forage (corn and alfalfa), the Hg exceeded the established maximums for food intended for animal consumption. However, elements such as As, Cd and Pb did not exceed the levels permitted in milk according to current legislation.

At the same time, significant differences were found in the concentration of elements and stable isotopes among the organisms, lakes and evaluated seasons. It was observed that most of the quantified elements bioaccumulated in the organisms studied, especially in the plankton. In addition, Hg showed biomagnification through the trophic chain of Los Molinos Lake, while Al, Cd, Co, Cr, Fe, Li, Mn, Ni, Se and V, showed a general pattern of biodilution in the three lakes studied. This study enabled to detect potential risks for human health through the consumption of silverside, due to the high content of Hg and As present in the muscle of this fish. It was interesting to observe that in San Roque Lake, the highest

levels of $\delta^{15}\text{N}$ in all the analyzed samples were found, which would indicate that this lake has the greatest influence of wastewater in its ecology.

Overall, the results obtained for objective a) show that the measurement of metals and metalloids, added to the use of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$, are useful tools to differentiate different geographical environments (traceability) and sources of anthropic contamination (food safety). In this sense, the environmental differences were reflected in the composition of the final product (fish and milk), allowing us to associate such differences with the origin and /or contamination of the area where the food was produced.

In order to meet the objective b), the total and differential accumulation capacity (root, stem and leaves) of As^{+3} , As^{+5} and Hg was evaluated by the aquatic macrophyte *Potamogeton pusillus*, added to the evaluation of the possible toxic effect of these elements in the macrophyte (determination of proteins and chlorophyll-a). The results showed that *P. pusillus* can be used effectively for the removal of Hg and low concentrations of As^{+3} or As^{+5} (0.1 mg.L^{-1}) of contaminated aquifers. In addition, it was shown that the part of the plant that will experience the greatest accumulation depends on the element. The removal of both species of As and Hg did not show symptoms of toxicity on protein content, but did show effect in the chlorophyll-a content.

The present study provides new data on the use of aquatic plants for the phytoremediation of As^{+3} , As^{+5} and Hg, including the measurement of chemical parameters. Due to the ability of *P. pusillus* to fitoextract Hg and As, its wild distribution in South America and its easy collection, this species can be considered a good candidate to be used in the phytoremediation of contaminated water bodies and wastewater effluents that contain these inorganic elements.

INTRODUCCIÓN GENERAL



Los seres humanos han usado los metales desde los comienzos de las civilizaciones más primitivas. Su descubrimiento y utilización fue uno de los acontecimientos más influyentes en el desarrollo cultural y tecnológico de la humanidad.

El primer metal utilizado fue el cobre (**Edad del Cobre**, 6.000-3.000 a.C.), principalmente para ornamentos y joyería (Fig. 1). Dado que éste elemento es relativamente blando, no pudo reemplazar completamente a la piedra como el material base para utensilios y armas. Posteriormente, se mejoraron sus propiedades mecánicas mediante la adición de estaño, para dar una aleación más resistente: el bronce (**Edad del Bronce**, 3.000-1.200 a.C.). Esto permitió la creación de armas y herramientas de metal para la agricultura y la artesanía. Desde entonces se fue incorporando el uso de los metales para diversos fines, como por ejemplo el oro y la plata, que fueron utilizados para adornar a grandes personajes de la historia como así también para elaborar ornamentos y símbolos religiosos. Sin embargo, con la extracción del hierro (**Edad del Hierro**, 1.200 a.C.) tuvieron lugar los progresos más importantes en la metalurgia, con consecuencias positivas para la sociedad (Fabbrizzi, 2008). Este metal sustituyó pronto al bronce y se utilizó en una amplia variedad de propósitos que llevaron a la humanidad a incrementar su población y a generar asentamientos urbanos más grandes.

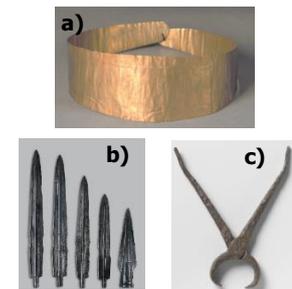


Figura 1: Elementos utilizados en la a) Edad del Cobre (Diadema), b) Edad del Bronce (Dagas) y c) Edad de Hierro (Herramienta). (Adaptado de Google Arts & Culture)

El hierro se convirtió en el principal material para la Revolución Industrial (segunda mitad del siglo XVIII), utilizándose en motores de vapor, maquinaria industrial, ferrocarriles, locomotoras, puentes, edificios y en barcos. En esta etapa se inició un profundo proceso de transformación económica, social y tecnológica, desde una economía rural basada fundamentalmente en la agricultura y el comercio, a una economía de carácter urbano, industrializada y mecanizada (Chaves Palacio, 2004). Desde entonces la producción de metales ha tenido un gran avance para abastecer las necesidades de las civilizaciones.

Actualmente, debido al rápido desarrollo de actividades industriales y económicas, así como al crecimiento progresivo de la población urbana, grandes cantidades de metales y metaloides han sido excavados, liberados en la superficie de la tierra y dispersados en el ambiente (Han *et al.*, 2002). Las poblaciones humanas están siendo sometidas cada vez más a exposiciones crónicas de estos elementos (Asaduzzaman *et al.*, 2017), lo que se ha convertido en un serio problema de índole mundial (Ali *et al.*, 2013). Por otra parte, también amenazan los sistemas acuáticos y terrestres, ya que pueden causarles efectos adversos a los organismos que los habitan, provocando cambios en las comunidades y sus hábitats, afectando a todo el ecosistema (Lewis, 1995).

Los metales son considerados como serios contaminantes ambientales debido a su alta toxicidad, fácil transporte y persistencia en el ambiente (Chen *et al.*, 2011). A diferencia de

muchas sustancias orgánicas, estos elementos no son biodegradables y por lo tanto, se acumulan en el ambiente. Su presencia en suelos y aguas plantea un riesgo para la salud ambiental y humana, ya que pueden acumularse en los tejidos corporales de distintos organismos (bioacumulación) y además pueden ser transportados a niveles tróficos superiores a través de la cadena trófica (biomagnificación) con el potencial riesgo de su consumo por parte del humano (Xie *et al.*, 2010).

En cuanto a su papel en los sistemas biológicos, se los clasifican como elementos esenciales y no esenciales; esenciales son aquellos que son requeridos por los organismos en determinadas cantidades para realizar funciones fisiológicas y bioquímicas vitales (por ejemplo: Fe, Mn, Cu, Zn y Ni), y los elementos no esenciales son aquellos que no están asociados a ninguna función vital de los organismos (por ejemplo: Cd, Pb, As y Hg) (Reilly, 2004). Las concentraciones de elementos inorgánicos, ya sean esenciales o no, que excedan el límite umbral, ejercerán efectos adversos para la salud al interferir con el funcionamiento normal de los sistemas vivos.

En la Fig. 2, se observa cómo varía una determinada respuesta fisiológica de un individuo, según la concentración del elemento, esencial (a) o no esencial (b), que la produzca. Se observa que si el organismo cuenta con la dosis recomendada del elemento esencial, la respuesta del individuo se desarrolla de manera normal; si la concentración es menor, la respuesta es deficiente y si se supera la concentración recomendada, aparecen efectos tóxicos en el ser vivo, desarrollando una serie de problemas fisiológicos y metabólicos, que si la concentración supera a la capacidad detoxificante del organismo, lo puede llevar a la muerte.

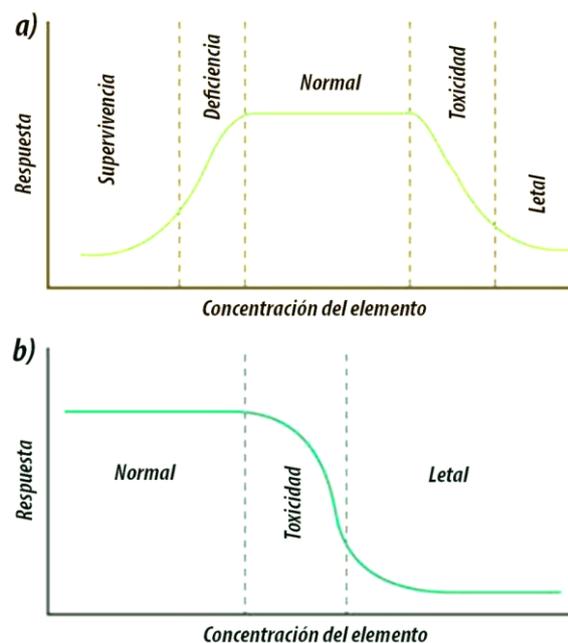


Figura 2: Relación entre concentración y respuesta para elementos: a) esenciales; y b) no esenciales. (Adaptado de <https://previa.uclm.es/>)

En el caso de los elementos no esenciales, existe una tolerancia a bajas concentraciones hasta que éstas llegan a ser tóxicas para el organismo, causando efectos indeseables o incluso letales (Memon y Schröder, 2009). Debido a estos efectos adversos, la contaminación por metales y metaloides en la cadena trófica merece especial atención.

Los metales y metaloides, tienen la capacidad de estimular la producción de especies reactivas de oxígeno, dando como resultado daños en el ADN, peroxidación lipídica, agotamiento de grupos sulfhidrilos de proteínas, deterioro de la señalización celular, alteración de la homeostasis del Ca, cambios en la regulación génica, etc. (Giarratano *et al.*, 2016). Además,

pueden reemplazar metales esenciales en pigmentos o enzimas, interrumpiendo su normal funcionamiento (Malayeri *et al.*, 2008). En cuanto a sus toxicidades, los elementos más problemáticos son As, Cd, Cr, Hg y Pb, los cuales pueden causar diferentes problemas de salud dependiendo de su concentración, estado de oxidación, etc. (Ali *et al.*, 2013).

Existen diferentes fuentes de metales y metaloides en el ambiente, estas pueden ser de origen natural o antropogénico (derivadas de actividades humanas) (Fig. 3).



Figura 3: Fuentes de contaminación ambiental. (Adaptado de <https://www.aguascordobesas.com.ar/>)

Las fuentes naturales más importantes son el desgaste de minerales, la erosión y la actividad volcánica, mientras que las fuentes antropogénicas incluyen a la minería, fundición, galvanoplastia, uso de pesticidas y fertilizantes, así como biosólidos en la agricultura, vertido de lodos, descarga industrial y doméstica, entre otras (Wuana y Okieimen, 2011).

El suelo es uno de los componentes ambientales más importante, ya que actúa como un sumidero geoquímico para los contaminantes y como un amortiguador natural, al controlar el transporte de metales a la atmósfera, hidrosfera y biosfera (Rastegari Mehr *et al.*, 2017). Por lo tanto, desde el suelo los metales y metaloides pueden transferirse a los demás componentes ambientales, ejerciendo una amenaza directa sobre la biota e indirecta sobre la salud humana, por la contaminación de aguas subterráneas y la acumulación de los mismos en cultivos y organismos destinados a consumo humano (Martínez y Motto, 2000).

Existe un interés generalizado en cuanto al destino de los metales y metaloides en suelos; estos pueden quedar retenidos en él, ya sea disueltos en la fase acuosa del suelo, ocupando sitios de intercambio, adsorbidos sobre constituyentes inorgánicos, asociados con la materia orgánica y/o precipitados como sólidos puros o mixtos (Pagnanelli *et al.*, 2004). No obstante, pueden movilizarse dentro del ecosistema; volatilizándose hacia la atmósfera, absorbiéndose en

plantas con la posterior incorporación a las cadenas tróficas, como así también, desembocar en aguas superficiales o subterráneas (Fig. 4).

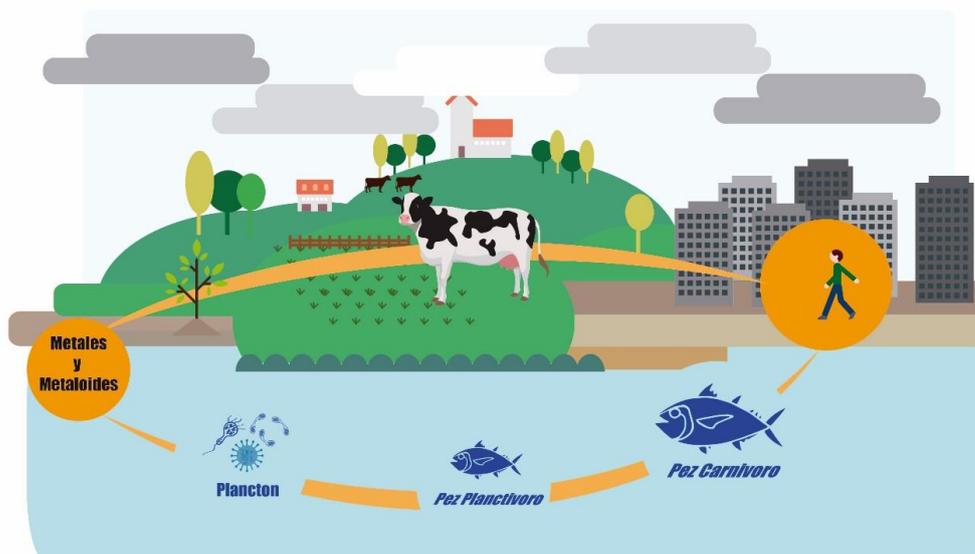


Figura 4: Movilización de metales y metaloides en el ecosistema.

Cuando un suelo está contaminado con metales o metaloides, queda la incertidumbre sobre la magnitud en que éstos podrán pasar a los vegetales que allí se producen y luego hacia animales, para finalmente alcanzar al hombre. En estudios recientes del grupo se ha demostrado que el vino, la carne vacuna, el trigo y la miel, reflejan la composición del suelo donde fueron producidos (Di Paola-Naranjo *et al.*, 2011; Baroni *et al.*, 2011; Podio *et al.*, 2013; Baroni *et al.*, 2015).

Asimismo, el contenido de metales y metaloides en la leche está influenciado por el suelo, el aire, el agua y otros factores como la alimentación de las vacas lecheras (Ren-ju *et al.*, 2015); efecto, debido al pastoreo del ganado en tierras contaminadas, se han encontrado niveles elevados de metales en los productos alimenticios de origen animal como resultado de la bioacumulación (Shahbazi *et al.*, 2015). En los últimos años ha habido un creciente interés por evaluar elementos inorgánicos, ya que su presencia puede afectar las propiedades químicas y funcionales de alimentos como la leche (Pérez-Carrera *et al.*, 2016). Algunos estudios han demostrado la influencia que presentan las actividades antrópicas e industriales sobre los niveles de metales en lácteos, en general se encuentran concentraciones más elevadas en leches provenientes de regiones industriales y de tráfico pesado, que de zonas exclusivamente rurales (Simsek *et al.*, 2000). Por ello, la caracterización composicional y la cuantificación de metales y metaloides en estos productos son fundamentales para brindarle a los consumidores calidad nutricional y garantía de inocuidad.

Por otra parte, metales y metaloides pueden alcanzar los cuerpos de agua, donde toman contacto con los organismos acuáticos y pueden ser acumulados por estos en niveles peligrosos. Desde el plancton, que es consumido por invertebrados o peces pequeños, pueden llegar a peces de mayor tamaño, siendo estos últimos importantes y los principales vehículos de exposición de

contaminantes ambientales para los humanos a través de la alimentación. Por lo cual, los peces una vez expuestos a diversos contaminantes, pueden bioacumularlos o biomagnificarlos, para luego transferirlos a humanos a través de la alimentación, especialmente en poblaciones donde son consumidos diariamente como parte de la dieta (Gladyshev *et al.*, 2009; Jiang *et al.*, 2010). El consumo de peces provee de muchos beneficios para la salud, debido al alto contenido de ácidos grasos esenciales poliinsaturados de la familia de los omega-3 (Gladyshev *et al.*, 2009), los cuales actúan previniendo enfermedades cardiovasculares y desordenes neuronales (Silvers y Scott, 2002). Sin embargo, en los últimos años, se analizan los riesgos versus los beneficios para la salud humana del consumo de peces que pueden estar contaminados (Gladyshev *et al.*, 2009; Jiang *et al.*, 2010).

Considerando lo anteriormente mencionado, es probable que los metales y metaloides ingeridos causen toxicidad no sólo en la base de las redes alimenticias, sino también en los consumidores superiores (Croteau *et al.*, 2005). La transferencia trófica es un mecanismo importante para la acumulación de contaminantes en los organismos de eslabones superiores de la cadena alimentaria, y es una de las principales vías por las cuales los seres humanos están expuestos a tóxicos ambientales (Walton *et al.*, 2010). Aunque se han hecho muchos estudios sobre la transferencia de estos elementos en cadenas alimentarias, todavía resulta un desafío científico entender y predecir las concentraciones de metales y metaloides en organismos que ocupan diversos niveles tróficos (Jara-Marini *et al.*, 2009).

En estudios de sistemas acuáticos y terrestres, el empleo de isótopos estables posee diversas aplicaciones. Los isótopos son átomos de un mismo elemento que tienen las mismas propiedades químicas pero diferentes masas. Entre ellos podemos destacar los isótopos estables de hidrógeno (^1H y ^2H), carbono (^{12}C y ^{13}C), nitrógeno (^{14}N y ^{15}N), oxígeno (^{16}O y ^{18}O) y azufre (^{32}S y ^{34}S). La medida isotópica se lleva a cabo aprovechando las diferencias de masa atómica entre los isótopos, mediante la razón del isótopo pesado sobre el ligero (Brand, 1996).

Generalmente la abundancia isotópica de un elemento en la naturaleza se mantiene aproximadamente constante. Sin embargo, existen fenómenos que producen pequeñas variaciones (fraccionamiento isotópico) en la composición isotópica de un elemento. Dicho fraccionamiento se da cuando un elemento pasa de una matriz a otra (por ejemplo desde el agua a un vegetal o animal) o en otros casos, debido a distintos ciclos bioquímicos (Faure y Mensing, 2005). En los organismos los isótopos se fraccionan durante los procesos metabólicos con distintas velocidades de reacción, siendo más rápido para los isótopos ligeros. De esta manera los tejidos de los consumidores se enriquecen en isótopos pesados con relación a su alimento o presa (Martínez del Río *et al.*, 2009).

La amplia distribución diferencial de los isótopos permite su uso como trazadores naturales de procesos fisicoquímicos en los ecosistemas (Medina y Herranz, 2013). Pueden usarse para estudiar el flujo de energía y materia en los ecosistemas, su estructura y los procesos que tienen lugar en ellos, entre otros (Fry, 2006).

Resulta sumamente necesaria la remoción de metales y metaloides del ambiente, para minimizar su impacto en los ecosistemas y evitar que ejerzan amenazas a la salud del hombre. Este es un trabajo desafiante en cuanto al costo económico y complejidad técnica (Barceló y Poschenrieder, 2003). Hasta ahora se han empleado diferentes enfoques físicos, químicos y biológicos para este propósito. Los métodos de remediación convencionales incluyen el precipitado del elemento para su posterior filtrado, reacciones de oxidación-reducción, tratamientos térmicos para incrementar la volatilización de los contaminantes, extracción por diferentes solventes, etc. Estos tienen algunas limitaciones como costos elevados, trabajo intensivo, cambios irreversibles en las propiedades del suelo y alteración de la microflora del suelo nativo. Los métodos químicos también pueden crear problemas de contaminación secundaria (Ali *et al.*, 2013).

Un enfoque novedoso y que constituye una alternativa "verde" al problema de contaminación por elementos inorgánicos, es la fitorremediación. Se refiere básicamente al uso de plantas, para reducir la concentración o los efectos tóxicos de los contaminantes en el ambiente. Es una estrategia de remediación novedosa, rentable, eficiente, amigable con el ambiente y adecuada para aplicaciones en sitios a campo donde otros métodos no son factibles. Dentro del término fitorremediación, se diferencian una serie de fitotecnologías que incluyen la fitoextracción (o fitoacumulación), fitodegradación, fitofiltración, fitovolatilización, etc. (Ali *et al.*, 2013). Una técnica a destacar es la fitofiltración, en la cual plantas que acumulan grandes cantidades de metales o metaloides, funcionan como biofiltros para la remoción de los mismos presentes en aguas superficiales o aguas residuales (Abhilash *et al.*, 2009). Los contaminantes son absorbidos o adsorbidos a las plantas y así su movimiento en el ambiente es minimizado (Ali *et al.*, 2013).

En este contexto, nos propusimos investigar con una visión multidisciplinaria, alimentos (leche y peces) producidos en diversas áreas, buscando diferenciar su lugar de origen y sus niveles de riesgo para el consumo humano utilizando marcadores químicos. Estos marcadores aportarían información acerca del lugar de producción (origen/trazabilidad) y de posibles fuentes de contaminación que están influenciando la producción de los alimentos en las distintas áreas en estudio, permitiéndonos identificar zonas de mayor o menor riesgo para la producción de alimentos (seguridad alimentaria).

Este tipo de análisis es un nuevo campo en auge mundial, en virtud de la importancia que tiene garantizar la producción de alimentos seguros, procedentes de áreas con distinto nivel de contaminación, sumado a la necesidad de poder verificar mediante herramientas objetivas la procedencia del alimento. Desde esta perspectiva, esta tesis busca aportar nuevos enfoques en el estudio de la distribución de contaminantes a partir de sus fuentes y en la evaluación de la seguridad alimentaria.

Por otro lado, considerando que algunos lugares de producción de alimentos presentan elementos tóxicos (sea por causas naturales o antrópicas), se busca evaluar en laboratorio estrategias para su remoción, utilizando técnicas verdes de fitorremediación.

OBJETIVOS

Objetivos Generales:

Avanzar en el estudio sobre la relación del ambiente, sus contaminantes y los alimentos que en él se producen, buscando indagar sobre marcadores químicos que permitan distinguir alimentos procedentes de regiones limpias, de aquellos procedentes de áreas con distinto grado de contaminación. Plantear estrategias de fitorremediación de elementos inorgánicos presentes en el ambiente, potencialmente tóxicos para humanos.

Objetivos Específicos

1) Caracterizar distintos sistemas acuáticos y terrestres según el perfil inorgánico multielemental y de isótopos estables de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) y carbono ($\delta^{13}\text{C}$) de diferentes matrices bióticas y abióticas. Buscar asociar los niveles de estos elementos con distintas fuentes de contaminación propias de cada sistema.

2) Estudiar en sistemas acuáticos y terrestres el pasaje trófico y la eventual biomagnificación de metales y metaloides, estimando posibles efectos adversos para la salud humana a través del consumo de alimentos procedentes de sistemas alterados (contaminados).

3) Avanzar en el estudio del uso de macrófitas autóctonas como fitorremediadoras naturales en ambientes acuáticos contaminados con tóxicos inorgánicos.

A los fines de favorecer el desarrollo de esta Tesis Doctoral, se la ha dividido en tres capítulos:

CAPÍTULO 1: *Sistema terrestre* (Objetivo 1 y 2).

CAPÍTULO 2: *Sistema acuático* (Objetivo 1 y 2).

CAPÍTULO 3: *Ensayos de Fitorremediación* (Objetivo 3).

CAPÍTULO 1

SISTEMA TERRESTRE



1.1 INTRODUCCIÓN

La leche y los productos lácteos son constituyentes esenciales en una dieta y se recomienda un consumo regular, especialmente para niños (Rahimi, 2013). Estos alimentos son fuentes importantes de macronutrientes (proteínas, lípidos e hidratos de carbono) y micronutrientes (minerales, vitaminas y enzimas) y según sugieren estudios epidemiológicos, juegan un papel significativo en la prevención de varios trastornos crónicos como la obesidad, la diabetes, el cáncer y enfermedades cardiovasculares (Zain *et al*, 2016). Sin embargo, pueden contener cantidades variables de numerosas sustancias xenobióticas (pesticidas, fármacos, metales, etc.), que constituyen un factor de riesgo tecnológico para los productos lácteos, para la imagen comercial relacionada y, sobre todo, para la salud del consumidor (Ataro *et al*, 2008; Mass *et al*, 2011).

1.1.1 La lechería Argentina

La producción de leche bovina es una de las principales actividades agropecuarias en Argentina, este sector ha alcanzado gran desarrollo en los últimos años, incrementando considerablemente su productividad. Se estima que la Argentina cuenta con alrededor de 10.000 tambos con unas 3 millones de vacas en ordeño (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, 2017), y que la producción nacional alcanzó los 9.895 millones de litros por año (Ministerio de Agroindustria, 2017). Nuestro país se ubica como el 2° productor de leche cruda de América Latina y 11° en el orden mundial (Sanchez *et al*, 2012).

La producción de leche se desarrolla en una amplia región del país, delimitándose las principales cuencas productoras dentro de la zona agroecológica denominada "Llanura pampeana", entre los Paralelos 31 y 39 de Latitud Sur. Las provincias que se destacan por su importancia en la producción láctea son Córdoba, Santa Fe y Buenos Aires.

La leche cruda obtenida de los tambos argentinos se destina en un 76 % a la elaboración de productos lácteos, dentro de los cuales se encuentran la leche en polvo (31 %), quesos semi duros (21 %), quesos blandos (20 %), quesos duros (11 %), manteca (9 %) y otros lácteos (8 %), principalmente dulce de leche, leche condensada, yogur, postres y flanes (Mancuso y Teran, 2008). Durante los últimos años, el destino de las exportaciones lácteas se diversificó, involucrando alrededor de 100 países, donde los principales compradores son Argelia, Venezuela, México, Brasil y Chile. En la actualidad la leche en polvo es el principal producto exportado con un 63,3 % de participación. El resto lo conforman los quesos (15,2 %), otros lácteos (21 %) y las leches fluidas (0,5 %), principalmente la ultrapasteurizada o larga vida (Mancuso y Teran, 2008).

1.1.2 Transferencia de metales y metaloides en el agroecosistema

Uno de los principales intereses de los estudios ambientales modernos radica en la evaluación de la transferencia de diversos tóxicos desde el emisor (hombre, industria, etc.), hasta el consumidor de alimentos que se producen en regiones contaminadas. El aumento constante de actividades antropogénicas ha favorecido la emisión de sustancias contaminantes hacia el

ecosistema, las cuales están íntimamente relacionados con las especies animales, lo que facilita la entrada de dichas sustancias en la cadena trófica.

En los últimos años, estudios de numerosos países han indicado la presencia de metales y metaloides en leche y productos lácteos (Licata *et al.*, 2004; Caggiano *et al.*, 2005; Patra *et al.*, 2008; Tajkarimi *et al.*, 2008; Soares *et al.*, 2010). Estos provienen de diversas fuentes, siendo las más importantes en este contexto, el suelo en el que se producen los alimentos para el ganado, lodos residuales, fertilizantes y plaguicidas empleados en agricultura, materiales utilizados durante el ordeño, almacenamiento y transporte de la leche, así como la contaminación de los alimentos y el agua que ingieren los bovinos (Rodríguez Fuentes *et al.*, 2005).

En efecto, además de los elementos esenciales (B, N, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn y Mo) (Laurson *et al.*, 2011), las plantas pueden tomar otros elementos que estén biodisponibles en el suelo o en el agua de la zona de cultivo, exponiendo así a los rumiantes durante el pastoreo (Laurent *et al.*, 2005). Una vez que estos ingresan al organismo animal, ya sea a través del agua de bebida o del alimento, son absorbidos por el tracto gastrointestinal y llegan a la sangre, pudiendo acumularse en los tejidos o transferirse a la leche (López *et al.*, 2002). Por lo tanto la calidad de la leche puede verse afectada por la presencia de elementos inorgánicos no esenciales (Sabir *et al.*, 2003).

La transferencia de contaminantes desde matrices ambientales a la cadena agroalimentaria constituye un tema de creciente preocupación científica en el mundo. Sin embargo, la información acerca de los niveles y su impacto en la inocuidad de los alimentos, particularmente la leche, es escasa. La determinación de la concentración residual de metales y metaloides en la leche podría ser un indicador directo importante de su estado higiénico, así como un indicador indirecto de las condiciones ambientales locales o periféricas, principalmente del suelo, agua, aire y vegetación de la zona en donde se produjo (Licata *et al.*, 2004).

1.1.3 Determinación del origen geográfico de la leche

En la leche, la cantidad de metales y metaloides no es constante y difiere debido a diversos aspectos como las condiciones ambientales, la nutrición del animal, la etapa de lactancia y la raza animal (Zain *et al.*, 2016).

La caracterización de los alimentos representa una importante cuestión estratégica para la industria alimentaria. En los últimos años, con el desarrollo de un mercado de alimentos globalizado y el aumento del interés de los consumidores por conocer las características, la calidad y el origen geográfico de los alimentos, muchos países han tomado medidas para garantizar su trazabilidad. Para ello, uno de los requisitos es caracterizarlos químicamente (Kelly *et al.*, 2005).

El análisis de la composición elemental se considera una herramienta eficaz, ya que el patrón inorgánico de un alimento refleja la geoquímica local del suelo y del agua, que a su vez está influenciada por la geología, la temperatura, el clima, la distancia al mar, la altitud, la latitud,

etc. (Asfaha *et al.*, 2011; Di Paola Naranjo *et al.*, 2011; Baroni *et al.*, 2011). La disponibilidad de cada elemento depende de varios factores tales como el pH del suelo, la humedad, la porosidad y la presencia de complejos húmicos, etc. Por consiguiente la gama de suelos existente, la biodisponibilidad de sus constituyentes, sumado a las diferentes prácticas agrícolas (orgánico, tradicional, etc.), pueden suministrar huellas digitales únicas en el producto alimenticio final, que caracteriza a su origen geográfico (Kelly *et al.*, 2005).

Los estudios de autenticación de alimentos han demostrado que un único método generalmente es insuficiente para indicar el origen y permitir la trazabilidad de los alimentos (García-Ruiz *et al.*, 2007). Para lograr una buena diferenciación de alimentos procedentes de diversos orígenes geográficos es necesario evaluar al menos dos grupos diferentes de parámetros, aplicando estadística multivariada.

La espectrometría de masas de relación isotópica, es una de las técnicas que se ha utilizado con éxito para autenticar tanto el origen geográfico como la dieta alimentaria. Las señales de isótopos estables en tejidos o productos animales reflejan la composición isotópica de la dieta (modificada por el metabolismo del animal) y del lugar donde se crían los animales (Prache *et al.*, 2005; Renou *et al.*, 2004). La determinación del origen geográfico de leches se ha evaluado con éxito midiendo las relaciones de isótopos estables de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$, es decir $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$) y carbono ($\delta^{13}\text{C}$, es decir, $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$) (Prache *et al.*, 2005).

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de la leche, dependen en gran medida de la composición de la dieta, en particular con respecto al maíz; al ser una planta C4 y debido a su vía fotosintética, la discriminación del isótopo de ^{13}C durante la fijación de CO_2 atmosférico es inferior con relación a plantas de ciclo fotosintético C3 (alfalfa, trigo, soja, etc.). Por lo tanto, el maíz tiene un contenido de ^{13}C más alto que la mayoría de las especies comunes de pastizales (plantas C3) (Farquhar *et al.*, 1989). Como consecuencia, la utilización de maíz en las dietas de bovinos da como resultado un alto contenido relativo de ^{13}C en los tejidos animales, mientras que los productos de origen animal con dietas dominadas por pastizales muestran un menor contenido relativo de ^{13}C (Gebbing *et al.*, 2004). Sin embargo, la firma de isótopos de carbono no puede diferenciar la alimentación intensiva con otros cereales, debido a las rutas fotosintéticas similares de la mayoría de las plantas de pastizales y cereales (Gebbing *et al.*, 2004). Además, este isótopo también se ve afectado, aunque en menor grado, por varios factores ambientales como la humedad relativa, la temperatura, la cantidad de precipitaciones y el estrés hídrico (O'Leary, 1995).

Finalmente, el $\delta^{15}\text{N}$ está influenciado por las prácticas agrícolas (Renou *et al.*, 2004). Los fertilizantes nitrogenados sintéticos tienden a tener valores de este isótopo cercanos a cero, usualmente entre -2 y 2 ‰ (Vitoria *et al.*, 2004). El nitrógeno en estos fertilizantes se deriva del nitrógeno atmosférico y del poco fraccionamiento que ocurre durante su fabricación. En cambio, valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre 10 y 20 ‰ se notifican normalmente para abonos basados en estiércol, comúnmente utilizados en la agricultura orgánica (Bateman *et al.*, 2007). Estudios anteriores han demostrado que la composición isotópica de N de un fertilizante influye en la composición del

isótopo del cultivo (Nakano *et al.*, 2003; Bateman *et al.*, 2005). Además, existen muchos factores que influyen sobre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ del cultivo, como el tipo de suelo, el uso histórico del suelo, la variabilidad en la deposición de nitrógeno atmosférico, las variaciones en las prácticas agrícolas locales, etc.

A su vez, la contaminación antrópica podría cambiar significativamente las proporciones de isótopos estables en relación a su contenido natural en el suelo y agua, por lo tanto determinar las relaciones isotópicas de ciertos elementos resulta una herramienta útil para diferenciar entre sitios contaminados o afectados por la acción antrópica, de aquellos que retienen características no alteradas.

En este contexto, nos propusimos analizar la concentración de diversos elementos inorgánicos en muestras de agua, suelo, forraje y leche de recintos productores de leche de la Argentina. Conjuntamente se midieron $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$. A partir de estos resultados se estudió la transeferencia de elementos inorgánicos del ambiente al alimento, estimando posibles efectos adversos para la salud humana a través de su consumo, junto con la diferenciación de las muestras según su origen geográfico.

1.2 MATERIALES Y MÉTODOS

1.2.1 Área de estudio

Para la toma de muestras se seleccionaron 8 tambos distribuidos en las provincias de Córdoba, Santa Fe y Catamarca, como muestra la Fig. 1.1.

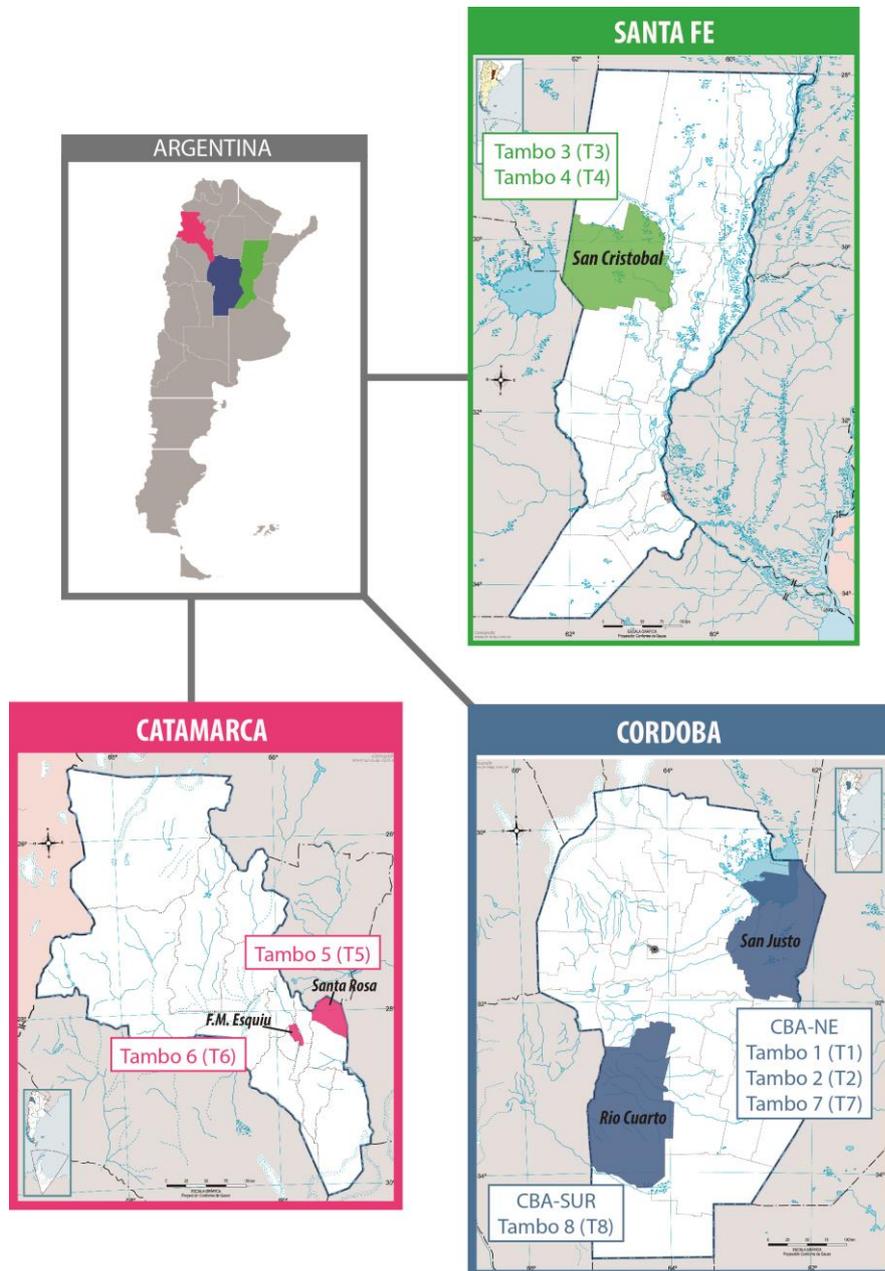


Figura 1.1: Provincias argentinas y localizaciones geográficas de los tambos en estudio. Provincia de Santa Fe: Tambos 3 y 4. Provincia de Córdoba: Tambos 1, 2, 7 (NE) y 8 (SUR). Provincia de Catamarca: Tambos 5 y 6.

Córdoba: es la provincia que lidera la producción nacional de leche, participando con el 37 % (Da Riva *et al.*, 2016). Fue dividida en dos regiones, noreste (CBA-NE) y sur (CBA-SUR). La primera, representa el 43 % de la producción total de leche de la provincia y la segunda región, representa el 14 % (Garzón y Torre, 2010).

- **Tambo 1 (T1):** Ubicado en la localidad de Balnearia, departamento San Justo, Córdoba (CBA-NE). El sistema de cría de ganado es en corral o semiestabulado. Cuenta con 350 animales raza Holando-Argentino, de 3 años de edad y 550 Kg promedio. El tambo produce aproximadamente 7800 L de leche diarios.
- **Tambo 2 (T2):** Ubicado en la localidad de Balnearia, departamento San Justo, Córdoba (CBA-NE). El sistema de cría de ganado es a pastoreo. Cuenta con 110 animales raza Holando-Argentino, de 4 años de edad y 500 Kg promedio. El tambo produce aproximadamente 1700 L de leche diarios.

Balnearia está situada en el noreste de la provincia de Córdoba, a 190 Km de la capital. Limita al norte con la localidad de Miramar, al este con Altos de Chipión, al sur con Villa Concepción del Tío, y al oeste con Marull (Municipalidad de Balnearia, 2017). La mayor actividad económica se desprende de la agricultura y ganadería. Los principales cultivos son el sorgo, maíz y trigo. También se explotan pastoreos como la alfalfa y el trébol, por ser una zona dedicada en su mayoría la producción lechera. Esta localidad además se nutre de actividades fabriles y comerciales, entre ellas podemos destacar la planta industrial de la firma "SanCor", cuya producción es exclusiva de quesos para exportación.

- **Tambo 7 (T7):** Ubicado en la localidad de Freyre, departamento San Justo, Córdoba (CBA-NE). El sistema de cría de ganado es a pastoreo y cuenta con 150 animales raza Holando-Argentino, de 400 Kg de peso promedio. El tambo produce aproximadamente 2500 L de leche diarios.

Freyre es una localidad situada en el noreste de la provincia de Córdoba, a 240 km de la capital. La principal actividad económica es la agrícola-ganadera, con explotación lechera. Hace 60 años se fundó en ella la empresa láctea "Manfrey", dedicada a la elaboración y comercialización de quesos, crema, manteca, yogures, dulce de leche, leche fluida y en polvo, producción que en su mayor porcentaje se comercializa en el mercado externo.

- **Tambo 8 (T8):** Ubicado en la ciudad de Vicuña Mackenna, departamento Río Cuarto, Córdoba (CBA-SUR). Cuenta con 200 animales raza Holando-Argentino, de 4 años de edad y 700 Kg promedio. El tambo produce aproximadamente 5600 L de leche diarios.

Vicuña Mackenna está ubicada al sur de la provincia de Córdoba, a unos 300 km aproximadamente de la ciudad de Córdoba capital. Pertenece geográficamente a la llanura pampeana, donde se desarrollan actividades agrícolas y ganaderas (Turismo Córdoba, 2017).

Santa Fe: es la segunda provincia productora de leche del país, representando el 32 % de la producción nacional total (Da Riva *et al.*, 2016).

- **Tambo 3 (T3):** Ubicado en la ciudad de Suardi, departamento San Cristóbal. El sistema de cría de ganado es a pastoreo. Cuenta con 120 animales raza Holando-Argentino, de 625 Kg de peso promedio. El tambo produce aproximadamente 1800 L de leche diarios.
- **Tambo 4 (T4):** Ubicado en la ciudad de Suardi, departamento San Cristóbal. El sistema de cría de ganado es a pastoreo. Cuenta con 140 animales raza Holando-Argentino, de 625 Kg de peso promedio. El tambo produce aproximadamente 2300 L de leche diarios.

Suardi se encuentra ubicada a 255 Km al norte de la capital de Santa Fe. Es una ciudad con importante actividad agrícola-ganadera debido a la industria láctea, establecimientos de producción de carne y una significativa producción de soja, maíz, sorgo, trigo y en menor escala girasol. La producción lechera es entregada a tres grandes empresas lácteas, dos de las cuáles tienen sus plantas elaboradoras de productos en esta localidad, Veronica y Williner.

Catamarca: esta provincia integra junto con Salta, Jujuy, Tucumán y Santiago del Estero, la cuenca lechera del Noroeste argentino. Se trata de una región con una larga tradición lechera y condiciones agroecológicas apropiadas para la producción tampera, que sin embargo no logra alcanzar un desarrollo sostenido. Posee una baja tasa de producción de leche, la cual cubre entre 15 y 20 % del consumo interno y debe abastecerse de otras regiones.

- **Tambo 5 (T5):** Ubicado en el departamento Fray Mamerto Esquiú. Cuenta con 150 animales raza Holando-Argentino, que producen aproximadamente 2400 L de leche diarios.
- **Tambo 6 (T6):** Ubicado en la ciudad de Los Altos, departamento Santa Rosa. Cuenta con 1000 animales raza Holando-Argentino, de 4 años de edad y de 550 Kg de peso promedio. El tambo produce aproximadamente 17493 L de leche diarios.

El departamento de Fray Mamerto Esquiú está situado en la Región Centro de la provincia de Catamarca, a 14 Km de su capital. Se desarrollan diversas actividades productivas, como el cultivo de alfalfa, sorgo y gramillas como base forrajera para tambos y pastoreo. En menor escala se producen cítricos, membrilleros, durazneros, tunales, vides, entre otros. En cuanto a la ganadería, se destacan ganado bovino para tambo, cría de cabras, cerdos y conejos. Se destaca la industria lechera, con elaboración de sus derivados (quesos, yogurt, dulce, ricota, etc.) (Atlas Catamarca, 2017).

La ciudad de Los Altos se encuentra al sur de la provincia de Catamarca, a 96 Km de su capital, San Fernando del Valle de Catamarca. Constituye una región agrícola, cuya producción está dedicada a los cultivos de soja, maíz, poroto negro, tabaco, citrus, arándanos, entre otros (Atlas Catamarca, 2017). En cuanto a la actividad ganadera, se practica la cría de bovinos, porcinos y caprinos. En esta ciudad se encuentra instalada una sucursal de la industria láctea "Milkaut", la cual comercializa sus productos en mercados de más de 124 países, como Japón, Estados Unidos, Brasil, Croacia, México, Chile, Nigeria, Argelia, Rusia, Uruguay, Paraguay, Venezuela, entre otros.

1.2.2 Recolección y procesado de las muestras

En cada uno de los tambos seleccionados, se tomaron muestras de agua de bebida animal, suelo, forraje (alimento para el ganado) y leche (líquida, cruda), durante dos campañas de muestreo. Se seleccionaron las fechas de muestreo teniendo en cuenta la estacionalidad, por lo cual se seleccionó febrero del 2015 como la estación húmeda (EH) y octubre de 2015 como la estación seca (ES). Durante la ES no se pudo realizar los muestreos de los tambos T2 y T6, por razones ajenas a la investigación.

La recolección y procesado de las muestras se describen mediante un esquema en la Fig. 1.2.

- **Agua de bebida animal:** la principal fuente de agua de bebida para el ganado de las zonas evaluadas es subterránea y proviene de perforaciones. Las muestras (n=3 de cada tambo), se recolectaron de los bebederos de los animales, en envases plásticos previamente lavados y enjuagados con reactivos ultra puros, de acuerdo con los métodos ya desarrollados en el grupo (Monferrán *et al.*, 2011). En el laboratorio, una fracción fue acidificada con HNO₃ ultra puro (sub-boiling, Merck) para la medición de elementos inorgánicos y la otra fracción se secó en estufa a 35 °C, hasta la obtención del residuo sólido (RSA), para la medición de isótopos estables. Ambas fracciones de agua fueron previamente filtradas utilizando filtros de nitrocelulosa de 0,45 µm (Sartorius, Göttingen, Alemania). Las muestras se almacenaron a 4 °C hasta su análisis.

- **Suelos:** las muestras de suelo (n=4) se recolectaron aproximadamente a 0-20 cm de profundidad utilizando una pala de acero inoxidable, y se almacenaron en recipientes de plástico previamente acondicionados (Monferrán *et al.*, 2011). Posteriormente, las muestras se secaron a 35 °C hasta peso constante y se tamizaron utilizando mallas de acrílico con poros de 63 µm de diámetro.

- **Forraje:** se tomaron muestras de todos los tipos de alimentos que conformaban la dieta del ganado. En la Tabla 1.1 se encuentran resumidas las composiciones de las dietas implementadas en cada tambo y estación. Los alimentos fueron colocados en bolsas de plástico de sellado hermético. En el laboratorio se secaron a 35 °C y luego fueron triturados y homogeneizados con un mortero de cerámica.

- **Leche:** se colectaron muestras de leche cruda (n=3) desde el camión de frío (leche aportada por el conjunto de vacas del tambo). Estas muestras fueron transportadas al laboratorio de manera congelada y fueron almacenadas a -80 °C hasta su procesamiento. Luego, las muestras fueron liofilizadas utilizando un equipo RIFICOR LT-8 y se determinó que contenían entre 80-88 % de agua.

RECOLECCIÓN Y PROCESADO DE MUESTRAS



Figura 1.2: Recolección y procesado de muestras de agua, suelo, forraje y leche, para la medición de elementos inorgánicos (EI₁) e isótopos estables.

Tabla 1.1: Componentes de la dieta del ganado de los diferentes tambos, durante los muestreos realizados en estación húmeda y seca.

TAMBO	Estación húmeda	Estación seca
T1	Maíz picado +pellet de trigo/ Maíz picado +pellet de trigo + aditivos	Alfalfa+sorgo+ maíz+ semilla de algodón+expeller de soja + sales minerales
T2	Maíz picado+expeller de soja/Sorgo/Alfalfa	-
T3	Alfalfa/ Maíz	Maíz picado/Alfalfa/Maíz
T4	Alfalfa/ Maíz/ Expeller de soja/Maíz picado	Maíz/Expeller de soja/Sorgo/Alfalfa/Avena/ Maíz picado
T5	Maíz/ alfalfa y sorgo	Sorgo/Maíz/Semilla de algodón/Alfalfa
T6	Maíz picado/ Alfalfa/Maíz/ Expeller de soja/ Semilla de algodón	-
T7	Maíz picado	Maíz Picado/Alfalfa
T8	Alfalfa/ Maíz picado/ Trigo	Alfalfa/Pellet de soja/Maíz picado/Maíz

1.2.3 Determinación multielemental

En las muestras recolectadas de agua, suelo, forraje y leche se analizó el siguiente conjunto de elementos inorgánicos: Ag, Al, As, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Hg, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, V y Zn (EI₁).

El análisis de elementos biodisponibles en las muestras de suelo, se llevó a cabo a partir de una digestión débil, utilizando 2,5 g de la fracción tamizada (<63 µm) y 25 mL de HCl 0,5 N ultra puro. Se la dejó reposar durante 12 h, a temperatura ambiente y luego se filtró la digestión utilizando filtros de nitrocelulosa con poros de 0,45 µm (Sartorius, Göttingen, Alemania), llevando a un volumen final de 25 mL con HCl (Monferrán *et al.*, 2011).

Para la medición de EI₁ en muestras de forraje y leche liofilizada, se efectuaron digestiones ácidas fuertes. Para los forrajes, se tomaron aproximadamente 0,20 g de muestra procesada como se describe en la sección anterior y se los digirieron con 6 mL de HNO₃ (sub-boiling, Merck) y 1,5 mL de H₂O₂ (Merck), en recipientes de teflón, bajo calentamiento (180 °C) durante 24 h. En cuando a las muestras de leche, se tomaron 0,25 g de muestra liofilizada y se le añadió 7 mL de HNO₃ (sub-boiling, Merck) junto con 1 mL de H₂O₂ (Merck) en tubos de teflón, bajo calentamiento (180 °C) durante 24 h.

Posteriormente, las muestras digeridas se dejaron enfriar a temperatura ambiente, se filtraron a través de filtros de nitrocelulosa con poros de 0,45 µm (Sartorius, Göttingen, Alemania) y fueron almacenadas a 4 °C hasta su análisis. Además, se realizaron muestras blanco de digestión, que contenía la mezcla de reactivos, pero en ausencia de muestra.

Para la medición de EI₁ en las muestras de agua y de las digestiones de muestras de suelo, forraje y leche, se las diluyeron 1:10 con HNO₃ 2 % v/v sub-boiling. El análisis de los elementos inorgánicos fue realizado con un Espectrómetro de Masas Acoplado a Plasma Inductivo (ICP-MS,

Agilent Technology 7500 cx Series) equipado con un auto muestreador modelo ASX-100 (CETAC Technologies, Omaha, NE, USA). Las concentraciones se expresaron en $\mu\text{g.L}^{-1}$ (muestras de agua) y $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco (ps) para las muestras restantes.

Todas las muestras fueron digeridas por triplicado. Las concentraciones de los elementos se determinaron por triplicado y la repetitividad de las mediciones de ICP-MS fue en general ≥ 97 %. Para verificar la eficiencia de la técnica, se utilizaron materiales de referencia certificados de leche en polvo (IAEA 153) y de suero en polvo (IAEA 155). Las recuperaciones de los materiales de referencia para los elementos certificados fueron de 110 ± 26 % y 108 ± 22 %, respectivamente. Conjuntamente se prepararon muestras enriquecidas, para las cuales se añadieron cantidades conocidas de soluciones patrón que contenían los elementos analizados a 0,20-0,25 g de muestra de forraje y de leche liofilizada, antes de la digestión de las muestras. Las recuperaciones medias fueron del 97 ± 16 % y 105 ± 6 %, respectivamente.

1.2.4. Determinación de isótopos estables de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$)

Para la medición de las relaciones isotópicas, $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, se utilizaron las muestras secas y homogeneizadas. A las muestras de leche liofilizada se les extrajo el componente lipídico, utilizando un aparato Soxhlet con éter de petróleo. Luego se pesó 0,95-1 mg de muestra (RSA, suelo, forraje o leche) en cápsulas de estaño para su análisis.

Se utilizó un Espectrómetro de Masas de Relación Isotópica (IRMS), conectado a un analizador elemental, ambos Thermo Fisher Scientific. Los valores de isótopos estables (δ) se expresaron en partes por mil (‰) relativos al estándar internacional Viena-Pee Dee Belimnite (V-PDB) para el caso del $\delta^{13}\text{C}$ y para el $\delta^{15}\text{N}$, el N_2 del aire, como sigue:

$$\delta \text{ X } \text{‰} = ((\text{R muestra} / \text{R estándar}) - 1) \times 1000$$

Donde:

X es ^{13}C o ^{15}N y R es la relación de $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ o $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$ en cada caso.

1.2.5. Análisis estadístico

Todos los datos se presentan como media \pm desviación estándar. La distribución normal de los datos fue analizada por la prueba Shapiro-Willks. Las diferencias estadísticas estacionales de las concentraciones de EI_1 encontradas en los diferentes tambos, fueron determinadas a través de un análisis de la varianza (ANOVA). La significancia fue aceptada a $p < 0,05$. Se empleó el software InfoStat/P (2008) en todos los casos.

Se empleó la técnica exploratoria de análisis de componentes principales (ACP) para describir los EI_1 en cada matriz. Al tratarse de datos multivariados, se buscó a través de este análisis la reducción de la dimensionalidad, facilitando la interpretación de los datos. El ACP tiene como objetivo, dadas n observaciones de p variables, representar adecuadamente la información

con un número menor de variables, construidas como combinaciones lineales de las originales, según el orden de importancia en cuanto a la variabilidad total que recogen de la muestra. De esta forma, se representa óptimamente en un espacio de dimensión pequeña, bidimensional en nuestro caso, observaciones de un espacio general p-dimensional.

Al conjunto de datos (EI_1 e isótopos) se le aplicaron distintos métodos estadísticos multivariados: análisis de correlaciones canónicas (ACC), análisis discriminante (AD) y análisis de Procrustes generalizado (APG).

1.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.3.1 Muestras de agua de bebida animal

Los valores de concentración promedio ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y de desviación estándar de los elementos analizados en muestras de agua de bebida animal en los tambos durante EH y ES, se encuentran en las Tablas 1 y 2 del ANEXO I. Las diferentes letras expresadas en estas, indican diferencias significativas en la concentración de un elemento en particular entre los tambos. Aquellos elementos que no pudieron ser detectados o cuantificados en las muestras, se indicaron como LD o LQ respectivamente. En la Tabla 16 del ANEXO I, se muestran los distintos LD y LQ de los elementos evaluados en las distintas matrices analizadas.

En la Fig. 1.3 y 1.4 se muestra mediante gráficos de barras apiladas las concentraciones de los EI_1 analizados en estas muestras ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), durante EH y ES. A fin de una mejor visualización de los resultados, se han separado los elementos en dos gráficos según los niveles en los que se encontraban, mayoritarios (A) y minoritarios (B).

A su vez, en la Fig. 1.5 se encuentran representados los resultados en el plano definido por las componentes principales 1 y 2 (CP1 y CP2), en EH (A) y EH (B). Estas componentes resultan ser las que recolectaron la mayor parte de la variabilidad de los datos, representando el 77,9 % y el 91,3 % de la variabilidad total, en EH y ES, respectivamente (Tabla 3 del ANEXO I).

A partir de los gráficos biplot, podemos decir que las muestras de agua provenientes del T8 son las que más se diferencian del resto de los tambos, en ambas estaciones. En particular, al observar la Fig. 1.5 (A), elementos como As, B, Cd, Cr, K, Mg, Mo, Na, Rb, Se, Sr y V, son los que más contribuyen a la diferenciación del T8 en cuanto a su composición elemental (Ver autovectores e1, Tabla 4 del ANEXO I). Estos elementos se encuentran en mayor concentración en las muestras de agua de este tambo (Ver estadística, Tabla 1 del ANEXO I). Además, se puede observar que la composición de las muestras de agua de los tambos 3 y 4 (Santa Fe) fue similar y están fuertemente caracterizadas por elementos como el Ba, Ca, Co, Cu, Li y Zn (Ver autovectores e2, Tabla 4 del ANEXO I). Por otra parte, las muestras de los tambos 1, 2, 7 (CBA-NE), 5 y 6 (Catamarca), mostraron similitud en su composición elemental.

En cuanto a la ES, la diferenciación de las aguas del T8 está dada por presentar las concentraciones más altas de Al, As, B, Cd, Cr, Cu, K, Mg, Mo, Na, Rb, Se, Sr, V y Zn (Ver autovectores e1 y estadística, Tabla 4 y 1 del ANEXO I).

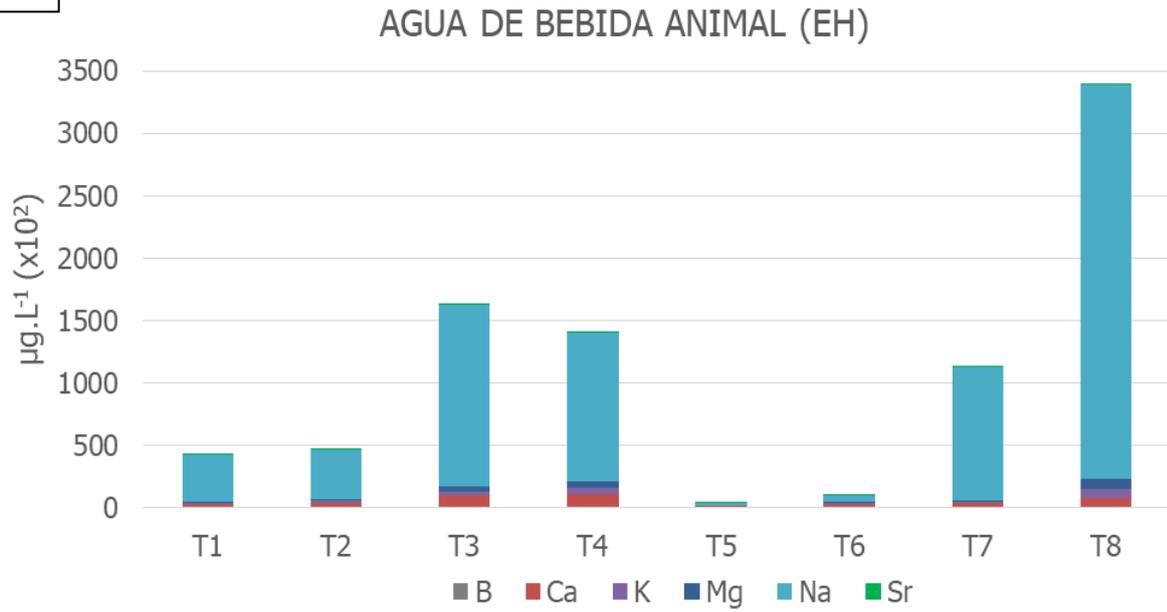
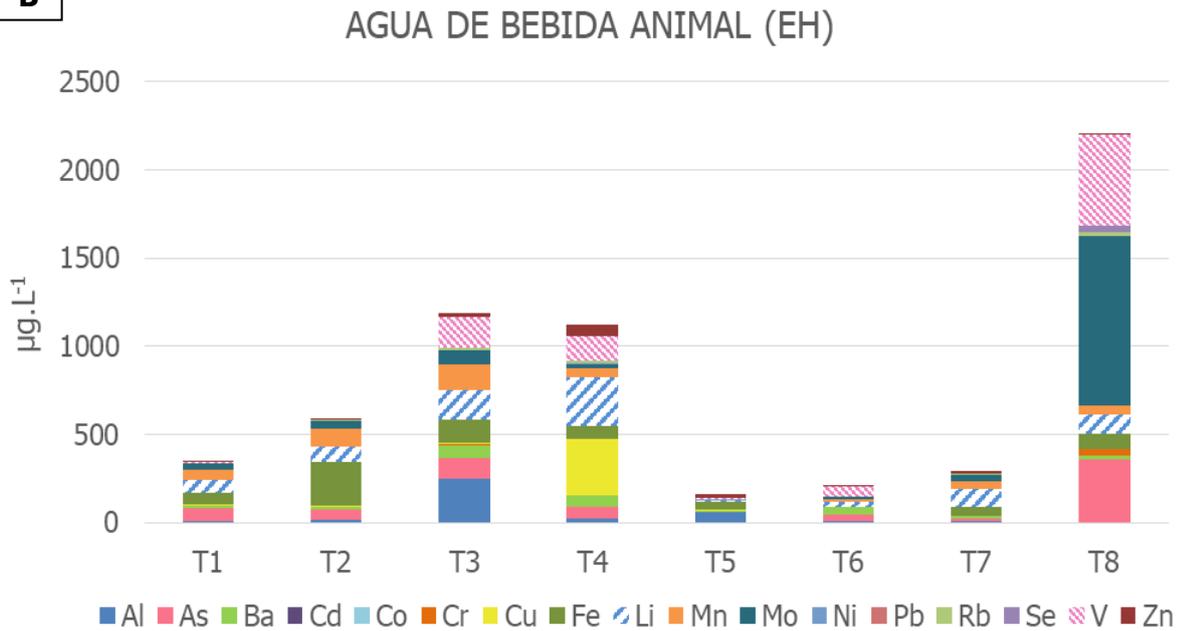
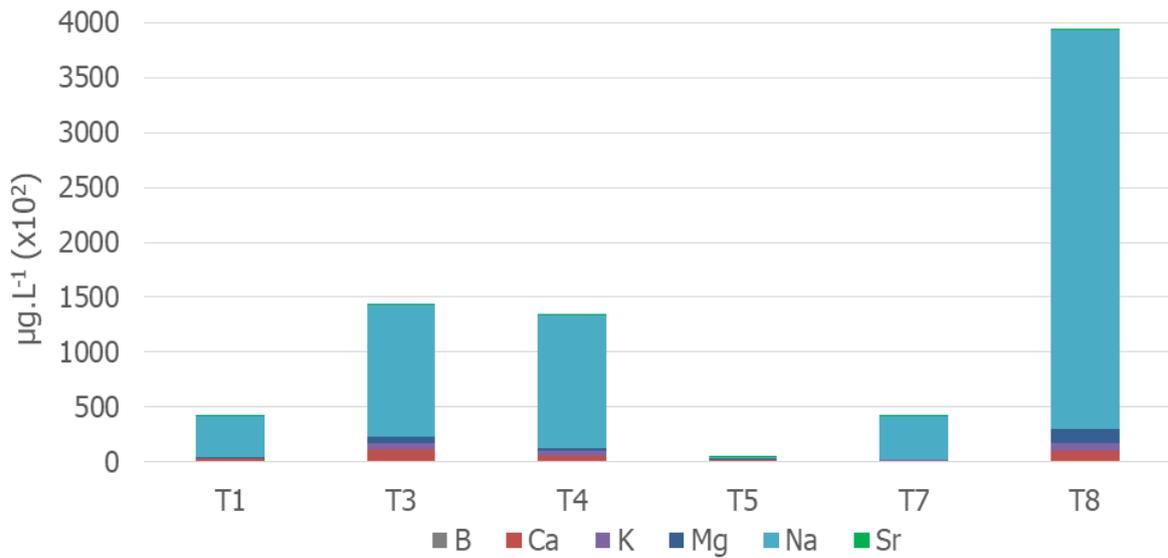
A**B**

Figura 1.3: EI₁ mayoritarios (A) y minoritarios (B) analizados en muestras de agua de bebida animal ($\mu\text{g.L}^{-1}$) provenientes de los tambos en estudio durante estación húmeda (EH).

A

AGUA DE BEBIDA ANIMAL (ES)

**B**

AGUA DE BEBIDA ANIMAL (ES)

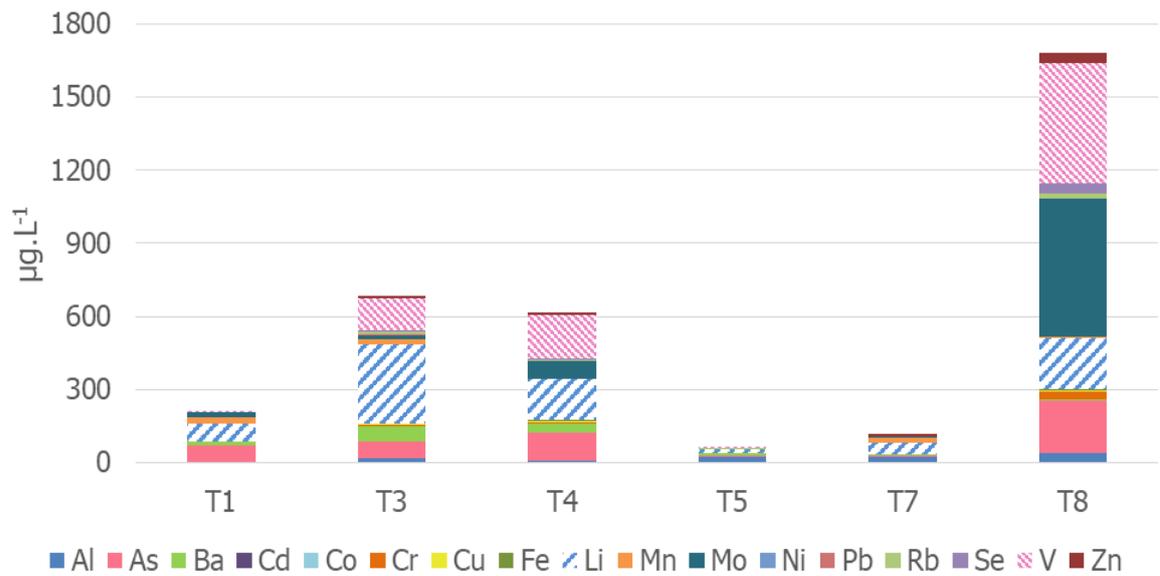


Figura 1.4: EI₁ mayoritarios (A) y minoritarios (B) analizados en muestras de agua de bebida animal ($\mu\text{g.L}^{-1}$) provenientes de los tambos en estudio durante estación seca (ES).

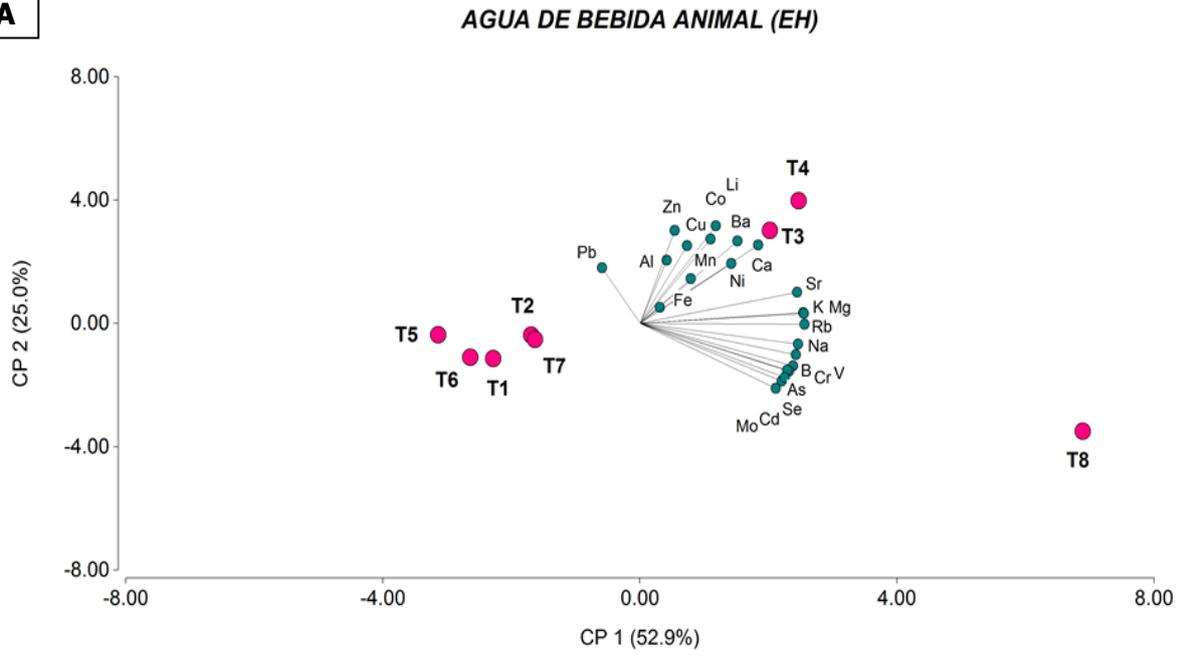
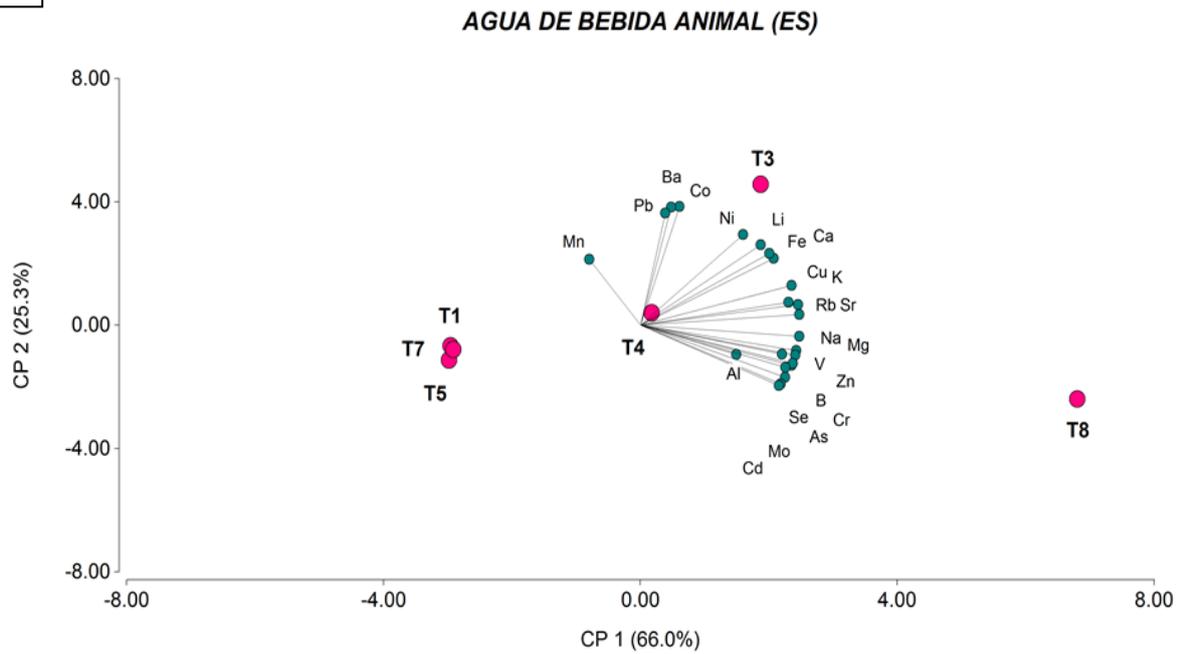
A**B**

Figura 1.5: ACP de los EI₁ analizados en muestras de agua de bebida animal provenientes de los tambos en estudio en estación húmeda (A) y seca (B).

Por otra parte, se observa que la composición elemental de las aguas de los tambos 1, 5 y 7 son semejantes y a su vez, son diferentes a las aguas del T3 y del T4. Las muestras del T3 se caracterizan y diferencian por poseer las concentraciones más altas de Ba, Ca, Co, Fe, Li, Ni y Pb (Ver autovectores e2 y estadística, Tabla 4 y 1 del ANEXO I).

Es importante remarcar que en ninguna de las muestras analizadas, se pudo determinar la concentración de Ag, Be, Hg y Tl.

La calidad del agua de bebida para los animales es un parámetro importante, ya que influye de manera significativa sobre la salud y la producción ganadera. La ingesta de agua de baja calidad ocasiona pérdida del apetito, trastornos digestivos, reducción en la producción láctea, alteración en la reproducción y en los casos más extremos, hasta la muerte de los animales. Sin embargo, los límites que determinan la calidad del agua son relativos, ya que los animales suelen acostumbrarse con el paso del tiempo a determinada calidad de agua (Sager, 2000). No obstante, la Ley 24.051 de Residuos Peligrosos (Decreto 831/93) establece niveles guía de algunos elementos inorgánicos, para calidad de agua de bebida animal.

Los valores de concentración de EI_1 obtenidos para las muestras de agua se compararon con los niveles guía propuestos por la legislación anteriormente mencionada (Tabla 5 del ANEXO I). Encontramos que el B excede el valor guía ($5000 \mu\text{g.L}^{-1}$) en las muestras del T8 en EH y ES, en 2,38 y 2,63 veces, respectivamente. El Mo también superó el valor guía ($500 \mu\text{g.L}^{-1}$) en las aguas recolectadas de este tambo, en 1,92 veces en la EH y 1,13 veces en la ES. A su vez, se observó que el V superaba el valor propuesto por la legislación ($100 \mu\text{g.L}^{-1}$) en casi el doble, en T3 y T4, en ambas estaciones y en 5 veces en el T8. Además, en el T4 se superó la concentración guía de Zn ($50 \mu\text{g.L}^{-1}$) en 1,3 veces en la EH.

De estos elementos podemos destacar fuentes naturales y antropogénicas a través de las cuales se pueden introducir en el ambiente y alcanzar el agua que consume el ganado. Teniendo en cuenta que las muestras provienen de pozo (agua subterránea), podemos decir que el B puede derivarse de la lixiviación de rocas y suelos que contienen borato y minerales de borosilicato (Velázquez *et al.*, 2011). A pesar de ser un constituyente minoritario de la mayoría de las aguas, puede incorporarse a este medio por descargas de aguas residuales industriales, domésticas y de actividades agrícolas (Seiler, 2007).

Por otra parte, el Mo es un elemento que está ampliamente distribuido en la corteza terrestre y es aplicado por el hombre en diversos productos. Se utiliza en aleaciones de acero, catalizadores, colorantes, lubricantes, inhibidores de corrosión, retardantes de llama, galvanoplastia (Bradl, 2005). Puede ingresar a fuentes de agua a través de lodos de planta depuradoras y en residuos de carbón. En bovinos, la administración de niveles elevados de Mo puede provocar deformidades en las articulaciones de las extremidades (Nordberg, 2001).

De acuerdo a la bibliografía sobre las posibles fuentes, el V se libera de forma natural a la atmósfera por la formación de polvo continental, aerosoles marinos, y las emisiones volcánicas, pero también puede alcanzar al agua por deposición húmeda y seca, la erosión del suelo y de

rocas. Las liberaciones antropogénicas de este elemento son mucho más pequeñas que las provenientes de fuentes naturales (Van Zinderen Bakker y Jaworski, 1980). A pesar de ello, puede ingresar al ambiente por lodos de aguas residuales urbanas y por ciertos fertilizantes. Los animales son susceptibles a la deficiencia y a la sobreexposición de V (Berg, 1963).

Finalmente, el Zn al encontrarse ampliamente distribuido en la naturaleza (Nordberg, 2001), puede ser introducido en el agua naturalmente por la erosión de rocas y del suelo. Además puede ser aportado por vías antrópicas tales como el uso de insecticidas, fertilizantes, abonos, quema de residuos (Bradl, 2005).

1.3.2 Muestras de suelo

Los valores de concentración promedio ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) y de desviación estándar de los elementos analizados en muestras de suelo de los tambos durante EH y ES, se encuentran en las Tablas 6 y 7 del ANEXO I. Las diferentes letras expresadas en estas tablas, indican diferencias significativas en la concentración de un elemento en particular entre los tambos.

En la Fig. 1.6 y 1.7 se muestra mediante gráficos de barras apiladas las concentraciones de los EI_1 analizados en las muestras de suelo ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) de los tambos en estudio, durante EH y ES. Nuevamente se han separado los elementos en dos gráficos según los niveles en los que se encontraban, mayoritarios (A) y minoritarios (B).

Por otra parte, en la Fig. 1.8 se encuentran los gráficos biplot realizados a partir del ACP en estación húmeda (A) y seca (B) de las muestras de suelo. Podemos observar que a través de ellos se explica el 66 % y el 77,9 % de la variabilidad total de los datos en EH y ES, respectivamente (Tabla 3 del ANEXO I).

Nuevamente, las muestras del T8 son las que más se diferencian del resto de los tambos, en ambas estaciones. En esta ocasión, resultan ser las muestras con concentraciones más bajas de los elementos analizados, en comparación con los otros tambos (Ver estadística, Tabla 6 y 7 del ANEXO I). A su vez, en EH las muestras del T5 y del T3 se diferencian mayormente por la concentración de B, Ca, Li, Mg (más altas en T5), Co y Pb (más altas en T3) (Ver autovectores e2 y estadística, Tabla 4 y 6 del ANEXO I).

En cuanto a la ES, podemos decir que la composición elemental de las muestras de T3 y T4 son similares. Además, las muestras del T5 se diferencian debido a la contribución de As, Li y Na a la discriminación, teniendo en cuenta los autovectores e2 (Tabla 4 del ANEXO I).

En ninguna de las muestras analizadas se pudo detectar Mo y Tl.

El contenido de metales y metaloides en el suelo está íntimamente relacionado con la composición de la roca madre, es consecuencia del desarrollo y evolución del suelo (Cano Parrilla *et al.*, 1997). Sin embargo, en suelos de uso agrícola la concentración de estos elementos puede ser incrementada por las mismas prácticas agrícolas o por actividades antrópicas desarrolladas en las proximidades de estos suelos, que pueden modificar los ciclos biogeoquímicos naturales de estos elementos o realizar un aporte directo de concentración al suelo (Yang *et al.*, 2002).

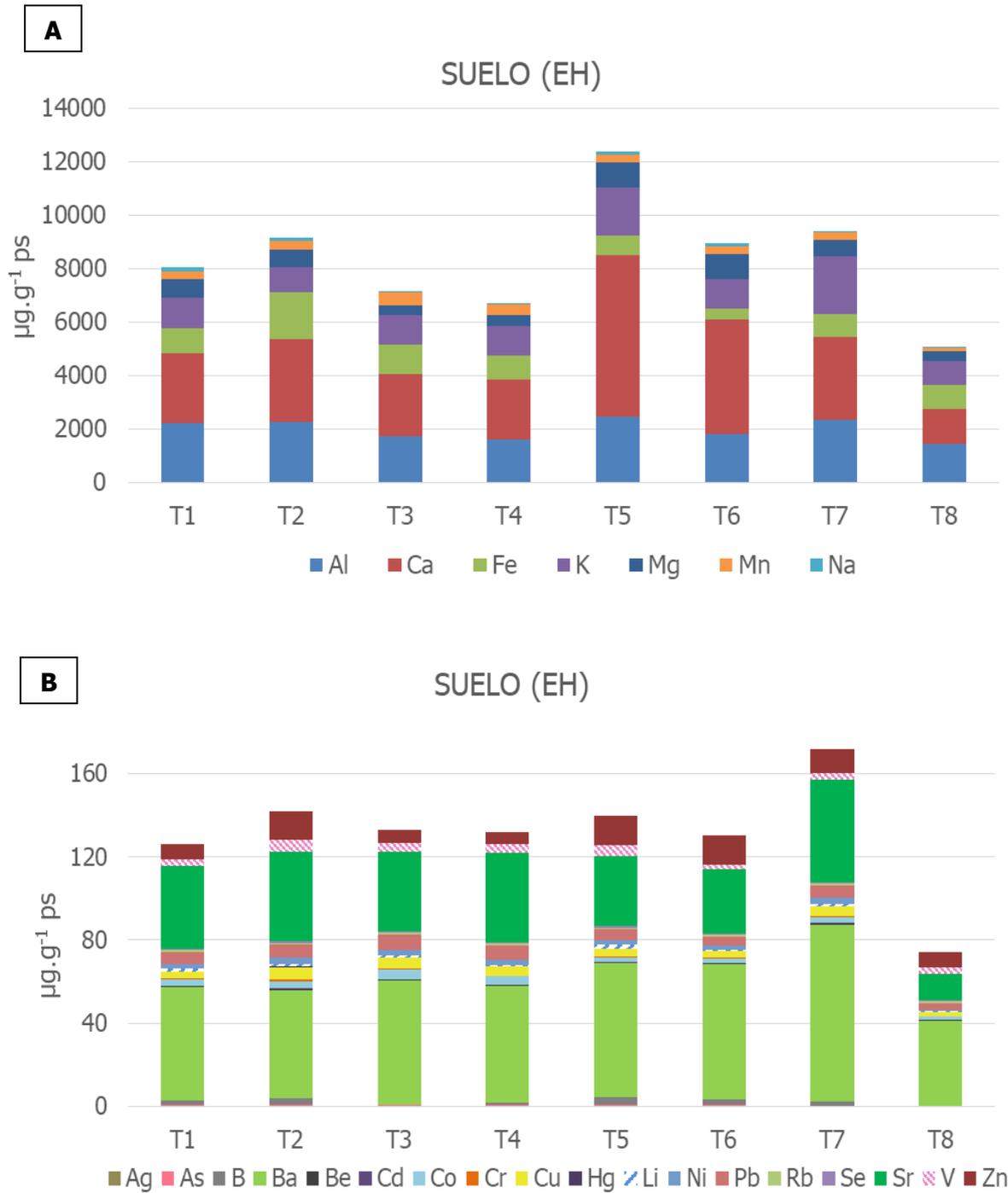


Figura 1.6: EI₁ mayoritarios (A) y minoritarios (B) analizados en muestras de suelo ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) provenientes de los tambos en estudio durante estación húmeda (EH).

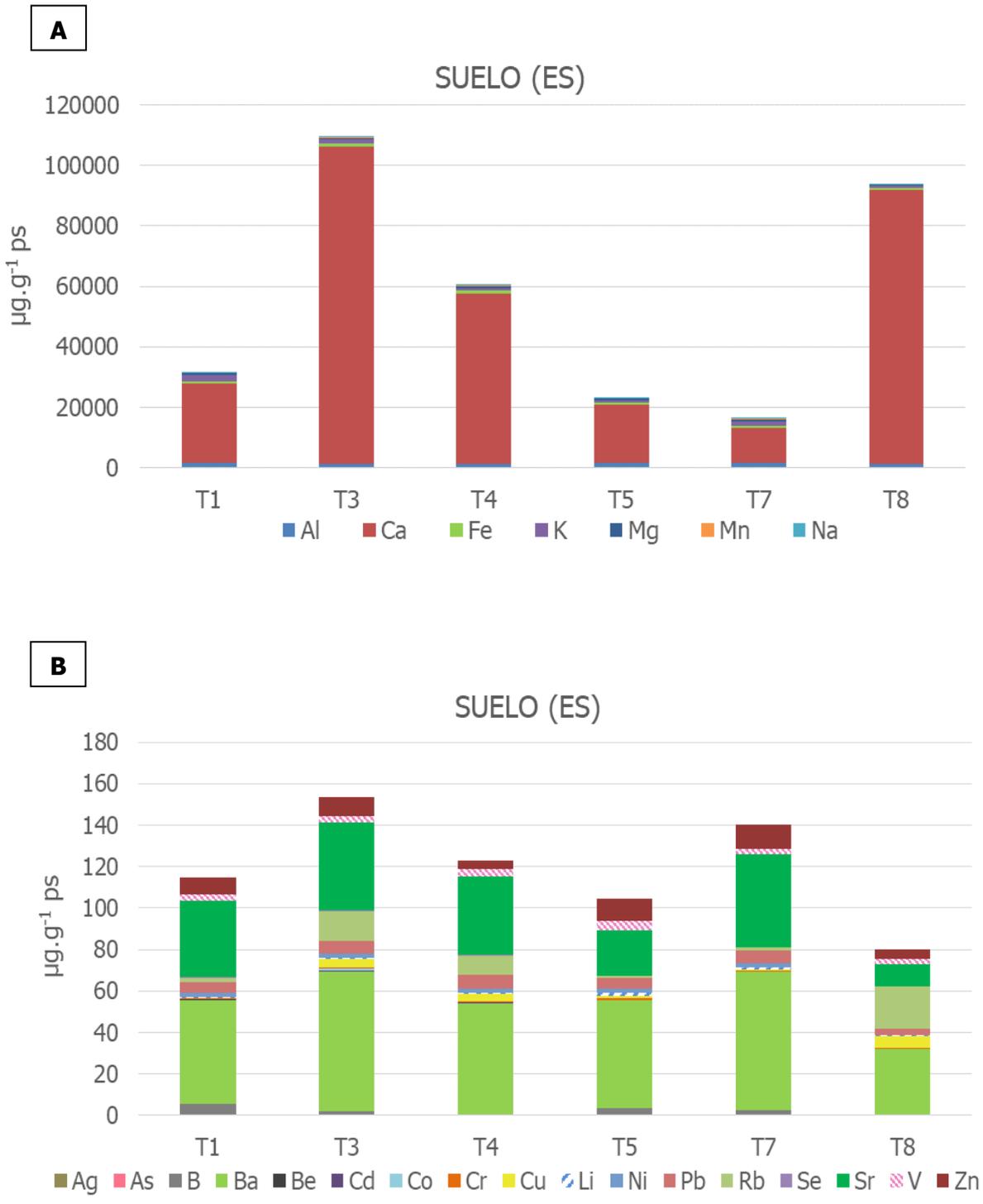
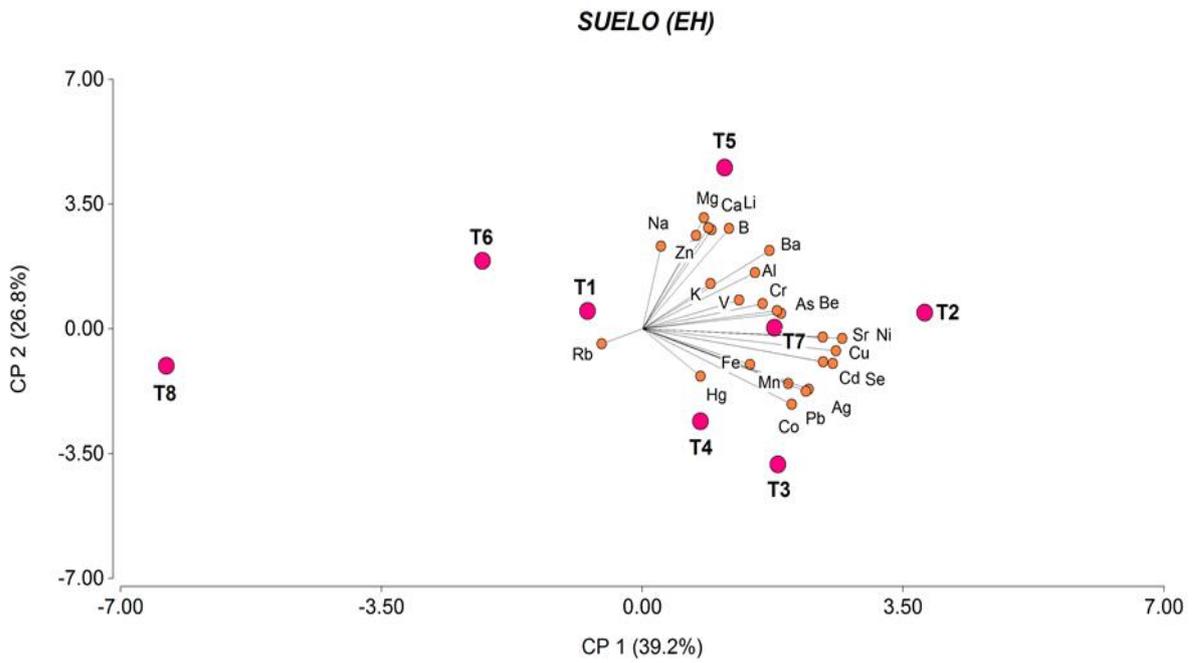


Figura 1.7: EI₁ mayoritarios (A) y minoritarios (B) analizados en muestras de suelo ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) provenientes de los tambos en estudio durante estación seca (ES).

A



B

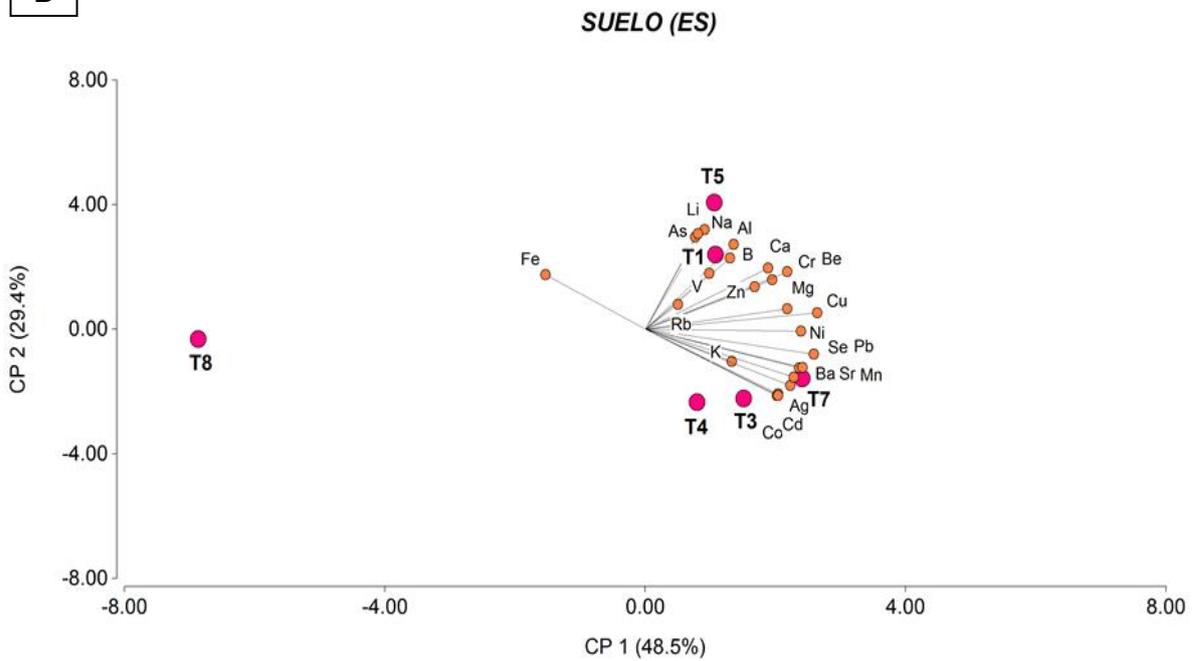


Figura 1.8: ACP de los EI₁ analizados en muestras de suelo provenientes de los tambos en estudio en estación húmeda (A) y seca (B).

Los valores de concentración de EI_1 obtenidos para las muestras de suelo se compararon con los niveles guía para calidad de suelo de uso agrícola, propuestos por la Ley 24.051 de Residuos Peligrosos (Decreto 831/93) (Tabla 5 del ANEXO I). Teniendo en cuenta estas directrices, el único elemento que superó el valor guía fue el B ($2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) en 1,65, 1,95 y 1,5 veces en T2, T5 y T6, respectivamente, durante la EH. En ES, también superaron el valor guía las muestras procedentes del T1 y T5 en 2,65 y 1,45 veces, respectivamente.

Este elemento, es ubicuo en la naturaleza y las mayores concentraciones se encuentran acumuladas en sedimentos y rocas. De estos, se libera al ambiente muy lentamente y a bajas concentraciones por procesos de desgaste natural. Además, puede ser aportado al suelo por el uso de plaguicidas y de abonos agrícolas.

1.3.3 Muestras de forraje

Los valores de concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) promedio y de desviación estándar, de los elementos analizados en muestras de forraje de los tambos durante EH y ES, se encuentran en las Tablas 8-13 del ANEXO I.

En la Fig. 1.9 y 1.10 se muestra mediante gráficos de barras apiladas las concentraciones de los EI_1 según el tipo de alimento ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), durante EH y ES, a modo de caracterizarlos. Se encuentran separados los elementos en dos gráficos según los niveles en los que se encontraban, mayoritarios (A) y minoritarios (B).

En la Fig. 1.11 se encuentran los gráficos biplot realizados a partir del ACP en estación húmeda (A) y seca (B) de los forrajes de cada tambo. Estos explican el 59,7 % y el 70,8 % de la variabilidad total de los datos en EH y ES, respectivamente (Tabla 3 del ANEXO I). Se han ocultado los rótulos de las variables para facilitar la visualización de la diferenciación que existe entre los distintos tipos de alimentos analizados.

Durante la EH, ocurre una diferenciación marcada según la composición elemental de muestras de maíz (M), maíz picado (MP), trigo (T), con respecto a las de alfalfa (A) y sorgo (S), independiente del tambo al cual pertenece el forraje. Esta diferenciación está dada principalmente por elementos como el As, B, Ba, Ca, Co, Fe y Sr, los cuales se encuentran en concentraciones más altas en las muestras que se ubican a la derecha del cero de la Fig. 1.11 A (Ver autovectores e1 Tabla 4 del ANEXO I).

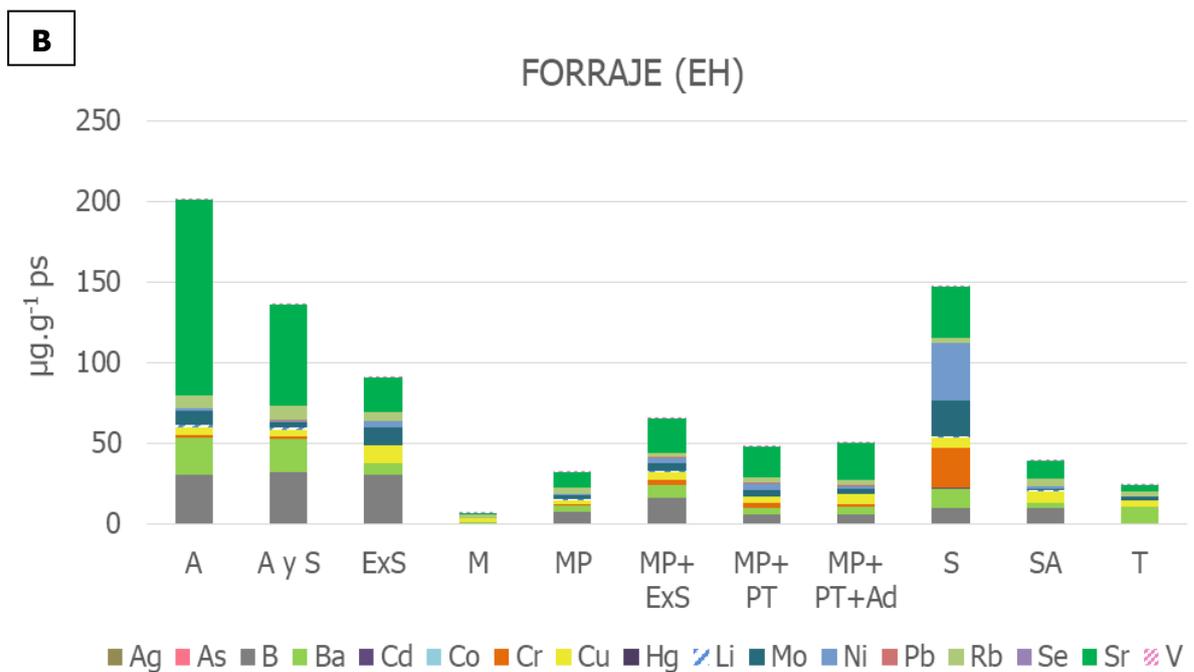
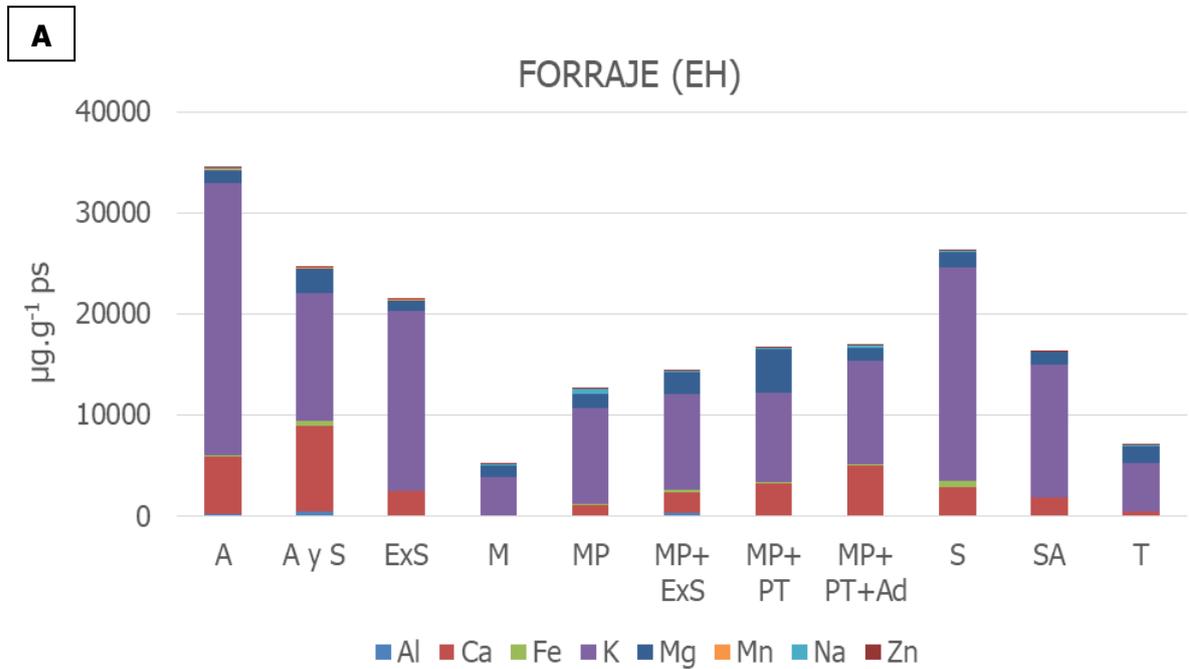


Figura 1.9: EI₁ mayoritarios (A) y minoritarios (B) analizados en muestras de forraje ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) provenientes de los tambos en estudio durante estación húmeda (EH). Alfalfa (A), alfalfa y sorgo (A y S), expeller de soja (ExS), maíz (M), maíz picado (MP), maíz picado+expeller de soja (MP+ExS), maíz picado+pellet de trigo (MP+PT), maíz picado+pellet de trigo+aditivos (MP+PT+Ad), sorgo (S), trigo (T).

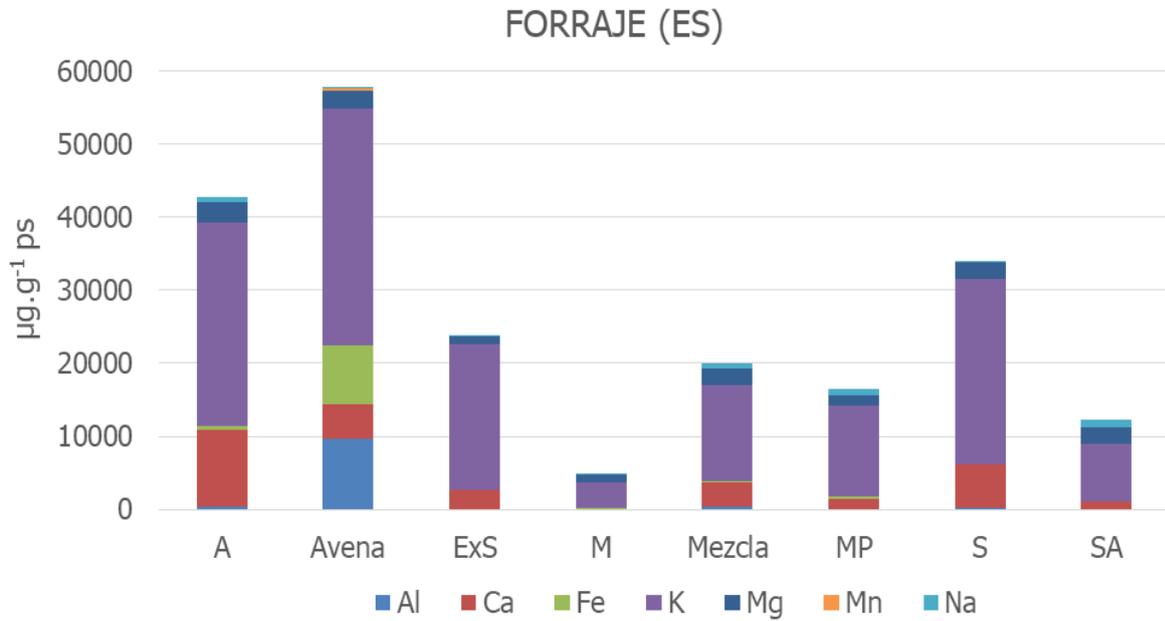
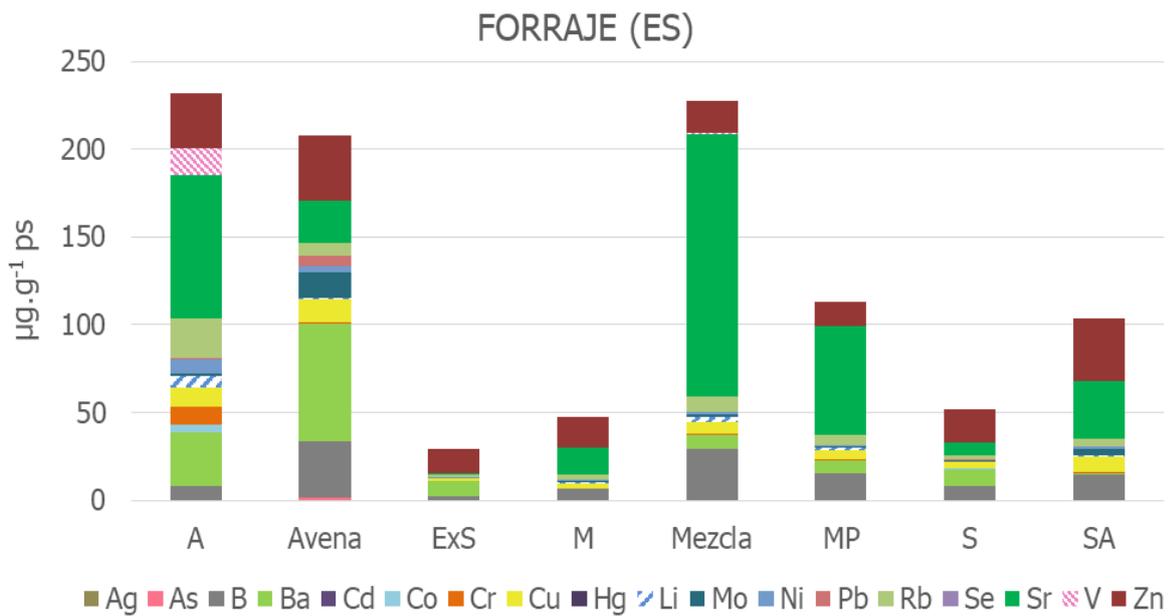
A**B**

Figura 1.10: EI₁ mayoritarios (A) y minoritarios (B) analizados en muestras de forraje ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) provenientes de los tambos en estudio durante estación seca (ES). Alfalfa (A), avena, expeller de soja (ExS), maíz (M), Mezcla, maíz picado (MP), sorgo (S), semilla de algodón (SA).

Cabe destacar que no todos los forrajes son producidos en el mismo tambo donde son consumidos por el ganado; pero generalmente provienen de zonas cercanas. También podemos observar que muestras de expeller de soja (ExS), maíz picado+expeller de soja (MP+ExS), maíz picado+pellet de trigo (MP+PT), maíz picado+pellet de trigo+aditivos (MP+PT+Ad) y de semilla de algodón (SA), se encuentran ubicados en el gráfico próximos al valor cero de los ejes, indicando que no están caracterizados fuertemente por las variables. A su vez, podemos decir que la muestra S (T2) se diferencia de las muestras de A y de las de A y S de los tambos; S (T2) posee mayor contenido de Cd, Cr y Ni, y las otras muestras, Li, Na y Sr (Ver autovectores e2 Tabla 4 del ANEXO I).

En ninguno de los alimentos analizados se pudo determinar la concentración de Be y Tl.

Por otra parte, en la ES, no es tan marcada la diferencia entre el patrón inorgánico de las muestras de M y MP de las de A. Podemos observar que la avena (T4), es el alimento que más se diferencia del resto por poseer concentraciones más elevadas de Al, As, Co, Cr, Fe, Mn, Pb, Rb y V (Ver autovectores e1 Tabla 4 del ANEXO I). A su vez, las muestras de alfalfa del T3, T4 y T8 junto con el ExS (T4) están fuertemente caracterizadas por elementos como el B, Ca y Sr (Ver autovectores e2 Tabla 4 del ANEXO I).

El muestreo de forrajes se realiza usualmente para obtener información confiable acerca de su calidad nutricional o del contenido de posibles contaminantes, como es el caso de algunos metales y metaloides. En Argentina no existe una legislación que fije valores máximos para elementos inorgánicos en alimentación animal.

La Unión Europea establece valores máximos para As, Cd, Hg y Pb en alimentos destinados a consumo animal (Reglamento UE N° 1275/2013). Al comparar los resultados obtenidos en este estudio con los de la legislación (Tabla 5 del ANEXO I), encontramos que el Hg superó cuatro veces el valor establecido en muestras de maíz (T4) y de alfalfa (T7) durante EH. La presencia de Hg en este tipo de muestras puede deberse a que es un elemento natural ampliamente distribuido en el ambiente y puede tomar contacto fácilmente con el aire, suelo o agua. Ingresa al ambiente como resultado de la degradación de minerales en rocas y en el suelo a consecuencia de la exposición al viento y al agua y de la actividad volcánica. Las actividades humanas han producido la liberación adicional del Hg, principalmente por el uso de combustibles fósiles, la minería y de la incineración de desechos sólidos (Streets *et al.*, 2011).

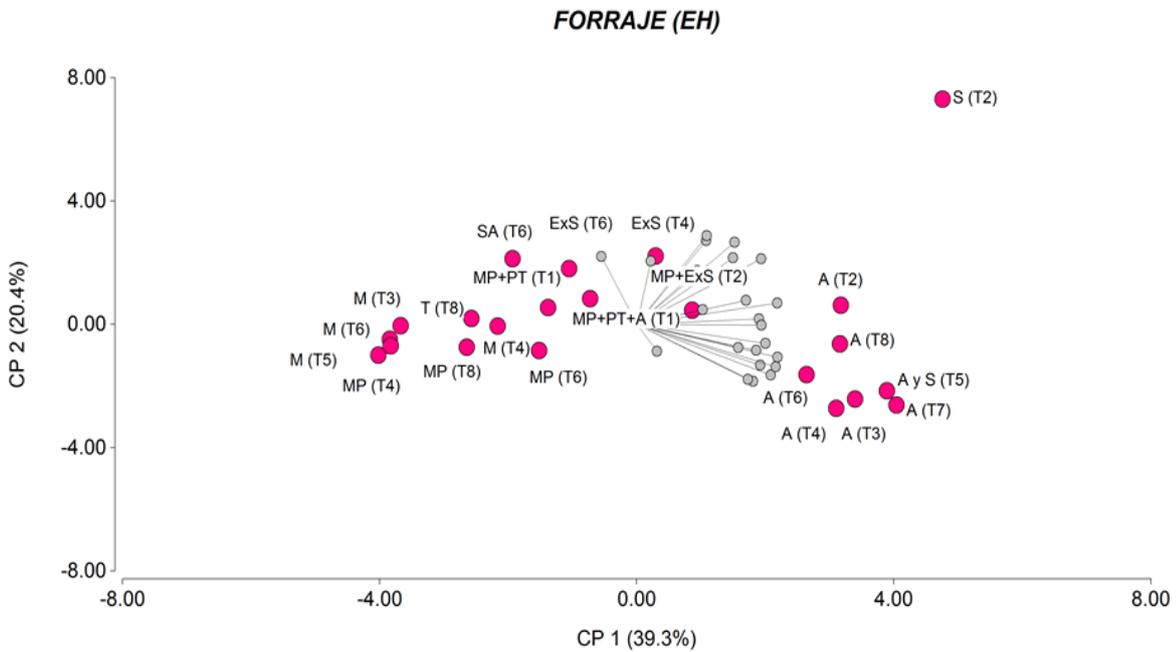
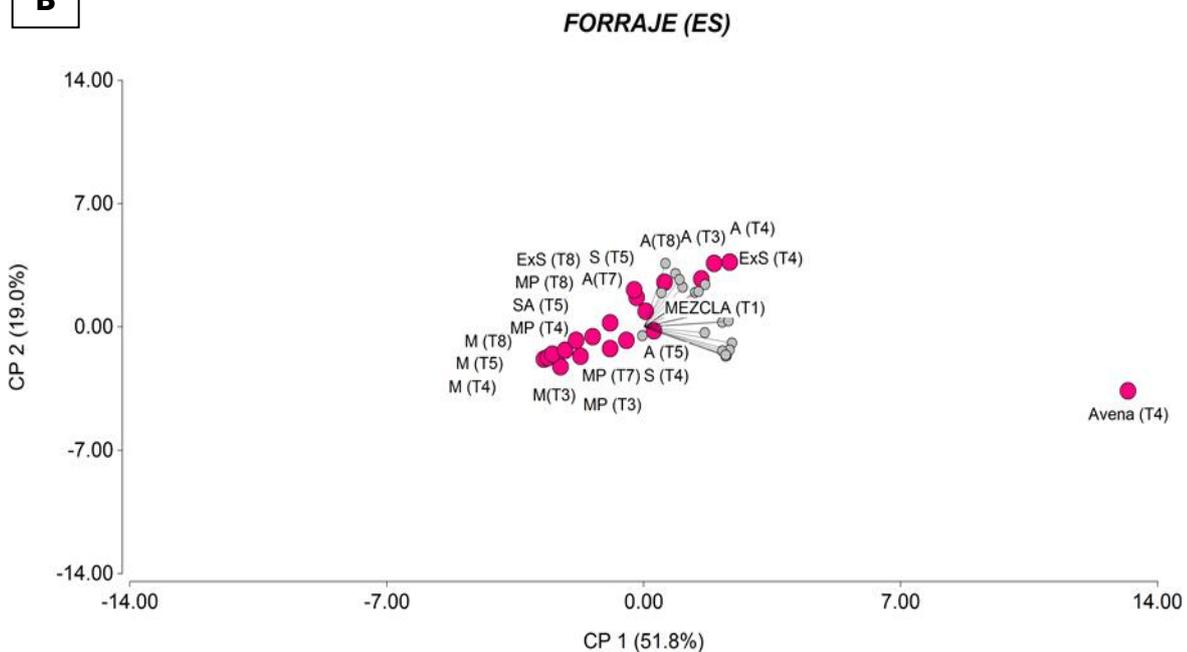
A**B**

Figura 1.11: ACP de los EI₁ analizados en muestras de forraje provenientes de los tambos en estudio en estación húmeda (A) y seca (B). Alfalfa (A), alfalfa y sorgo (A y S), Avena, expeller de soja (ExS), maíz (M), maíz picado (MP), maíz picado+expeller de soja (MP+ExS), maíz picado+pellet de trigo (MP+PT), maíz picado+pellet de trigo+aditivos (MP+PT+Ad), sorgo (S), semilla de algodón (SA), trigo (T).

1.3.4 Muestras de leche

Los valores de concentración ($\mu\text{g.g}^{-1}$) promedio y de desviación estándar de los elementos analizados en muestras de leche de los tambos durante EH y ES, se encuentran en las Tablas 14 y 15 del ANEXO I. Las diferentes letras expresadas en estas tablas, indican diferencias significativas en la concentración de un elemento en particular entre los tambos.

En la Fig. 1.12 y 1.13 se encuentran caracterizadas las muestras de leche de los distintos tambos en cuanto a las concentraciones de EI_1 ($\mu\text{g.g}^{-1}$), durante EH y ES. Los elementos se distribuyeron en dos gráficos según los niveles en los que se encontraban, mayoritarios (A) y minoritarios (B).

Además, en la Fig. 1.14 se encuentran los gráficos biplot realizados a partir del ACP en estación húmeda (A) y seca (B), de las muestras de leche. Estos explican el 64,6 % y el 68,9 % de la variabilidad total de los datos en EH y ES, respectivamente (Tabla 3 del ANEXO I).

Inicialmente, podemos observar que durante la EH las muestras de leche se dividen en dos grupos en cuanto a su composición elemental, uno conformado por los tambos 1, 2, 7 (CBA-NE) y 5 (Catamarca) y el otro, integrado por las muestras del T3, T4 (Santa Fe), T6 (Catamarca) y T8 (CBA-SUR).

A su vez, se observa una mayor diferenciación entre las muestras provenientes del T7 y del T3, debida principalmente a las concentraciones más altas de Cu y Ni en el T7 y de Ca, Fe y Na en el T3 (Tabla 4 y 14 del ANEXO I). Por otra parte, la leche del T8 se diferencia de la del T3 y T4, debido a que presenta concentraciones más altas de B y Rb y más bajas de Al, Co, Li y Mn que las muestras del T3 y T4 (Tabla 4 y 14 del ANEXO I).

En la ES, podemos notar dos grupos, uno formado por las leches del T1, T7 (CBA-NE), T3 (Santa Fe) y T5 (Catamarca) y el otro por las muestras del T4 (Santa Fe) y T8 (CBA-SUR). Estos se diferencian especialmente por poseer concentraciones más altas en elementos como Al, Ba, Li y Mn en los tambos 4 y 8 (Tabla 4 y 15 del ANEXO I). A su vez, las muestras del T4 se diferencian de las del T8 por poseer concentraciones más elevadas de Ca, K y Mg (Tabla 4 y 15 del ANEXO I).

La leche proveniente del T8 se destaca por ser la única en la cual se pudo cuantificar niveles de As, obteniéndose un valor de $0,04 \mu\text{g.g}^{-1}$ ps. En esta región, se han reportado valores de $0,014$ – $0,055 \mu\text{g.g}^{-1}$ de As en muestras de leche (Pérez-Carrera y Fernández-Cirelli, 2005; 2016), que son similares a los obtenidos en el presente trabajo.

A su vez, el contenido de este metaloide presenta un amplio rango de valores en leches provenientes de distintas partes del mundo, que van desde $0,0013$ y $0,12 \mu\text{g.g}^{-1}$ en Dinamarca (Hermansen *et al.*, 2005), $0,19 \mu\text{g.g}^{-1}$ en la región de Calabria, Italia (Licata *et al.*, 2004) y de $0,017$ – $0,058 \mu\text{g.g}^{-1}$ en España (Cava-Montesinos *et al.*, 2003).

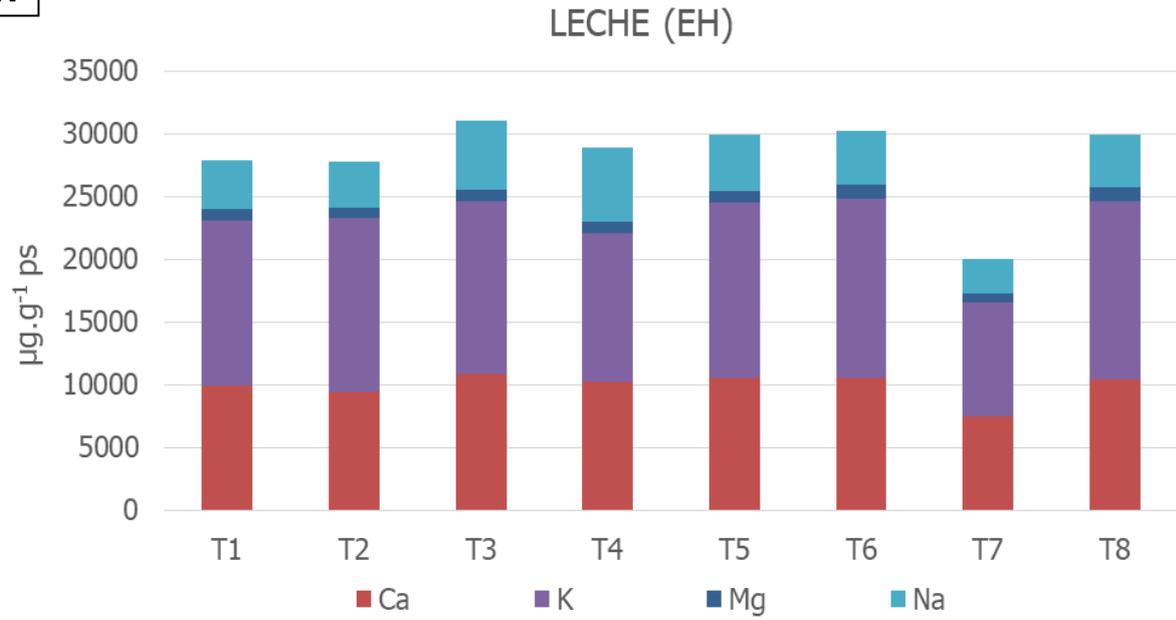
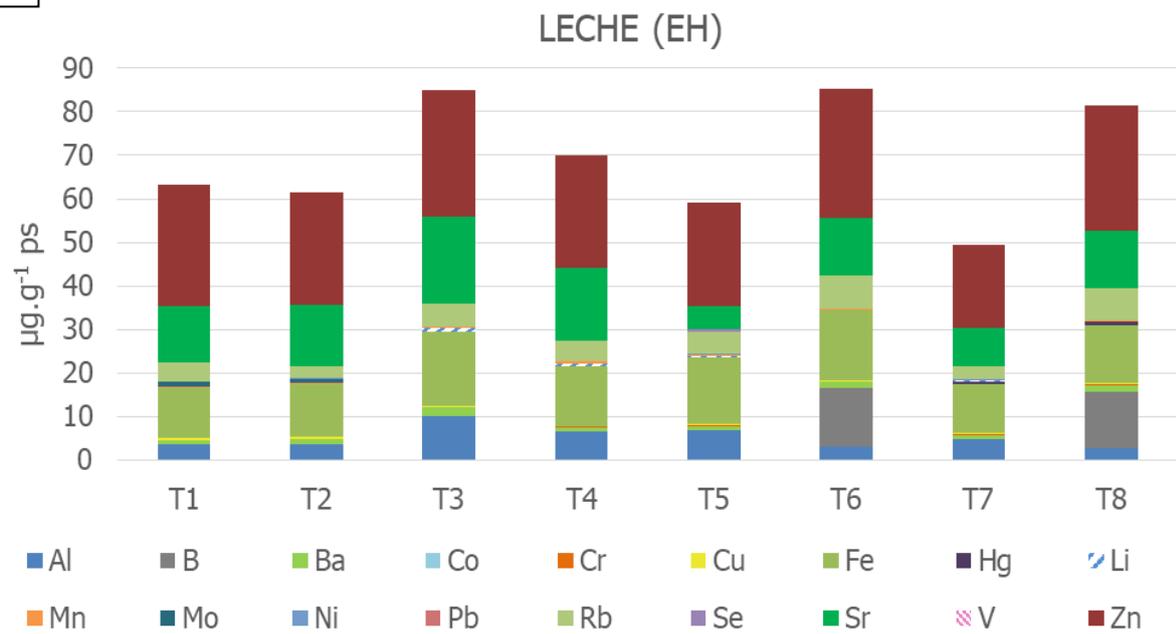
A**B**

Figura 1.12: EI₁ mayoritarios (A) y minoritarios (B) analizados en muestras de leche ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) provenientes de los tambos en estudio durante estación húmeda (EH).

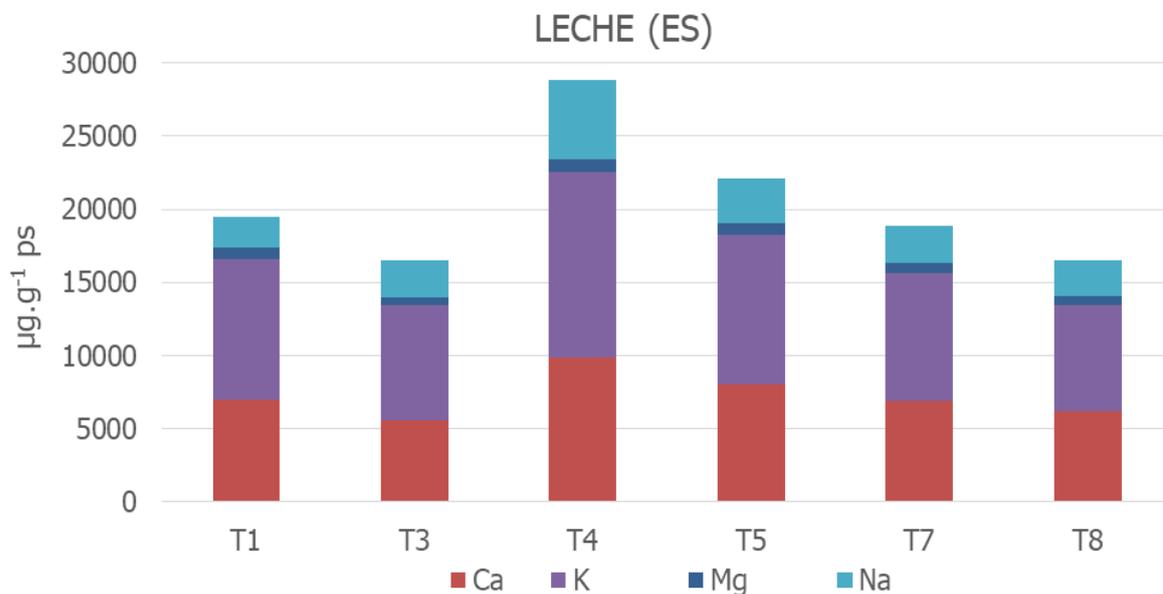
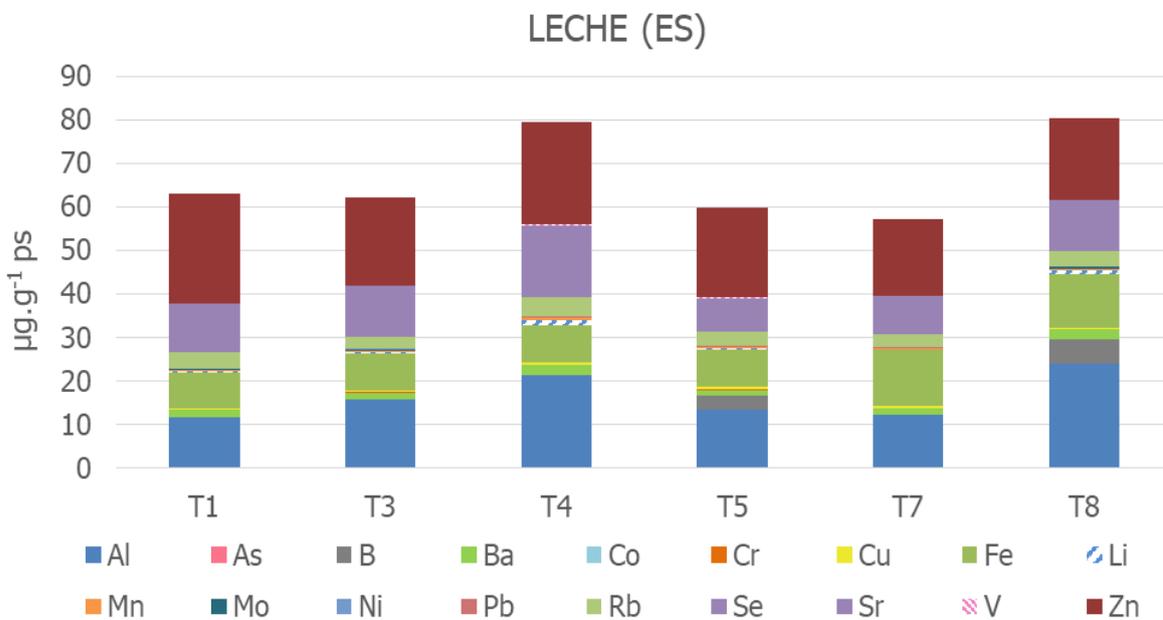
A**B**

Figura 1.13: EI₁ mayoritarios (A) y minoritarios (B) analizados en muestras de leche ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) provenientes de los tambos en estudio durante estación seca (ES).

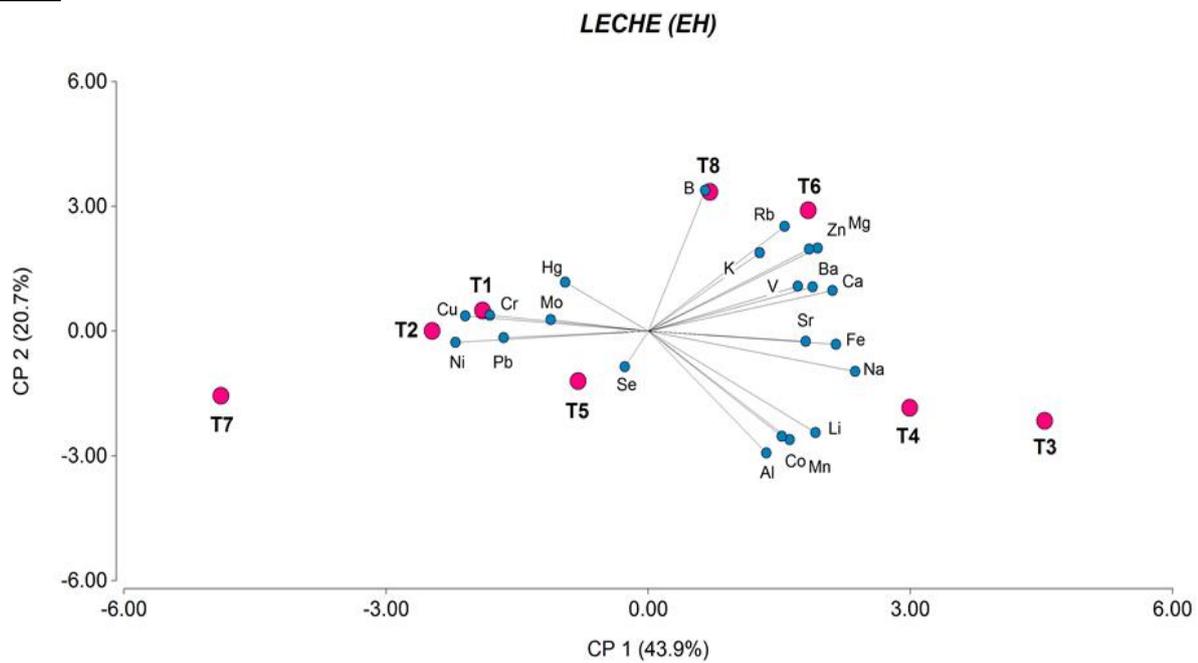
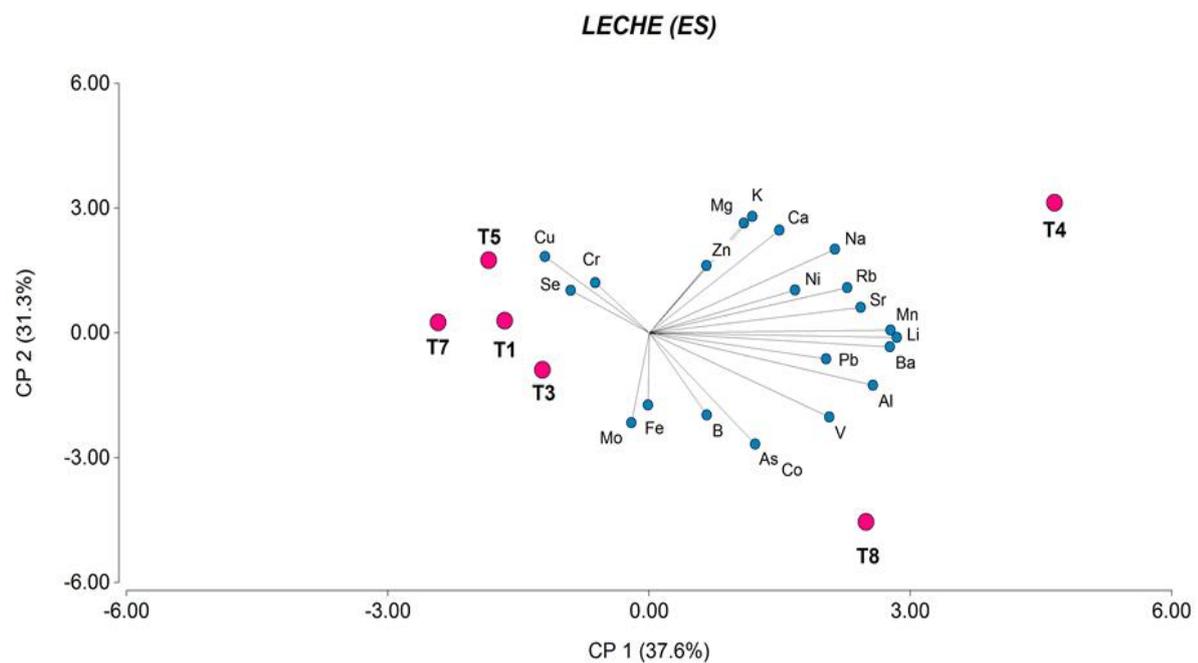
A**B**

Figura 1.14: ACP de los EI₁ analizados en muestras de leche provenientes de los tambos en estudio en estación húmeda (A) y seca (B).

Cabe destacar que también se cuantificó Hg y Pb en las muestras de leche, metales que generan gran preocupación ambiental y por la salud humana. El Hg estuvo presente en muestras de leche de T7 y T8, en concentraciones de 0,8 y 0,9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente, durante la EH. No hemos encontrado en la literatura niveles similares de Hg en leche. Por otra parte, en las leches analizadas el Pb tomó valores que oscilaron entre 0,03 y 0,07 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Estos valores son comparables con los encontrados por Solis *et al.* (2009), que determinó en leches de México entre 0,05 y 0,08 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de Pb, mientras que Potocnik *et al.* (2016) reportó valores superiores a los de este estudio, de 0,35 a 0,76 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en leches de Eslovenia.

Las variaciones en las concentraciones de elementos inorgánicos presentes en la leche dependen de varios factores, entre los que se destacan ambientales, humanos, genéticos, etc. Existen diversas investigaciones que relacionan la concentración de metales en la leche con prácticas de manejo, razas de animales, zona geográfica, climatología, entre otros factores (Dobrzarnski *et al.*, 2005; Lante *et al.*, 2006; Gutiérrez-Chávez, 2009).

La leche aporta elementos minerales esenciales para el organismo humano, como lo son el Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na y Zn y a su vez, es la fuente más importante de Ca biodisponible de la dieta (Closa *et al.*, 2003). Sin embargo, puede contener elementos tóxicos para los humanos en cantidades superiores a las permitidas, lo que puede favorecer la aparición de trastornos de la salud, como la pérdida de apetito, fertilidad y potencialmente procesos cancerígenos. Por ello, existen normas que establecen niveles máximos permitidos de algunos elementos en las muestras de leche, como ser la reglamentación técnica del MERCOSUR, sobre límites máximos de contaminantes inorgánicos en la leche (MERCOSUR/GMC/RES. Nº 12/11). En ella se establecen niveles máximos para As, Cd y Pb. Ninguna de las muestras de leche analizadas, exceden los límites máximos establecidos por la regulación anteriormente mencionada. Cabe destacar que los niveles de Hg en leche no están reglamentados por ésta entidad.

1.3.5 Composición isotópica de las muestras

Los resultados obtenidos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en muestras de RSA y suelo de los tambos en estudio, se encuentran en las Tablas 17 y 18, del ANEXO I. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores del isótopo entre los distintos tambos, en una determinada estación. Diferentes letras minúsculas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores del isótopo de un mismo tambo, entre las estaciones de muestreo. No se pudo determinar los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en algunas muestras de sedimento y RSA, debido al contenido insuficiente de N presente en las mismas.

En las muestras de RSA, se observaron diferencias significativas en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre los distintos tambos y entre las estaciones. Los valores de este isótopo van denotando un aumento en el siguiente orden: T5 < T3 y T6 < T1 y T2 < T4 < T8, en EH y T1 y T5 < T4 y T7 < T3 < T8, en ES. Generalmente, $\delta^{13}\text{C}$ presenta valores más altos durante ES con respecto a la EH, excepto en los tambos 1 y 4.

En cuanto al $\delta^{15}\text{N}$ para las muestras de RSA, observamos que en ambas estaciones, las muestras de T3 y T4 presentan los valores más altos de este isótopo, seguidos por el T8 y finalmente por T1, T5 y T6. Las variaciones en los valores de $\delta^{15}\text{N}$, permite la discriminación de una serie de fuentes de nitrógeno en el agua. Los valores determinados en T3 y T4 (16,1-19,7 ‰), podrían indicarnos que el agua que consume el ganado en estos tambos, está en contacto con sistemas sépticos o con estiércol (Xue *et al.*, 2009).

Las muestras de suelo durante EH, presentaron valores más altos de $\delta^{13}\text{C}$ en los tambos 1, 2, 3, 4, 7 y 8 y en los tambos 5 y 6, los valores más bajos. En cuanto a la ES, los valores más altos de $\delta^{13}\text{C}$ se encontraron en los tambos 1, 3, 4 y 7, seguidos por el T8 y finalmente, el T5. En la mayoría de los tambos, el valor de este isótopo fue superior durante EH, con excepción del T1, que no mostró diferencias significativas entre las estaciones. Teniendo en cuenta que no se pudo determinar $\delta^{15}\text{N}$ en los suelos de todos los tambos, en EH no hubo diferencias significativas entre los valores de este isótopo en T5 y T6. Durante ES, los valores se distribuyeron en orden creciente, como se detalla a continuación: T1 y T5 < T7 < T3 < T4.

El análisis del $\delta^{15}\text{N}$ de suelos es muy complejo, debido a que esta matriz recibe múltiples aportes de nitrógeno y suceden numerosas transformaciones internas con eventos de fraccionamiento isotópico, como por ejemplo, mineralización, volatilización, nitrificación, desnitrificación, acción microbiana, etc. (Evans, 2007). El valor de $\delta^{15}\text{N}$ resulta un parámetro integrado de los procesos que ocurren en el suelo (Robinson, 2001).

En las muestras de forraje, se analizaron los isótopos de carbono y nitrógeno de cada tipo de alimento que consumía el ganado (Tabla 19 del ANEXO I). En la Fig. 1.15 se muestran los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de los distintos forrajes en estación húmeda (A) y seca (B). Este isótopo, es útil para la discriminación entre plantas que utilizan diferentes vías fotosintéticas, identificándose dos grandes grupos, las plantas C3 (ej.: hierbas) y plantas C4 (ej.: maíz). Las primeras toman valores entre -30 a -22 ‰ y las segundas, entre -14 a -10 ‰ (Cerling *et al.*, 1997). En nuestro estudio, las muestras de maíz y maíz picado, mostraron valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -12,0 a -10,8 ‰, las de sorgo entre -12,2 a -11,8 ‰, las de alfalfa entre -30,3 a -28,0 ‰, las de expeller de soja entre -27,8 a -26,7 ‰, la de avena de -26,5 ‰ y la de trigo de -26,0 ‰.

Con estos resultados y según lo indicado en la literatura, las muestras de maíz, maíz picado y sorgo corresponden a plantas C4 y las muestras de alfalfa, expeller de soja, avena y trigo a plantas C3. En cuanto a los alimentos mezcla (C3+C4), observamos que los que contienen maíz + una planta C3, poseen valores de $\delta^{13}\text{C}$ intermedios a los correspondientes a plantas C3 y C4 (-17,4 a -14,1 ‰) y que la alfalfa junto al sorgo, da valores de $\delta^{13}\text{C}$ dentro del rango de plantas C3 (-28,6 ‰).

Por otra parte, en la Fig. 1.16 se muestran los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de los distintos forrajes de los tambos en estación húmeda (A) y seca (B). Este isótopo presenta gran variabilidad en cada tipo de alimento según el tambo al cual pertenece. El maíz y el maíz picado, presentaron valores entre 1,3 y 14,8 ‰, encontrándose los valores más elevados en muestras pertenecientes a los

tambos 3 y 4, durante la ES. El sorgo presentó valores entre 3,3 y 5,9 ‰, tomando el valor más alto en la muestra del T4 en ES. La alfalfa presentó valores entre 0,0 y 11,7 ‰, con valores más altos en la muestra del T7 en EH. El expeller de soja, presentó valores entre 0,5 y 2,1 ‰, con valores más altos en la muestra del T6 en EH. La avena tomó un valor de 5,4 ‰ (T4, ES) y el trigo de 3,6 ‰ (T8, EH).

$\delta^{15}\text{N}$ provee una noción acerca del régimen de fertilización que se ha aplicado a los cultivos, proporcionando un valor de -2 y 2 ‰ los fertilizantes sintéticos y, 10 y 20 ‰ los abonos basados en estiércol (Vitoria *et al.*, 2004; Bateman *et al.*, 2007). Con esto, podemos decir que el maíz del T3 y del T4 (ES), junto con la alfalfa del T7 (EH), recibieron durante su cultivo un aporte de abono orgánico de origen animal.

El estiércol que se genera en las unidades de producción lechera suele ser utilizado para mejorar las propiedades del suelo, ya que aporta cantidades considerables de N y otros nutrientes esenciales para los cultivos (López-Calderón *et al.*, 2015). En regiones productoras de leche es importante contar con áreas agrícolas, en las cuales se reciclen los nutrientes excretados por el bovino lechero, de lo contrario se generan riesgos de contaminación del agua por exceso de N (Martínez *et al.*, 2006). Esto puede relacionarse con los valores elevados de $\delta^{15}\text{N}$ determinados en muestras de RSA de T3 y T4, lo que nos habla de las prácticas agrícolas desempeñadas en estos recintos y una posible contaminación del agua de bebida animal con excrementos.

A su vez, podemos inferir que la alfalfa de los tambos 3 (EH), 4 (ES), 6 (EH) y la soja (expeller) de los tambos 4 (ES y EH) y 8 (ES), fueron fertilizados químicamente de acuerdo a los valores obtenidos de $\delta^{15}\text{N}$. El cultivo de soja es uno de los cultivos agrícolas con mayores requerimientos en cuanto a N, P, K y S (Andrade *et al.*, 2000). A su vez, la alfalfa es un cultivo que requiere grandes cantidades de N, P, Ca y S (Fontanetto *et al.*, 2011). Cuando los suelos utilizados para cultivo son deficientes en estos elementos, se utilizan fertilizantes para mantener o incrementar los rendimientos, la rentabilidad del cultivo y los balances de nutrientes en el suelo.

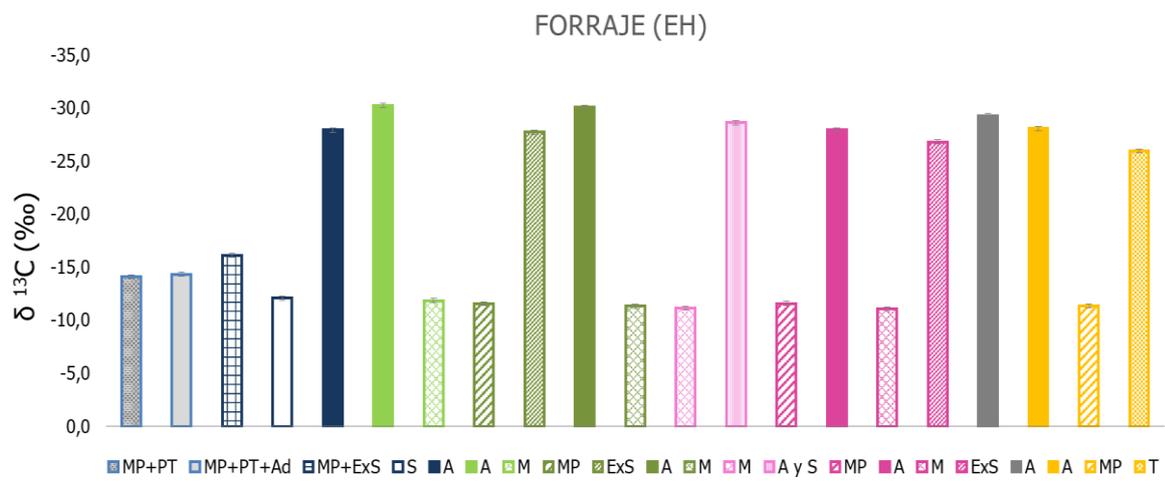
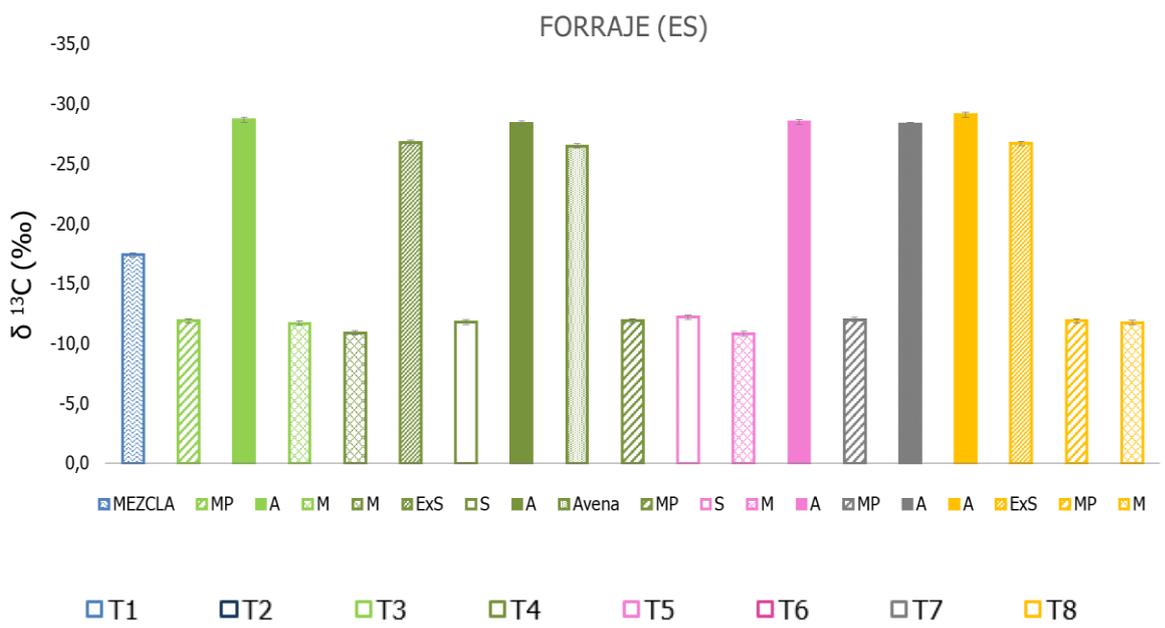
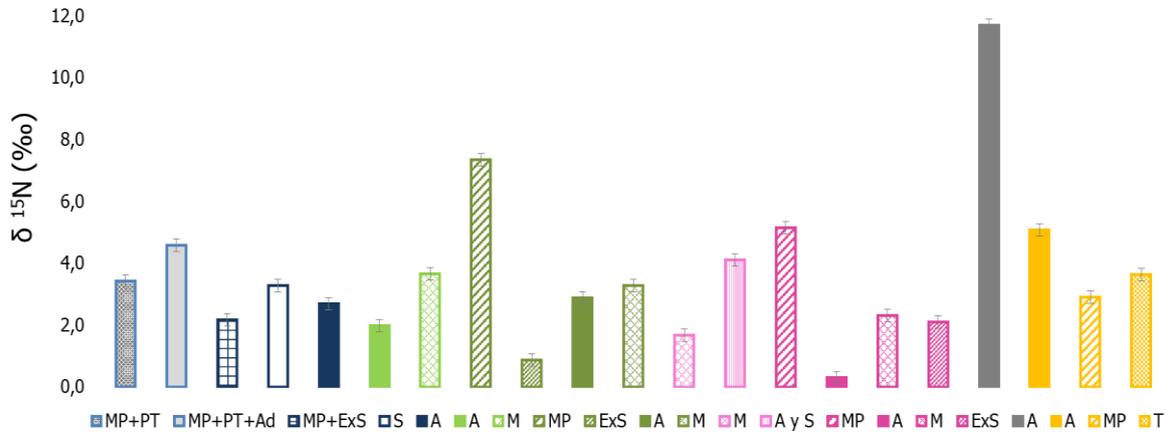
A**B**

Figura 1.15: $\delta^{13}\text{C}$ de los distintos forrajes de los tambos en estación húmeda (A) y seca (B). Alfalfa (A), alfalfa y sorgo (A y S), Avena, expeller de soja (ExS), maíz (M), maíz picado (MP), maíz picado+expeller de soja (MP+ExS), maíz picado+pellet de trigo (MP+PT), maíz picado+pellet de trigo+aditivos (MP+PT+Ad), MEZCLA, sorgo (S), trigo (T).

A

FORRAJE (EH)



B

FORRAJE (ES)

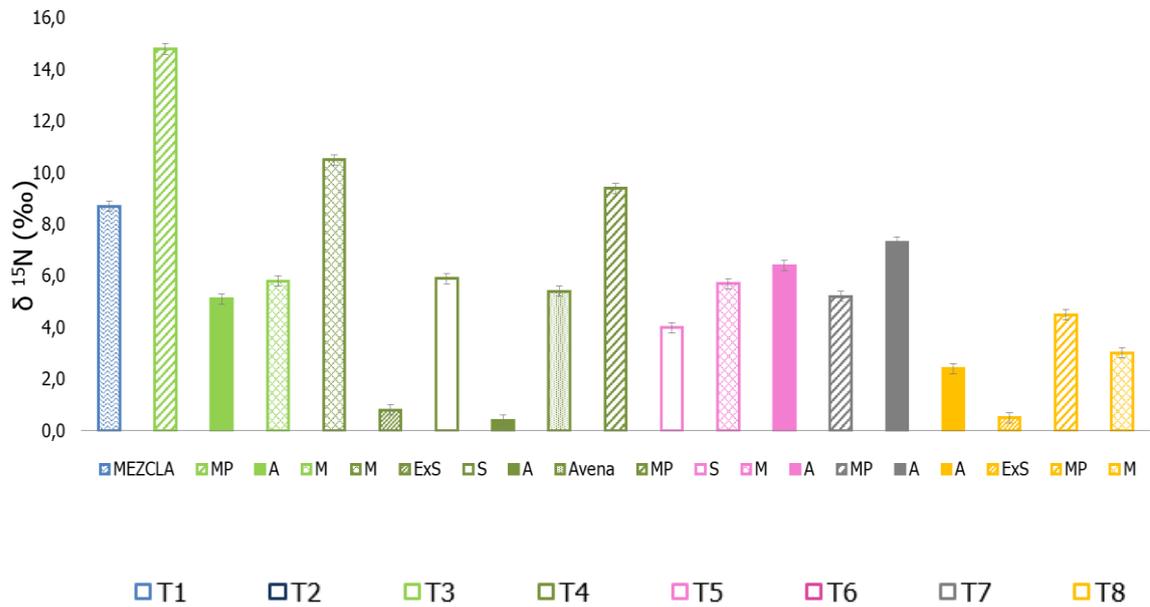


Figura 1.16: δ¹⁵N de los distintos forrajes de los tambos en estación húmeda (A) y seca (B). Alfalfa (A), alfalfa y sorgo (A y S), Avena, expeller de soja (ExS), maíz (M), maíz picado (MP), maíz picado+expeller de soja (MP+ExS), maíz picado+pellet de trigo (MP+PT), maíz picado+pellet de trigo+aditivos (MP+PT+Ad), MEZCLA, sorgo (S), trigo (T).

Finalmente, en la Fig. 1.17 se muestran los valores de $\delta^{13}\text{C}$ (A) y $\delta^{15}\text{N}$ (B) de las muestras de leche de los diferentes tambos en EH y ES.

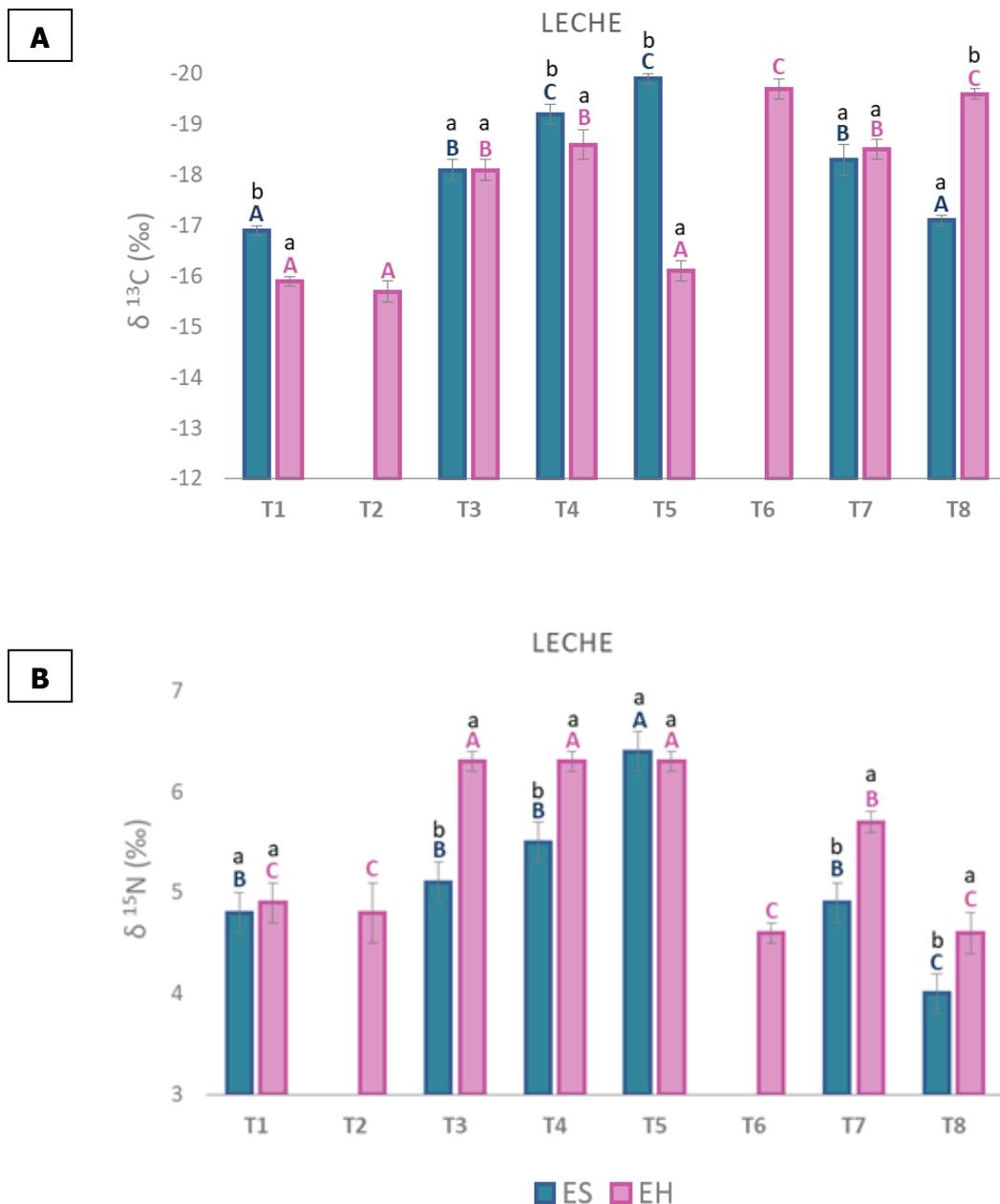


Figura 1.17: $\delta^{13}\text{C}$ (A) y $\delta^{15}\text{N}$ (B) de las muestras de leche de los diferentes tambos, durante estación húmeda y seca. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias en los valores del isótopo entre las muestras de los tambos y las diferentes letras minúsculas indican diferencias entre las estaciones de un mismo tambo.

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de las muestras de leche, oscilaron desde -19,9 a -15,7 ‰, observándose diferencias significativas entre los tambos y las estaciones de muestreo. Durante la EH, los valores más altos de este isótopo se encontraron en las leches de T1, T2 y T5, seguidos por T3, T4 y T7, y finalmente por T6 y T8. En cambio, durante la ES los valores más altos se encontraron en las leches de T1 y T8, seguidos por T3 y T7, y finalmente por T4 y T5. A su vez,

evaluando las diferencias estacionales, observamos que $\delta^{13}\text{C}$ es mayor en las muestras obtenidas durante EH, en T1, T4 y T7 y en ES en el T8. No hubo diferencias estacionales en las leches provenientes de T3 y T7. Estos cambios en el valor de $\delta^{13}\text{C}$ en leches pueden originarse debido a los cambios en los regímenes de alimentación.

Por otra parte, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ oscilaron desde 4 a 6,3 ‰, encontrándose los valores más altos en las leches del T5 en ES y en las de T3, T4 y T5 en EH. Se observaron diferencias entre los valores de este isótopo según la estación, con valores más altos en la EH de muestras pertenecientes a T3, T4, T7 y T8. No hubo diferencias en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de las leches provenientes del T1 y T5, por estación.

Las relaciones isotópicas de carbono y nitrógeno en la leche, pueden variar considerablemente dependiendo de la dieta de la vaca lechera (Molkentin, 2013) y las condiciones agrícolas durante su producción (Crittenden *et al.*, 2007). Es importante resaltar que los alimentos consumidos por el ganado fueron distintos en cada tambo y estación, además de que no contamos con información acerca de la cantidad y frecuencia de cada tipo de alimento consumido.

Podemos inferir que las señales isotópicas obtenidas en la leche son combinaciones de las señales individuales aportadas por los alimentos consumidos, luego de los procesos metabólicos de la vaca. Es decir, la diferente distribución de los isótopos viene determinada por fenómenos de mezcla; por la combinación de dos o más fuentes con composiciones isotópicas diferentes y distintivas, dando como resultado un producto con una identidad determinada por la composición y masa de las fuentes.

1.3.6 Análisis de correlaciones entre matrices

A fines de abordar el estudio de la asociación entre las múltiples variables analizadas (EI_1 e isótopos) entre dos matrices, se realizó el ACC. Este análisis, resulta un instrumento adecuado para tratar un conjunto numeroso de variables que pueden separarse en dos grupos. El ACC se basa en la correlación entre una combinación lineal de las variables en un conjunto (Can 1) con una combinación lineal de las variables en el otro conjunto (Can 2).

Se aplicó este análisis a las variables de los conjuntos leche y agua, obteniendo una correlación no significativa ($p = 1$), en ambas estaciones. Además se evaluaron las correlaciones entre leche-suelo ($r^2_{\text{EH y ES}} = 0,99$ y $0,98$), leche-forraje ($r^2_{\text{EH y ES}} = 0,99$) y suelo-forraje ($r^2_{\text{EH y ES}} = 0,98$), obteniéndose en todos los casos y en ambas estaciones, una correlación significativa ($p < 0,05$). A partir de estos análisis, se graficaron las funciones canónicas obtenidas, Can 1 y Can 2, para determinar cómo es la correlación que se establece entre dos matrices (Fig. 1.18).

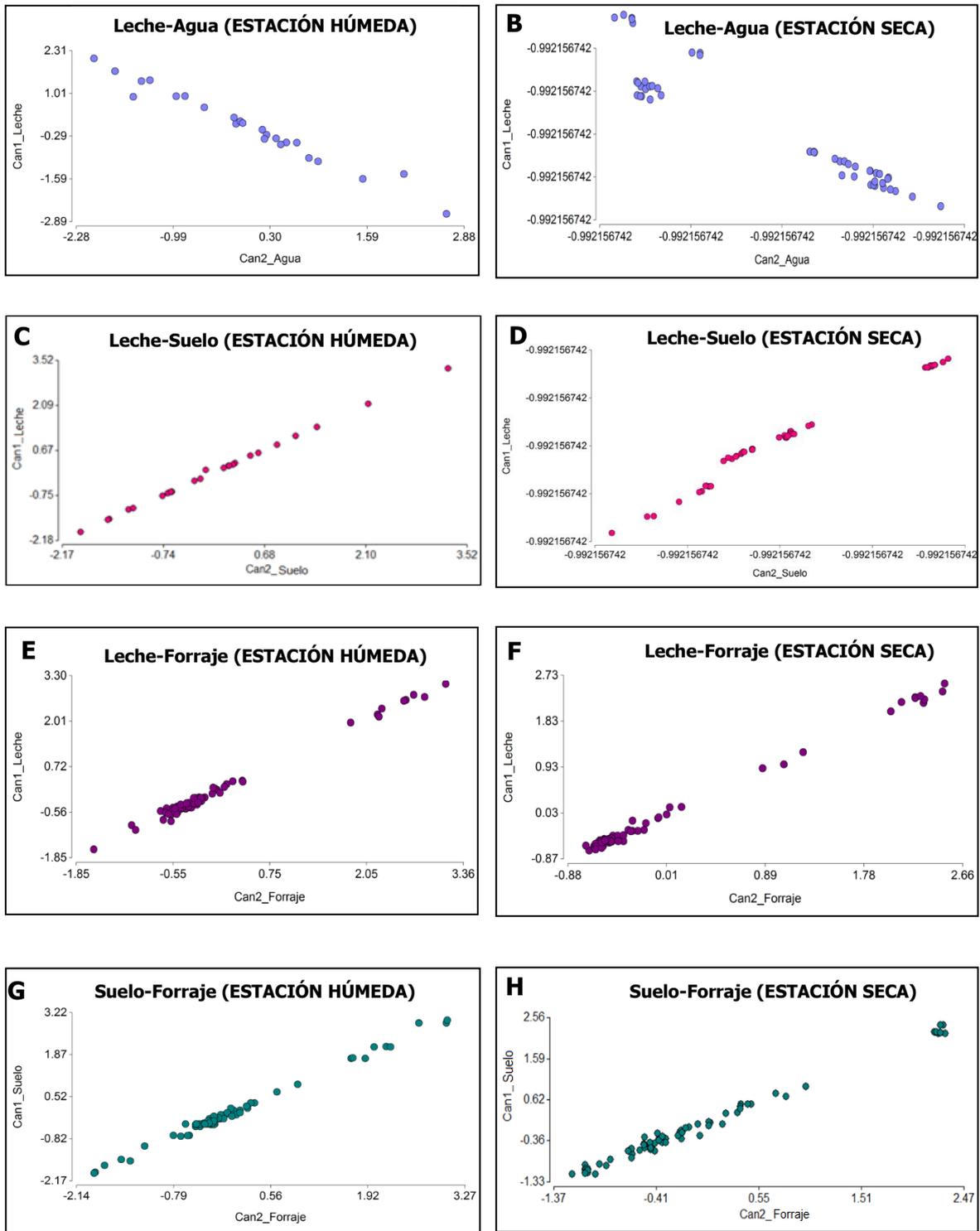


Figura 1.18: Relación entre el eje canónico 1 y el eje canónico 2 para la relación: Leche-Agua EH (A) y ES (B), Leche-Suelo EH (C) y ES (D), Leche-Forraje EH (E) y ES (F), Suelo-Forraje EH (G) y ES (H).

De haber obtenido una correlación significativa (improbable que haya sido debida al azar) entre las variables de leche y agua, esta correlación hubiera sido negativa (Fig. 1.18A y B). Por otra parte, en estos gráficos de dispersión, podemos observar que existe una correlación positiva entre los dos grupos de variables constituidos por leche-suelo (Fig. 1.18C y D), leche-forraje (Fig. 1.18E y F) y suelo-forraje (Fig. 1.18G y H), en ambas estaciones.

Este análisis nos señala la influencia que tiene la región geográfica de origen en la composición de la leche, como así también la influencia de la composición elemental e isotópica de los forrajes que consume el ganado. Además, la vegetación refleja la composición del suelo del lugar donde crece.

1.3.7 Diferenciación de muestras según su origen geográfico

Los productos lácteos constituyen un grupo importante de alimentos, han sido investigados para su diferenciación según la región de producción, basándose en el contenido de elementos inorgánicos y la proporción de isótopos estables. Para evaluar si las muestras de agua, suelo, forraje y leche se diferencian en su composición elemental e isotópica según su región de origen, se realizó el AD (modo backward stepwise). Para ello se agruparon los tambos de una misma región: CBA-NE (T1, T2 y T7), SANTA FE (T3 y T4), CATAMARCA (T5 y T6) y CBA-SUR (T8).

Las variables analizadas en agua, suelo y leche, lograron diferenciar las muestras de acuerdo con su región de origen, con un 100 % de clasificación (Fig. 1.19, 1.20, 1.21). En cuanto al forraje, no se pudo obtener un 100 % de clasificación de las muestras según la región de procedencia como se muestra en la Fig. 1.22. Se obtuvo un 94,4 % y un 90,6 % de clasificación de las muestras de forraje en EH y en ES, respectivamente (Tabla 20 del ANEXO I). Esto se corresponde a que las muestras de forraje de algunos tambos no fueron obtenidos de la misma región geográfica a la cual pertenecía el tambo, sino que fueron adquiridos en otras zonas. De acuerdo a la información proporcionada por los productores, sólo podemos confirmar que en el T6 (Catamarca), el expeller de soja fue adquirido en la localidad de Frías (Santiago del Estero), la alfalfa en Luque (Córdoba), y las semillas de algodón en la provincia de Chaco.

En la Fig. 1.19, podemos observar cómo se diferencian las muestras de agua según su procedencia, como la similitud existente entre la composición de las muestras de CBA-NE y Catamarca, en ambas estaciones. Para el AD el sistema consideró 9 variables (Al, As, Ba, Ca, Li, Mn, Mo, Na y V) en EH y 6 variables (As, B, Mn, Sr, $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) en ES, de las 25 variables para realizar la separación de las regiones. As y Mn fueron comunes en ambas estaciones.

En el caso de las muestras de suelo, se consideraron 9 variables significativas, entre las 26 variables analizadas, para la discriminación en EH: B, Be, Ca, Cd, Cr, K, Mn, Sr y V. En cambio, en ES se consideraron 10 variables de 25: Ag, Ca, Cd, Co, Mg, Ni, Rb, Sr, V y Zn. En ambas estaciones se utilizaron Ca, Cd, Sr y V para la discriminación.

En cuanto a las muestras de leche, fueron consideradas 17 variables de 23 en EH: Al, B, Ba, Co, Cr, Hg, K, Li, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Zn y $\delta^{15}\text{N}$, y 11 variables de 24 en ES: B, Cr,

Fe, Li, Mg, Mn, Na, Rb, Se, V y Zn. En ambas estaciones se utilizaron B, Cr, Li, Mn, Na, Rb y Zn para la discriminación de muestras de leche.

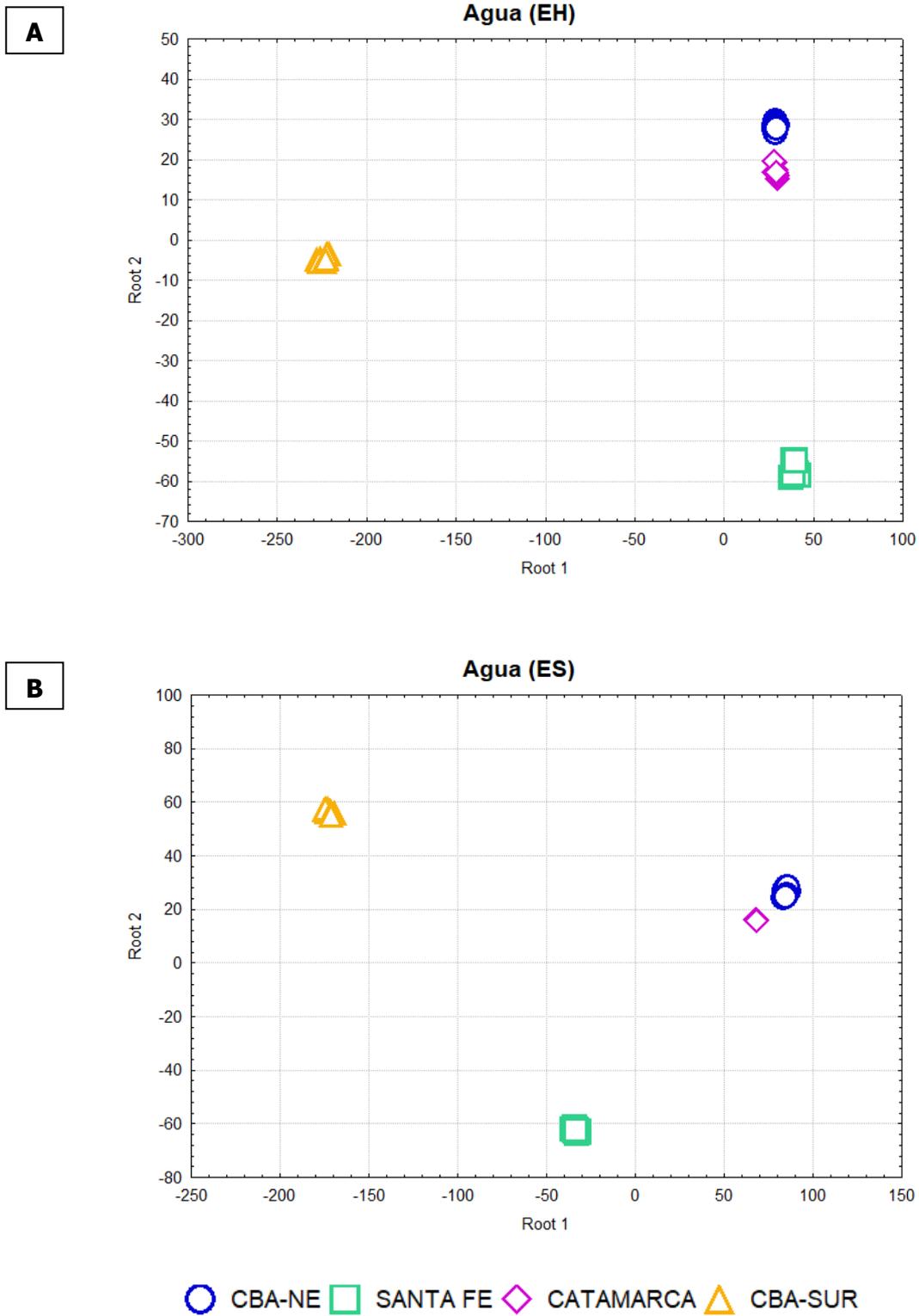
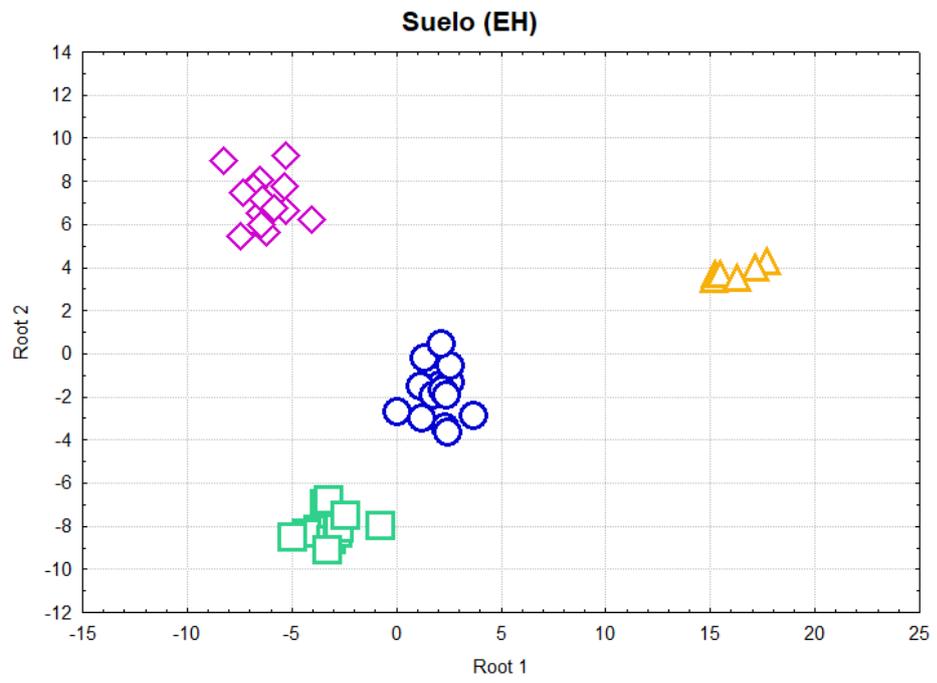
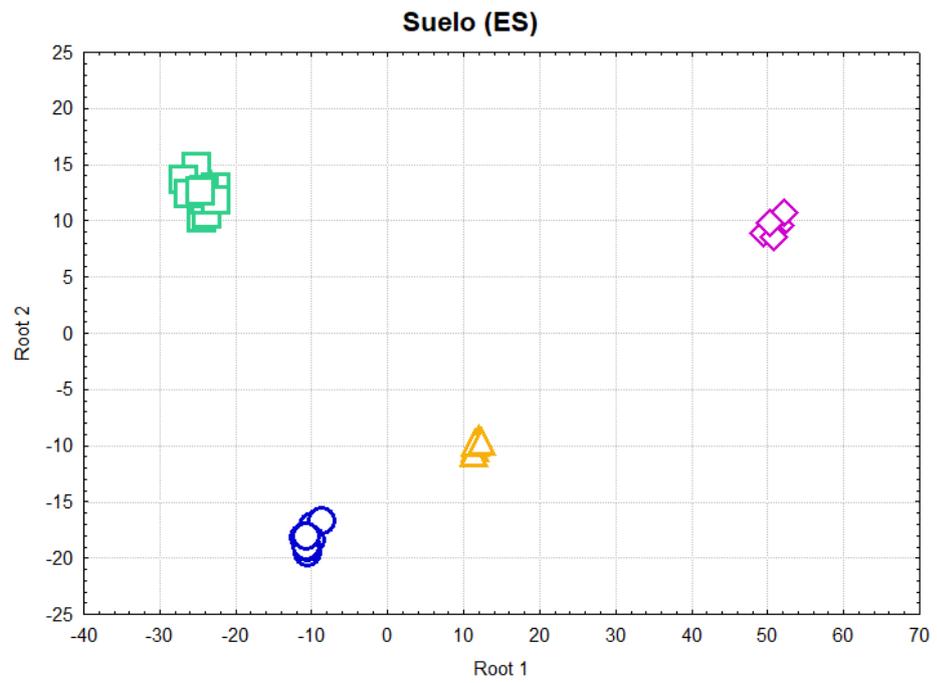


Figura 1.19: Análisis discriminante de muestras de agua por región de origen, durante estación húmeda (A) y seca (B).

A



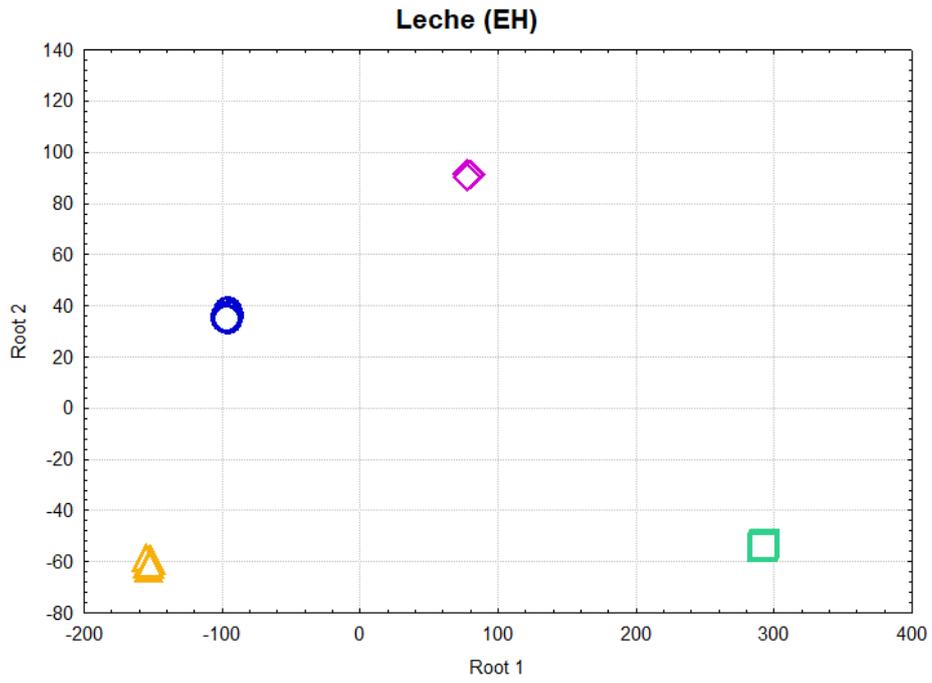
B



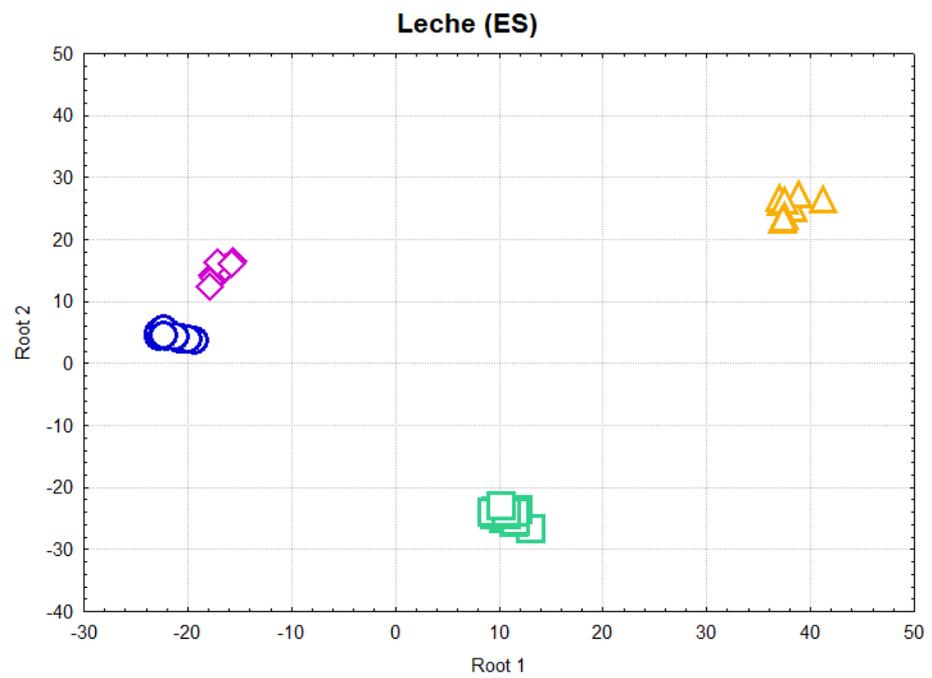
○ CBA-NE □ SANTA FE ◇ CATAMARCA △ CBA-SUR

Figura 1.20: Análisis discriminante de muestras de suelo por región de origen, durante estación húmeda (A) y seca (B).

A



B



○ CBA-NE □ SANTA FE ◇ CATAMARCA △ CBA-SUR

Figura 1.21: Análisis discriminante de muestras de leche por región de origen, durante estación húmeda (A) y seca (B).

Por otra parte, en la Fig. 1.22, podemos observar que no todas las muestras de forraje de los tambos de Catamarca se diferencian completamente del resto de las regiones en la EH (85,2 % de diferenciación). A su vez, en ES tampoco se puede diferenciar en un 100 % a las muestras de CBA-NE (90 %) y a las de CBA-SUR (58,3 %). Para la diferenciación de las muestras se consideraron 14 variables (Ag, As, B, Ba, Ca, Co, Cr, K, Li, Na, Ni, Rb, Se y Sr) en EH y 9 (Al, Fe, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Se y V) en ES, de un total de 27 variables. En ambas estaciones se utilizaron Li y Na para la discriminación.

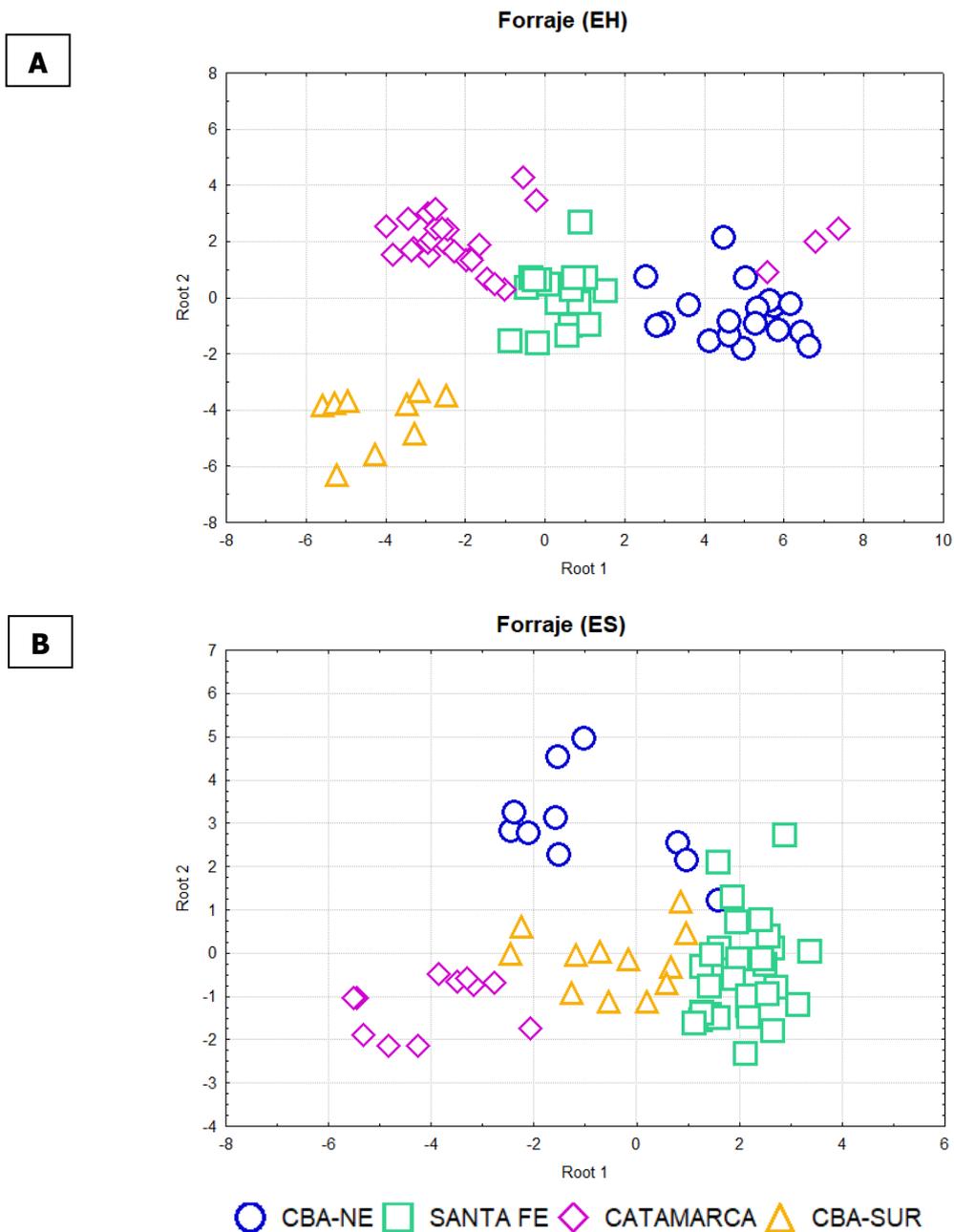


Figura 1.22: Análisis discriminante de muestras de forraje por región de origen, durante estación húmeda (A) y seca (B).

A partir de los AD realizados, podemos decir que las variables analizadas en muestras de agua, suelo y leche, tienen un poder discriminatorio suficiente; su conjunto forma un patrón característico relativo al origen geográfico de la muestra.

En la Fig. 1.23, se encuentran graficados a modo de ejemplo, algunos de los elementos que aportaron a la discriminación del origen de las muestras de agua, suelo y leche, en ambas estaciones de muestreo.

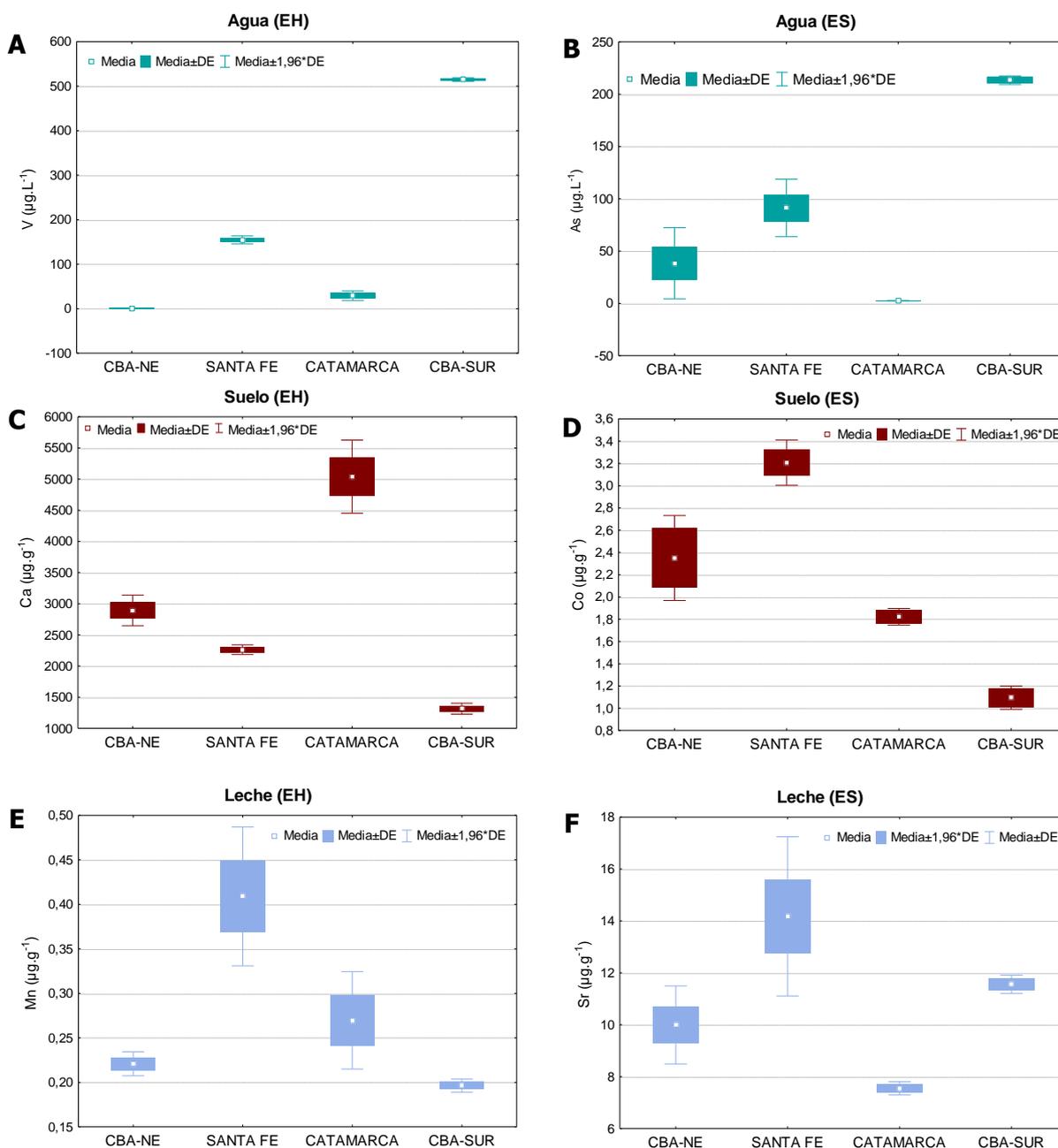


Figura 1.23: Diagrama de caja representativo de la concentración de los elementos que discriminan el origen de muestras de agua en EH (A) y ES (B), suelo en EH (C) y ES (D) y leche en EH (E) y ES (F).

Considerando las muestras de agua, V y As permiten la diferenciación de las regiones estudiadas (Fig. 1.23A y B), mientras que Ca y Co permiten diferenciar las muestras de suelo de estas áreas (Fig. 1.23C y D) y Mn y Sr, las muestras de leche (Fig. 1.23E y F).

Por otra parte, en la Fig. 1.24A y B podemos observar cómo los valores estandarizados de la relación K/Rb de las muestras de forraje muestran una buena correspondencia con los de leche, en ambas estaciones. Esta relación se aplica comúnmente como un marcador para determinar el origen de muestras de alimentos y puede diferir enormemente entre varias rocas y suelos (Di Paola-Naranjo *et al.*, 2011; Podio *et al.*, 2013; Baroni *et al.*, 2011). Además, los valores estandarizados de Mn y Fe de muestras de suelo mostraron buena correspondencia con los de la leche (Fig. 1.24C y D). Esto demuestra cómo algunos elementos encontrados en la leche se asocian a su presencia en suelo o en el alimento que consume el ganado.

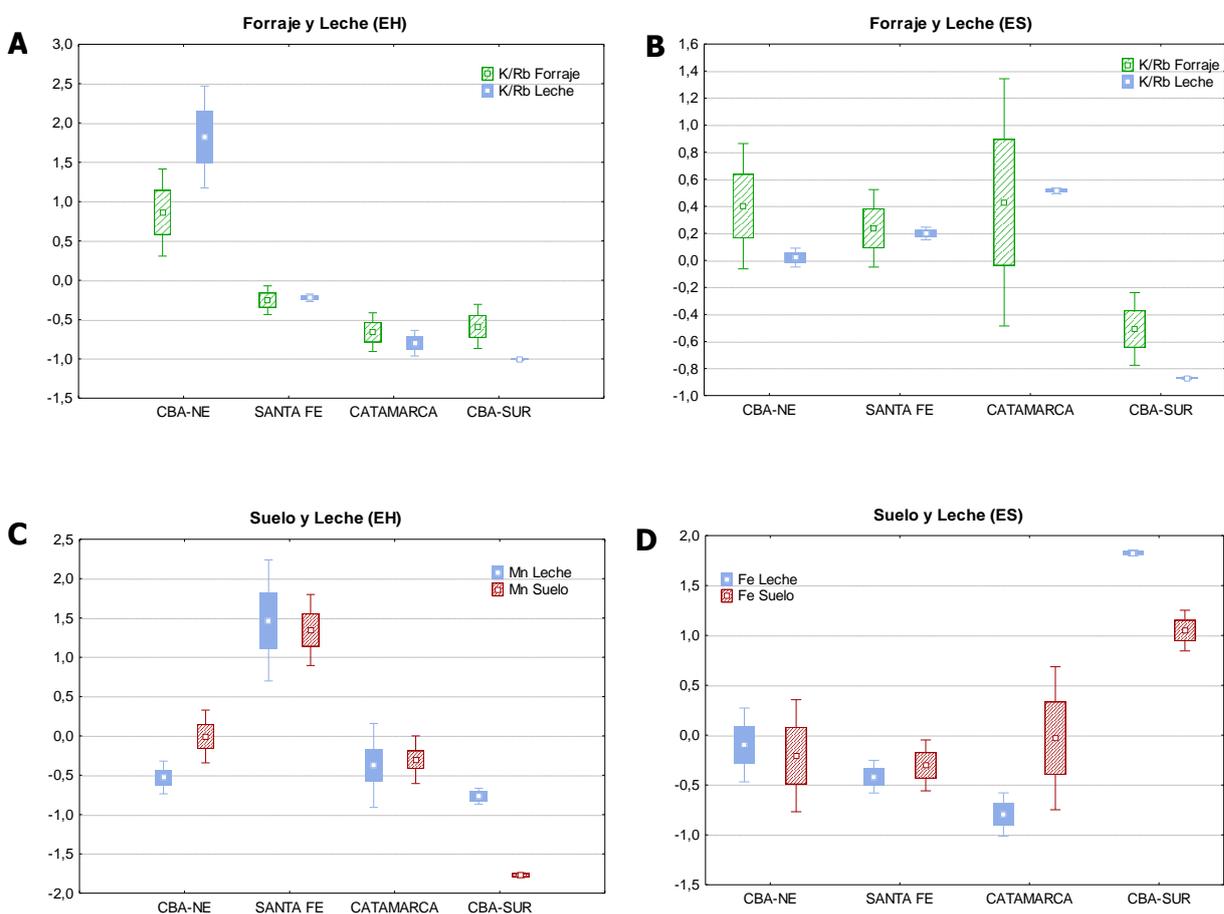


Figura 1.24: Diagrama de caja representativo de la correspondencia entre niveles de K/Rb en muestras de forraje y leche en EH (A) y en ES (B), de Mn en suelo y leche en EH (C) y Fe en ES (D) (valores estandarizados).

Finalmente, se realizó un APG que muestra la configuración general de las regiones geográficas de acuerdo con las variables analizadas en las cuatro matrices de estudio (agua, suelo, forraje y leche). Específicamente, este análisis construye la configuración de consenso de

un grupo de conjuntos de datos mediante la aplicación de transformaciones matemáticas en un intento de superponerlos. En la Fig. 1.25 se muestra la configuración de consenso proyectada sobre el plano definido por su primer y segundo eje principal, explicando el 74,3 % y el 86,2 % de la variabilidad entre las muestras, durante la estación húmeda (A) y seca (B), respectivamente.

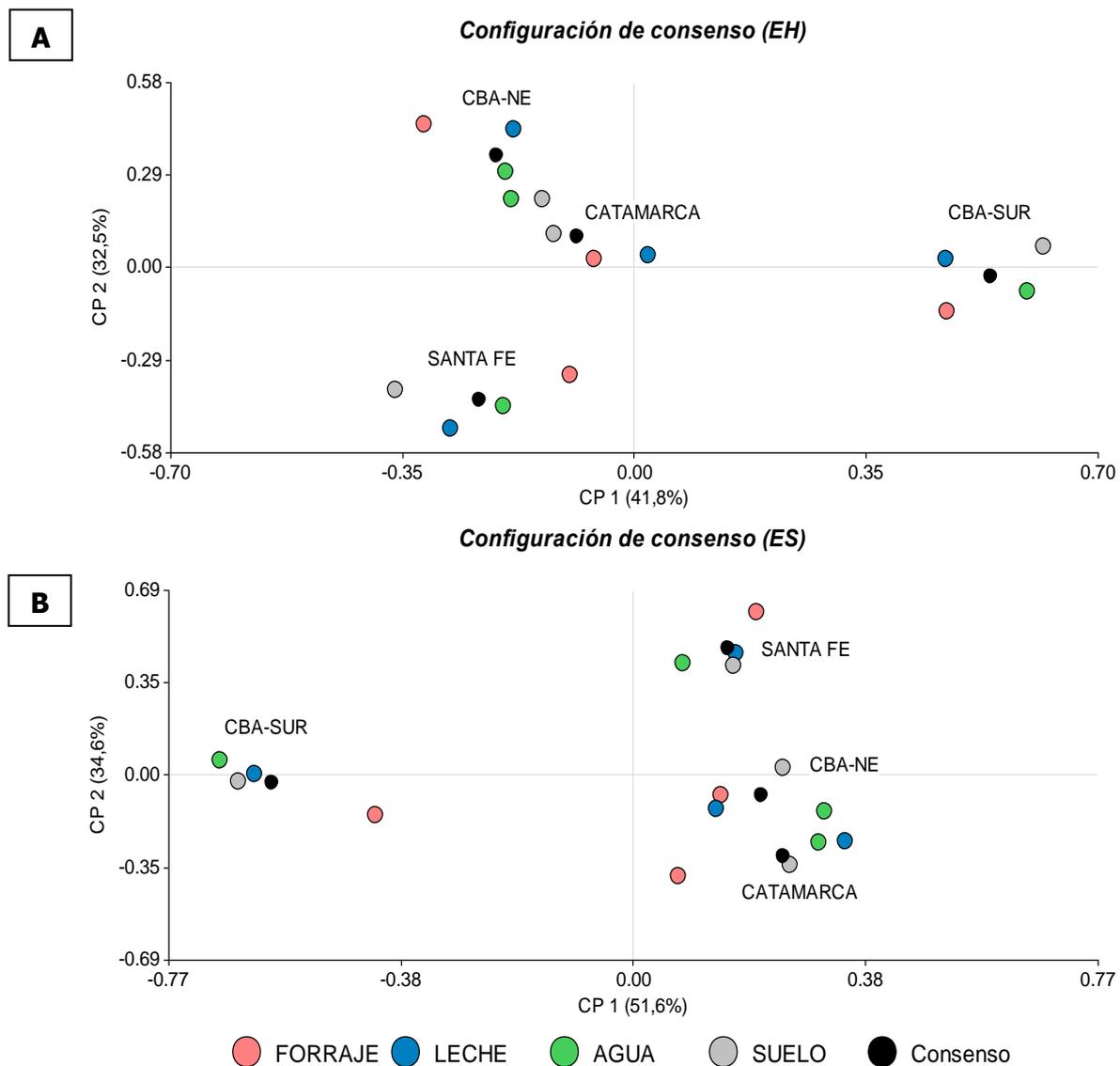


Figura 1.25: Espacio de consenso a partir del análisis de Procrustes generalizado en estación húmeda (A) y seca (B).

Podemos observar que las cuatro áreas de monitoreo están bien separadas sobre la base de los parámetros analizados (isótopos e EI_1) y a su vez, se denota las similitudes entre las muestras de agua de Catamarca y CBA-NE en ambas estaciones.

1.4 CONCLUSIONES

En el presente estudio se evaluaron conjuntamente las concentraciones de Ag, Al, As, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Hg, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, V y Zn, en diferentes matrices (agua, suelo, forraje y leche) provenientes de tambos de las provincias de Córdoba, Santa Fe y Catamarca. Además, se determinaron $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en estas muestras, con el fin de obtener información sobre las condiciones de la producción lechera y de prácticas agrícolas.

A partir de los resultados obtenidos y según la legislación disponible, podemos decir que en agua B, Mo, V y Zn, superaban los niveles establecidos para calidad de agua de bebida animal y en suelo, el B superaba lo establecido para calidad de suelo de uso agrícola. Los elementos inorgánicos evaluados en el forraje se compararon con legislación europea, debido a que en Argentina no se dispone de regulaciones para aplicar en este caso. Se encontró que Hg en ciertas muestras de maíz y alfalfa, superaba los máximos establecidos para alimentos destinados a consumo animal. En cuanto a los niveles de As, Cd y Pb en las muestras de leche, no excedieron los niveles máximos permitidos según el Reglamento Técnico MERCOSUR sobre límites máximos de contaminantes inorgánicos en alimentos. En todos los casos, estos elementos pueden alcanzar las matrices evaluadas por estar presentes de manera natural en el ambiente o por ser introducidos por el hombre.

Como hemos demostrado en este estudio, la leche es un producto que tiene variabilidad en la concentración multielemental y difiere entre los distintos sectores productivos. Elementos como As, Hg y Pb presentes en leche, son de gran interés debido a su naturaleza tóxica. Si bien estos elementos se encontraron en bajas concentraciones, de acuerdo con los riesgos potenciales para la salud humana su estado debe ser monitoreado regularmente.

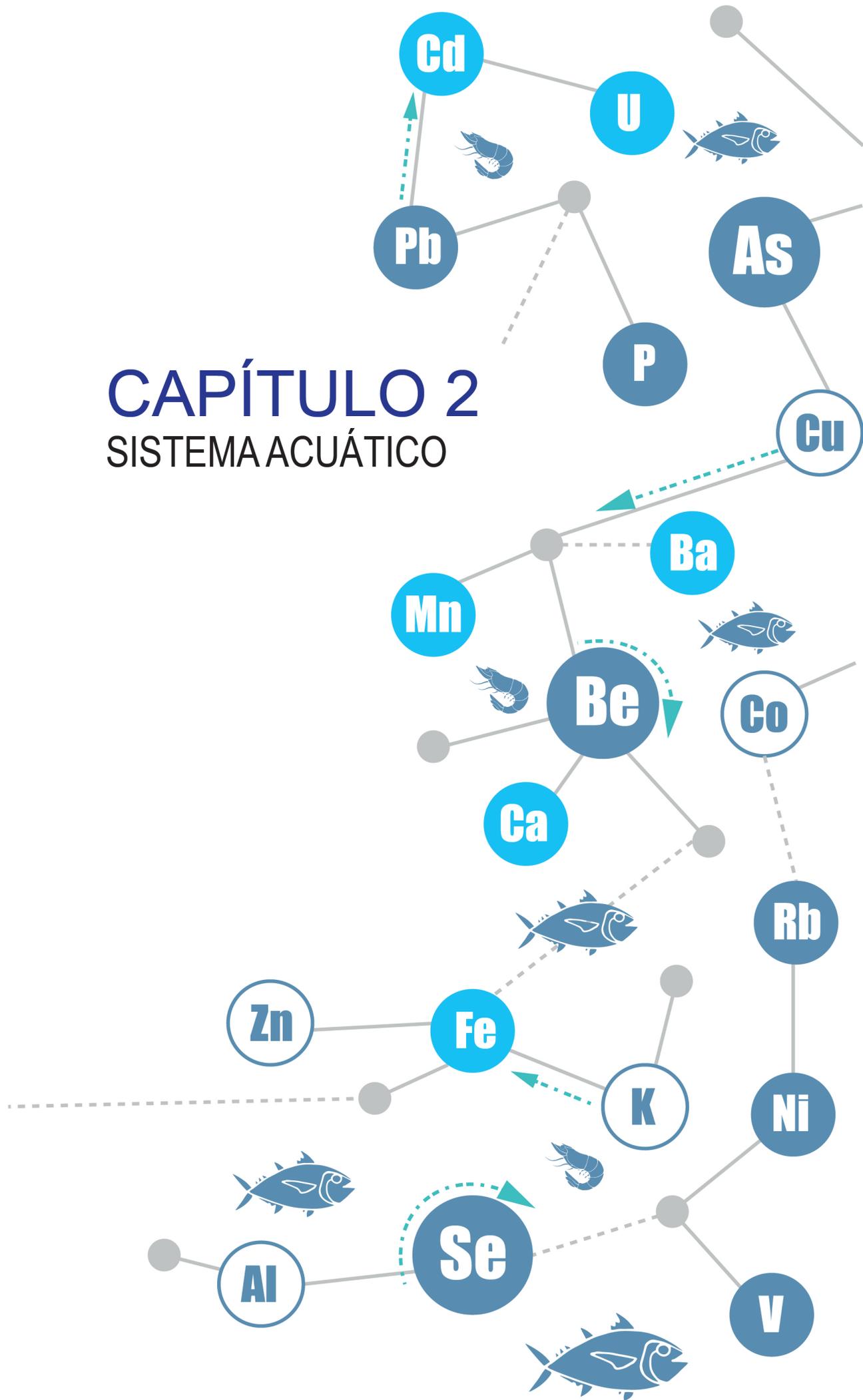
En este estudio la composición elemental e isotópica de la leche reflejó, en cierta medida, los forrajes que los animales comen y éstos, a su vez, reflejan la composición del suelo del lugar donde crece. Por otra parte, nuestro estudio indica que la composición de la leche está relacionada en menor medida con la composición del agua. Estos resultados demuestran la necesidad de un mayor control en las áreas destinadas a la producción de alimentos (leche) y de los alimentos que consume el ganado, para asegurar la calidad de los alimentos producidos.

Se identificaron diferencias significativas en el contenido de elementos inorgánicos y de las señales isotópicas de muestras de agua, suelo, forraje y leche, pertenecientes a tambos de distintas regiones geográficas de Argentina. Mediante la ejecución de métodos estadísticos multivariados, se logró diferenciar de manera eficiente las distintas zonas de origen, tanto en las muestras de agua, suelo y leche analizadas. De acuerdo con los resultados, la determinación de elementos inorgánicos en conjunto con los isótopos estables, resultan métodos poderosos para la determinación del origen geográfico de los alimentos, como la leche, además de servir para su caracterización nutricional y riesgo toxicológico. Los resultados obtenidos señalan la influencia de la zona geográfica, y de las diferentes condiciones ambientales, sobre el perfil químico e isotópico

de los alimentos producidos en estas regiones. Por consiguiente, el análisis de estos parámetros, sumado a un modelo basado en estadística multivariada, podría utilizarse como una herramienta viable para la certificación de origen de la leche procedente de estas regiones, con la posibilidad de hacerse extensivo al análisis de otros alimentos.

CAPÍTULO 2

SISTEMA ACUÁTICO



2.1 INTRODUCCIÓN

El agotamiento de los recursos acuáticos y su contaminación se encuentran entre los principales problemas ambientales que enfrenta el mundo en el siglo XXI (Aprile y Fiorillo, 2017). Los cursos de agua han sido desde tiempo inmemorial los receptores, directos o indirectos, de los desechos que el hombre ha generado. La presencia en el agua de sustancias químicas derivadas de actividades urbanas, industriales y agrícolas, es cada vez más preocupante en lo que respecta a la sostenibilidad del recurso como a la salud pública (Benson *et al.*, 2017). A medida que contaminantes como metales y metaloides se introducen en fuentes de agua, se plantea un riesgo para los organismos acuáticos y la salud humana. Por lo tanto, el estudio del destino, transporte y eliminación de éstos compuestos en el ambiente, se hace cada vez más importante.

2.1.1 Dinámica de metales y metaloides en los ecosistemas acuáticos

Uno de los ambientes naturales interesantes de estudiar corresponde a los sistemas lacustres, ya que estos cuerpos de agua tienen una baja tasa de renovación y resultan más vulnerables a la contaminación antrópica. La incorporación de metales y metaloides a los sistemas lóticos, se debe tanto a los aportes naturales como también a la actividad antrópica del entorno (principalmente por lixiviación de los vertimientos de desechos industriales o domésticos). Cuando estos elementos son descargados al medio acuático, tienden a quedar atrapados, acumulándose en los sedimentos y permaneciendo directamente disponibles para la fauna béntica (Pekey *et al.*, 2004). Los metales y metaloides forman especies estables en sedimentos al asociarse con la mayor parte de sus componentes, por lo que su acumulación puede llegar a ser significativa (Burgess *et al.*, 2013). Tienden a formar complejos con carbonatos, sulfatos y en mayor grado con sustancias orgánicas, mediante fenómenos de intercambio iónico, adsorción o quelación (Dekov *et al.*, 1998). Sin embargo, pueden ser liberados a la columna de agua por cambios en las condiciones físico-químicas del medio, tales como pH, potencial redox, oxígeno disuelto o temperatura (Peijnenburg *et al.*, 2014), aumentando la concentración disuelta en el ambiente y la exposición a los organismos del ecosistema (Pekey *et al.*, 2004).

En este contexto, los organismos acuáticos de agua dulce enfrentan el desafío de estar expuestos a una gran variedad de elementos inorgánicos. En general, los primeros organismos expuestos en las tramas tróficas son los productores primarios, por lo que representan la primera fase en la transferencia trófica de estos elementos. A su vez, estos organismos incorporan metales para emplearlos en sistemas enzimáticos que catalizan diversos procesos como la glicólisis, el ciclo del ácido tricarbóxico, la fotosíntesis y el metabolismo de proteínas. Por otra parte, invertebrados acuáticos y peces pueden acumular elementos inorgánicos en sus tejidos, aunque estos sean o no esenciales para su metabolismo (Rainbow, 2002), incorporándolos directamente a través de la superficie corporal, órganos respiratorios o por la dieta. Los peces

desempeñan un papel importante en los sistemas acuáticos, ya que son considerados organismos centinela, es decir que son capaces de acumular contaminantes en sus tejidos y pueden ser utilizados para detectar riesgos para los seres humanos al proporcionar alerta anticipada de un peligro.

Se considera que la actividad biológica es responsable de más del 90 % del transporte vertical de metales y metaloides en la columna de agua (Bryan, 1976). Esta movilización significa que se pueden acumular en los tejidos corporales de organismos (bioacumulación) y transferirse a través de cadenas tróficas acuáticas, aumentando la concentración a medida que pasan de niveles tróficos inferiores a niveles tróficos superiores (biomagnificación). El vínculo entre estos elementos y su acumulación depende de las características químicas de cada elemento, de las peculiaridades y necesidades propias de cada individuo (Chi *et al.*, 2007) y del rol que juegan los diferentes órganos en los procesos de absorción, regulación, almacenamiento y excreción (Storelli *et al.*, 2006).

En los últimos años ha habido un creciente interés en la comunidad científica por conocer los riesgos potenciales para la salud humana derivados del consumo de pescado expuesto a contaminantes individuales o grupos de contaminantes presentes en el ambiente. La concentración de metales y As en peces ha sido ampliamente estudiada en diferentes partes del mundo, en especial en la parte comestible (músculos de peces), y han confirmado que la contaminación por estos elementos a través de la cadena alimentaria puede causar problemas en la salud humana.

Los músculos son la parte del pez más consumida por los humanos, y la ocurrencia de metales y As en este tejido del pez es una preocupación. Por lo tanto, desde la perspectiva de la salud pública y para garantizar la seguridad de los peces, es necesario monitorear los niveles de estos elementos en sus tejidos (Heshmati *et al.*, 2017).

2.1.2 Uso de isótopos estables en ecología trófica de organismos acuáticos

Con el fin de abordar las relaciones tróficas y cualquier potencial biomagnificación de contaminantes en las cadenas alimentarias, el uso de isótopos estables de nitrógeno y carbono constituye una valiosa herramienta (Dehn *et al.*, 2006). En general, se reconoce que el $\delta^{13}\text{C}$ presenta un aumento de sólo el 1 ‰ por nivel trófico (Peterson & Fry, 1987) y se utiliza generalmente para proporcionar información sobre el uso espacial del hábitat y como biomarcador para identificar diferentes fuentes de producción primaria (Hobson *et al.*, 2002, Hoekstra *et al.*, 2003). Los valores de este isótopo en herbívoros y carnívoros se correlacionan con los correspondientes a su dieta.

Por otra parte, existe un enriquecimiento de $\delta^{15}\text{N}$ del predador con respecto a su presa, debido a la excreción preferentemente de ^{14}N (Muñoz *et al.*, 2009). Por lo cual, este isótopo aumenta en promedio un 3-5 ‰ por nivel trófico, resultando útil para dilucidar las posiciones tróficas relativas de los organismos en la cadena trófica (Ikemoto *et al.*, 2008). Este isótopo se

modifica en función del uso de fertilizantes nitrogenados (por ejemplo, urea), modificando la composición isotópica natural de los suelos de cultivo, los que por escorrentía trasladan esta nueva composición a los recursos hídricos (Cravotta, 1995). Asimismo, este análisis es un recurso prometedor para el seguimiento de cambios en la contribución de distintas fuentes de N de origen antrópico, proporcionando información para la identificación de contaminación por aguas residuales.

A su vez, los análisis de isótopos estables son ampliamente utilizados en estudios ecotoxicológicos para dilucidar el comportamiento de los contaminantes a través de las cadenas tróficas (Cui *et al.*, 2011). Una correlación positiva entre $\delta^{15}\text{N}$ y las concentraciones de un metal indica biomagnificación, y una correlación negativa sugiere la eliminación de estos elementos de la cadena trófica o la transferencia trófica interrumpida (biodilución) (Monferrán *et al.*, 2016). En consecuencia, la medición de $\delta^{15}\text{N}$ junto con la de metales y metaloides, conduce a la estimación del comportamiento de éstos a través de las cadenas tróficas.

2.1.3 Organismos en estudio

El **plancton** (Fig. 2.1) es una comunidad formada por organismos de tamaño pequeño y/o microscópico, que se encuentran en suspensión en el agua y dependen de los movimientos del medio para mantenerse en suspensión y transportarse. Está compuesto principalmente por fitoplancton y zooplancton, además del bacterioplancton y del micetoplancton. El fitoplancton está integrado por comunidades de algas cianofitas, clorofitas, diatomeas, criptomonadales, dinoflagelados y euglenofitas. En cambio en el zooplancton se puede observar ciliados, rotíferos, cladóceros y copépodos (Wetzel y Likens, 1991). Además, se lo puede clasificar según su tamaño en picoplancton (0,2-2 μm , como bacterias), nanoplancton (2-20 μm , como flagelados y dinoflagelados), microplancton (20-200 μm , como diatomeas) y el mesoplancton ($> 200 \mu\text{m}$, como copépodos) (Sigeo, 2005).



Figura 2.1: Plancton.

La composición del plancton cambia estacionalmente y depende de la ubicación geográfica del cuerpo de agua. Esta dependencia se debe no solamente a las variables físicas tales como radiación y temperatura, sino que también a las interrelaciones bióticas que se dan en un cierto reservorio de agua.

Palaemonetes argentinus (Fig. 2.2) es uno de los decápodos más ampliamente distribuidos en la región litoral de Argentina, Paraguay, Uruguay y el sur de Brasil (Morrone y Lopreto, 1995). Este camarón juega un importante rol trófico en las comunidades costeras, habitando lagos de agua dulce así como en ríos y arroyos (Spivak, 1997). Collins (1999) estudió la alimentación natural de *P. argentinus*, determinando que es una especie omnívora/detrívora con la presencia predominante en su dieta de fitoplancton y microinvertebrados bénticos. Estos organismos han sido encontrados en sitios con buena calidad de agua pero también en receptores de descargas directas de efluentes terrestres (Gonzalez Sagrario *et al.*, 1998; Miglioranza *et al.*, 2002). A su vez, esta especie mostró sensibilidad a contaminantes en ensayos de laboratorio y capacidad para proveer valiosa información sobre la calidad ambiental (Collins y Cappello, 2006; Galanti *et al.*, 2013; Griboff *et al.*, 2014; Bertrand *et al.*, 2014).



Figura 2.2: *Palaemonetes argentinus*.

El Pejerrey (***Odontesthes bonariensis***) (Fig. 2.3) es una especie nativa de Argentina, Uruguay, Brasil y Chile e introducida en Europa y Asia (Chiba *et al.*, 1989, Gandolfi *et al.*, 1991, Brian y Dyer, 2006). Es un organismo de importancia deportiva y económica (López *et al.*, 2001); en particular, representa el segundo recurso pesquero más importante para Argentina y Uruguay, donde se comercializa para el consumo local y es exportado en gran proporción a Europa (Italia, Países Bajos y Ucrania), Rusia y Estados Unidos (Minagri, 2014). Antecedentes bibliográficos (Calvo y Dadone, 1972; Burbidge *et al.*, 1974; Freyre, 1976; Luchini *et al.*, 1983) coinciden en señalar a *O. bonariensis* como un pez de alta tasa reproductiva, de crecimiento rápido y con amplio espectro alimentario. Oportunista en alimentación, consume un amplio rango de ítems alimenticios que lo califican como filtrador de plancton en etapas juveniles, hasta ictiófago canibalista como adulto (Ringuelet, 1942; Burbidge *et al.*, 1974; Bahamondes *et al.*, 1979).



Figura 2.3: *Odontesthes bonariensis*.

2.1.4 Descripción del área de estudio

Argentina posee una amplia variedad de lagos, tanto en lo referente a su origen, como a su tamaño, forma, ubicación climática, química de aguas y fertilidad natural (Quirós y Drago, 1999). Este país presenta graves problemas de eutrofización y contaminación en algunos de sus lagos y embalses (Quirós, 2000).

La provincia de Córdoba cuenta con más de 20 reservorios, entre los más importantes se destacan el Lago San Roque, el Lago Los Molinos y el Embalse de Río Tercero.

En la actualidad, debido al importante incremento de la población y a las actividades antropogénicas, estos cuerpos de agua se encuentran afectados, manifestándose un paulatino deterioro en la calidad de sus aguas. Éste se basa principalmente por enriquecimiento orgánico, entrada de nutrientes, metales pesados, agentes patógenos y agroquímicos (Bazán, 2010; Huber, 2010).

Hasta el presente se han realizado pocos trabajos en estos sistemas lacustres que estudien el contenido de una amplia variedad de metales y metaloides, particularmente con respecto a su biotransferencia y biomagnificación a través de cadenas tróficas.

El **LAGO SAN ROQUE (LSR)** (Fig. 2.4), se encuentra ubicado al oeste de las Sierras Chicas, en el Valle de Punilla (Provincia de Córdoba, Argentina), aproximadamente a 600 m sobre el nivel del mar. Se encuentra contenido en un dique de hormigón, que fue diseñado para generar energía eléctrica, abastecer de agua potable (principal proveedor para la ciudad de Córdoba), riego y control de crecidas (Helmbrecht y López, 2000). Constituye una importante área turística para la provincia, debido a que es un ámbito donde se desarrollan múltiples actividades recreacionales, como la náutica y la pesca.



Figura 2.4: Lago San Roque.

Este cuerpo de agua manifiesta, desde hace unas décadas, un eminente grado de deterioro en la calidad de sus aguas y un progresivo avance del proceso de eutrofización (Ruiz *et al.*, 2011), situación que en ocasiones puede comprometer sus diferentes usos y la integridad de la

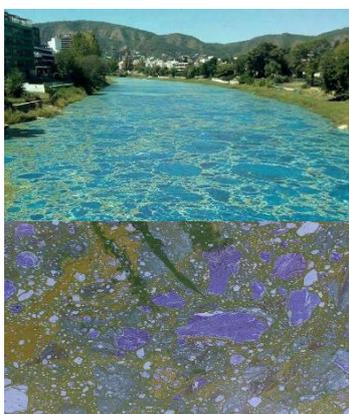


Figura 2.5: Lago San Roque, evento de floración de algas durante el 2017.

biota. Es clasificado como un reservorio eutrófico a hipereutrófico, con elevadas concentraciones de nutrientes y alta incidencia de floraciones de cianobacterias tóxicas (Amé *et al.*, 2003). Este característico proceso de eutrofización se debe a que recibe un aporte constante y considerable de nutrientes en forma de residuos de origen antrópico, como producto de la actividad de las poblaciones localizadas en su cuenca, en particular porque se vierten al lago aguas cloacales sin tratamiento previo (Lerda y Prospero, 1994). Se suma a esto la explotación del embalse con fines recreativos y turísticos en temporada estival, a veces por encima de la capacidad de carga sostenible por el lago (Prospero, 2002).

Actualmente, es uno de los ambientes acuáticos continentales más problemáticos del país debido a su avanzado grado de eutrofización (Daga *et al.*, 2009). Reportes previos mostraron la presencia de Ag, Al, As, Cr, Hg y otros metales en la biota de este cuerpo de agua (Monferrán *et al.*, 2016). Estos resultados y debido a que se encuentra cercano a centros de alta densidad poblacional, son motivos de especial preocupación y conllevan la necesidad de seguir monitoreando los niveles de metales y metaloides en este reservorio.

El **LAGO LOS MOLINOS (LLM)** (Fig. 2.6) es un cuerpo de agua artificial localizado en el centro oeste de la provincia de Córdoba, en el Valle de Calamuchita. Fue construido con el propósito de proveer agua potable, energía eléctrica, agua para riego y control de crecidas. Además, representa una atracción turística importante para la región, ya que en sus aguas se practican diversos deportes náuticos y actividades recreativas, como la pesca.



Figura 2.6: Lago Los Molinos.

Las principales actividades realizadas en la cuenca se relacionan con la agricultura (soja, maíz y papa) y el ganado. Diferentes animales (vacas y caballos) pastan en la costa oeste del embalse y lo utilizan como bebedero, proporcionando una descarga directa de estiércol en el cuerpo de agua (Rodríguez Reartes *et al.*, 2016). Ha sido clasificado como un lago mesotrófico a eutrófico, con floraciones recurrentes de cianobacterias (Bazán *et al.*, 2014).

En los últimos años, este reservorio ha sufrido impactos naturales (incendios e inundaciones en los alrededores) y fuerte presión antropogénica por el crecimiento abrupto de asentamientos urbanos e instalaciones turísticas sin planificación ni control. El tratamiento de aguas residuales domésticas en la zona se realiza a través de fosas sépticas y pozos negros, lo que resulta ineficaz debido a las características del suelo de la zona y la proximidad de las viviendas al lago (<50 m de la costa para algunos edificios) (Rodríguez Reartes *et al.*, 2016). Por consiguiente, el aporte de líquidos residuales sin el adecuado tratamiento, el mal manejo de los suelos, la quema de pastizales y del monte serrano, así como las escorrentías agrícolas y ganaderas provenientes del área, contribuyen al deterioro de la calidad de sus aguas.

A su vez, este reservorio ha presentado indicios crecientes de eutrofización tales como proliferaciones masivas de algas visibles en superficie, conjuntamente con elevados contenidos de fosfato y nitrógeno amoniacal (Cossavella, 2003). Por otra parte, se han registrado varios eventos de mortandad de peces en este lago (Bazán *et al.*, 2006). El primero se registró en diciembre de 1999, coincidente con el florecimiento del dinoflagelado *Ceratium hirundinella*. El segundo evento se registró en diciembre del 2003, luego de las primeras lluvias registradas en la cuenca, atribuyéndose a la mortalidad de los peces los bajos valores detectados de oxígeno disuelto. Finalmente, en 2005 y 2006 volvió a presentarse esta situación, ante floraciones de *C. hirundinella* (Rodríguez Reartes *et al.*, 2016).

El **EMBALSE DE RIO TERCERO (ERT)** (Fig. 2.7) es el cuerpo artificial de agua más grande de la provincia de Córdoba, ubicado en el departamento de Calamuchita. Fue construido en el año 1936 sobre el río Tercero, con el fin de suministrar energía hidroeléctrica.



Figura 2.7: Embalse de Río Tercero.

En 1984 comenzó a operar comercialmente la Central Nuclear Embalse (Fig. 2.8), que utiliza agua de este reservorio para enfriar el reactor nuclear. Toma agua de 15 m de profundidad ($33 \text{ m}^3/\text{s}$), la hace circular por su sistema de enfriamiento y la devuelve con una temperatura mayor ($\sim 7 \text{ }^\circ\text{C}$), a través de un canal de 6



Figura 2.8: Central Nuclear Embalse.

Km, al cauce de uno de los tributarios, el río Quillinzo (Mariñelarena *et al.*, 2014). Este embalse se encuentra afectado por la salida del sistema de refrigeración, lo cual podría influir en la distribución y en la biodiversidad de la biota (Lamaro *et al.*, 2013). Por tratarse de un reactor tipo CANDU (Canada Deuterium Uranium), utiliza uranio natural como combustible y agua pesada como moderador.

Esta planta de energía es similar a las que existen operando en Canadá, Corea del Sur, India, Rumania, Pakistán y China. La Central también produce el isótopo de cobalto 60, para aplicaciones en medicina, investigación e industria, constituyéndose en uno de los principales abastecedores del mercado local y mundial (Mariñelarena *et al.*, 1998).

Actualmente tiene múltiples propósitos, como el suministro de agua para tres ciudades situadas en sus costas (20.000 habitantes aproximadamente), actividades recreativas, control de inundaciones, riego y generación de energía. Durante 2013 se observó un deterioro en la calidad de sus aguas, llevándolo a un estado progresivo de eutrofización, desde un lago mesotrófico hasta eutrófico. Se encuentra altamente influenciado por la agricultura, el manejo pecuario en alta pendiente, la erosión del suelo, la actividad minera, la descarga de efluentes domésticos no tratados y los provenientes de industrias (Ledesma *et al.*, 2013).

Aproximadamente a 45 Km de este reservorio se encuentra uno de los polos fabriles químicos más importantes del país, en la ciudad de Río Tercero (Córdoba). Entre las principales industrias de esta ciudad se encuentran:

- *Atanor*: ofrece productos para la protección de cultivos (herbicidas, insecticidas, fungicidas y coadyuvantes) y químicos (ácido acético, ácido clorhídrico, cloro licuado, fenol, hipoclorito de sodio, agua oxigenada y soda cáustica). En la planta ubicada en Río Tercero se realiza la producción de cloro.

- *Petroquímica Río Tercero S.A.*: produce Diisocianato de Tolueno, materia prima fundamental de espumas y resinas poliuretánicas. Además produce policloruro de aluminio, ácido

clorhídrico, soda cáustica e hipoclorito de sodio. Se han registrado accidentes en años anteriores en su planta de producción, como la liberación de gases tóxicos.

-Fábrica Militar. Produce ácido nítrico, amoníaco, ácido sulfúrico y nitrato de amonio. Además, posee un área de producción metalmeccánica para la fabricación de cañones, morteros, torretas de tanques, munición de artillería, etc. En el año 2013, la rotura de un caño que transportaba ácido nítrico desde la Fábrica Militar a su vecina Petroquímica Río Tercero, produjo la liberación de gases tóxicos al ambiente, generando pánico y desconcierto en la población local (Fig. 2.9).



Figura 2.9: Fuga en planta de producción de ácido nítrico- Fabrica Militar Río Tercero 2013.

La actividad industrial y el tráfico automotor cumplen un rol importante en la formación de material particulado, que puede resultar en una mezcla compleja de metales, sales, compuestos orgánicos volátiles, hidrocarburos aromáticos policíclicos y endotoxinas que pueden interactuar formando otros compuestos (Billet *et al.*, 2007). Los metales, especialmente, tienen una gran capacidad para asociarse a masas de aire, transportándose en la atmósfera y tendiendo a depositarse en áreas alejadas a su fuente de origen (Imperato *et al.*, 2003).

Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado, las industrias presentes en Río Tercero podrían ejercer impactos negativos sobre la calidad del aire y emitir contaminantes que pueden alcanzar las aguas del ERT.

En este contexto, nos propusimos analizar la concentración de diversos elementos inorgánicos en muestras de agua, sedimento, camarón y pejerrey del Lago San Roque, del Lago Los Molinos y del Embalse de Río Tercero. Conjuntamente se midieron $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$. Con estos resultados se evaluó la transferencia de elementos inorgánicos en la cadena trófica, estimando posibles efectos adversos para la salud humana a través de su consumo.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1 Área de estudio

El **LSR** (31°22'41" S - 64°28'10" W) se encuentra aproximadamente a 35 Km de la ciudad de Córdoba (Fig. 2.10). Cuenta con una superficie de 16 km², un volumen máximo de capacidad de 180 hm³ y una profundidad máxima de 35,5 m. Su tiempo de retención se ha estimado entre 37 y 219 días. Tiene dos afluentes principales, el río San Antonio y el río Cosquín, y dos afluentes menores, el arroyo Los Chorrillos y el arroyo Las Mojarras (Rodríguez *et al.*, 2000). El régimen pluvial se caracteriza por la discontinuidad bianual. La ES se produce entre mayo y octubre, en los meses restantes se produce la EH, con lluvias frecuentes (Kammerman y Dasso, 2000). Los muestreos se realizaron sobre la costa del lago, acceso puente Las Mojarras, RN 38.

El **LLM** (31°43'30" S y 64°32'20" W) se encuentra aproximadamente a 60 Km de la ciudad de Córdoba (Fig. 2.10). Posee una profundidad media de 16 m, una profundidad máxima de 52 m, un área de 21,1 km² al nivel del vertedero y un volumen máximo de 400 hm³. Su tiempo de retención se ha estimado en 451 días. Sus principales afluentes son el Río San Pedro, Río Los Espinillos, Río del Medio y Río Los Reartes (Borgnino *et al.*, 2006). Su único efluente es el río Los Molinos. La cuenca del embalse de Los Molinos se extiende sobre un área de 978 km². Los muestreos se realizaron sobre la costa del lago, acceso por margen sur, RP 5.

El **ERT** (32°11' S, 64°23' W) se encuentra aproximadamente a 120 Km de la ciudad de Córdoba (Fig. 2.10). Posee un área de 46 km², una profundidad media de 12 m, una profundidad máxima de 46 m, un volumen máximo de 560 hm³ y un tiempo de residencia de 292 días (Mariazzi *et al.*, 1992). Sus principales afluentes son el Río Santa Rosa, Río Grande, Río Amboy, Río Quillinzo y de la Cruz. Los muestreos se realizaron sobre la costa del lago, acceso por margen sureste, RP 5.

2.2.2 Recolección y procesado de muestras

En los lagos mencionados anteriormente, se tomaron muestras de agua, sedimento, plancton, camarón (*Palaemonetes argentinus*) y pejerrey (*Odontesthes bonariensis*), durante dos campañas de monitoreo. Se seleccionaron las fechas de muestreo teniendo en cuenta la estacionalidad, siendo la EH en abril del 2014 y la ES en agosto de 2015.

La recolección y procesado de las muestras se describen mediante un esquema en la Fig. 2.11.

Se realizó la caracterización físico-química del agua de los reservorios en las diferentes fechas de muestreo, teniendo en cuenta la temperatura, pH, conductividad y oxígeno disuelto (OD). Las variables fueron medidas *in situ*, con un equipo portátil (WTW Multiline F/Set 3).

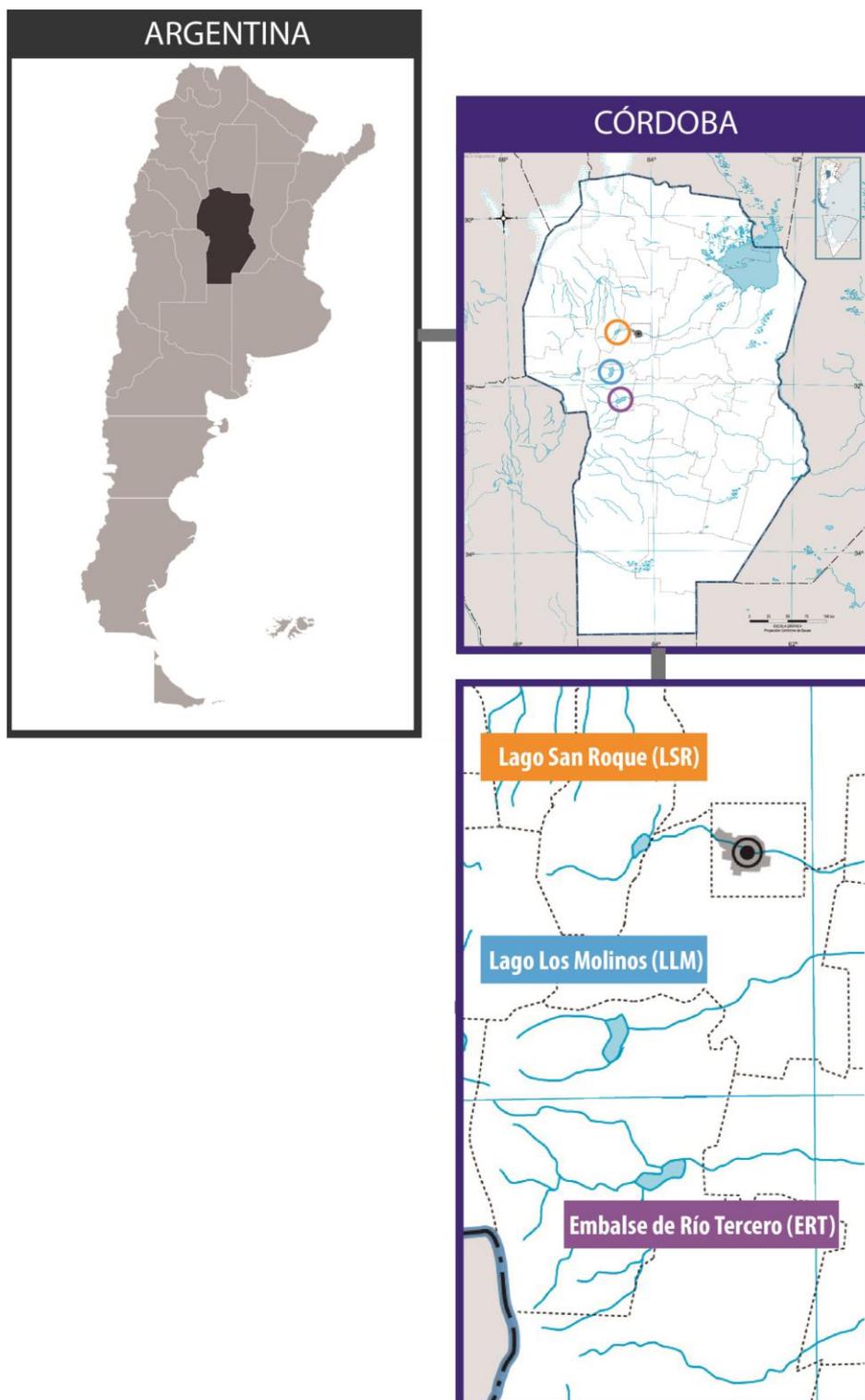


Figura 2.10: Provincia de Córdoba y localizaciones geográficas de los reservorios: Lago San Roque, Lago Los Molinos y Embalse de Río Tercero.

RECOLECCIÓN Y PROCESADO DE MUESTRAS



Figura 2.11: Recolección y procesado de muestras de agua, sedimento, plancton, camarón y pejerrey para la medición de EI₂ e isótopos estables.

2.2.2.1 Muestras de origen abiótico

Las muestras de agua (n=4 en cada campaña de monitoreo) se colectaron y procesaron como se describe en la **sección 1.2.2 del capítulo 1**.

Las muestras de sedimentos (n=3 en cada campaña de monitoreo) se recolectaron aproximadamente a 0-15 cm de profundidad, utilizando una cuchara y se almacenaron en recipientes, siendo ambos materiales de plástico. Posteriormente se secaron a 35 °C y se tamizaron por medio de mallas de acrílico de 63 µm. La extracción de elementos inorgánicos se realizó según Maiz *et al.* (2000). El procedimiento consiste en una extracción secuencial de tres etapas, en la cual la muestra tamizada es sometida a: a) una solución 0,01 M de CaCl₂ bajo agitación a temperatura ambiente durante 2 h (fracción móvil - A1); b) a una solución acuosa de 0,005 M de DTPA, 0,01 M de CaCl₂ y 0,1 M de TEA a pH 7,3, bajo agitación a temperatura ambiente durante 4 h (fracción movilizable - A2); y c) 1 mL de HNO₃ y 3 mL de HCl, durante la noche a temperatura ambiente (fracción residual - A3). Las dos primeras fracciones son definidas como aquellas biodisponibles por la biota en contacto con el sedimento en cuestión.

Las fracciones obtenidas fueron almacenadas a 4 °C, hasta el momento de su análisis.

2.2.2.2 Muestras de origen biótico

El plancton se recolectó filtrando 20 litros de agua *in situ*, con una malla de nylon de poro 50 µm, obteniéndose un total de 5 réplicas por muestreo. Los camarones fueron capturados usando una red de arrastre plástico y crioanestesiados para luego ser procesados. Se obtuvieron 5 réplicas por muestreo de aproximadamente 9-10 individuos cada una, con camarones de 0,20 ± 0,1 g de peso y 2,9 ± 0,3 cm de longitud. Para la determinación de elementos inorgánicos e isótopos estables, se utilizaron los organismos completos.

Los individuos de pejerrey (n= entre 8 y 14) fueron capturados por pesca con caña y fueron inmediatamente congelados y transferidos al laboratorio. De cada pez se obtuvo su peso (**LSR**: 32 ± 6 g EH y 29 ± 5 g ES; **LLM**: 63 ± 13 g EH y 190 ± 43 g ES y **ERT**: 55 ± 18 g EH y 61 ± 5 g ES) y longitud estándar (**LSR**: 15 ± 1 cm EH y 14 ± 1 cm ES; **LLM**: 18 ± 2 cm EH y 24 ± 1 cm ES y **ERT**: 16 ± 2 cm EH y 16 ± 1 cm ES). Estos fueron diseccionados, separando el músculo (órgano de interés).

El material biológico fue secado a 30 °C hasta peso constante y homogeneizado en un mortero de cerámica.

2.2.3 Determinación multielemental

Se determinó la concentración de elementos inorgánicos tales como Ag, Al, As, B, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Hg, Li, Mn, Mo, Ni, P, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, U, V y Zn (EI₂). Para la medición de estos elementos en las muestras bióticas (plancton, camarón y músculo de pejerrey), se efectuaron digestiones ácidas. Se tomaron aproximadamente 0,02 g de muestra seca y homogeneizada, y se digirieron con 8 mL de HNO₃ (sub-boiling, Merck) y 1 mL de H₂O₂ (Merck) en recipientes de teflón, bajo calentamiento (180 °C) durante 24 h.

Posteriormente, para el análisis de los EI₂ se procedió como se describe en la **sección 1.2.3 del capítulo 1**.

A su vez, para verificar la eficiencia de la técnica, se utilizaron materiales de referencia certificados de músculo bovino en polvo (NIST 8414) y de agua dulce (NIST 1643e). Las recuperaciones de los materiales de referencia para los elementos ensayados fueron de 102 ± 8 % y 102 ± 7 %, respectivamente. Conjuntamente se prepararon muestras enriquecidas, para las cuales se añadieron cantidades conocidas de soluciones patrón que contenían los elementos analizados, a 0,02 g de muestra de músculo de pescado, camarón y plancton, antes de la digestión. Las recuperaciones medias fueron de 93 ± 9 %, 94 ± 20 % y 91 ± 7 %, respectivamente.

2.2.4 Determinación de $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$

Para la medición de $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ se utilizaron las muestras secas y homogeneizadas. A las muestras bióticas (plancton, camarón y músculo de pejerrey) se les extrajo el componente lipídico, utilizando un aparato Soxhlet con éter de petróleo. Luego se procedió como lo indica la **sección 1.2.4 del capítulo 1** para la medición de $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$.

2.2.5 Índice de riesgo ecológico

Con el fin de evaluar el grado de contaminación de metales y As en los sedimentos de los sitios monitoreados, se calculó el Índice de Riesgo Ecológico Potencial (IR) según la metodología de Hakanson (1980). Se determina en base a ocho parámetros (PCB, Hg, Cd, As, Pb, Cu, Cr y Zn), pero en este estudio se excluyeron los PCB. Este índice estima la peligrosidad de los metales y del As para los sistemas acuáticos, reflejando el nivel de toxicidad y la sensibilidad ecológica de la contaminación por este tipo de elementos. Se calcula por medio de las siguientes ecuaciones:

$$IR = \sum E_i$$

$$E_i = T_i \cdot C_f$$

$$C_f = C_o / C_n$$

Donde:

IR representa la sumatoria de todos los factores de riesgo calculados para los elementos ensayados en el sedimento. E_i es el factor de riesgo ecológico potencial monomial, calculado para cada elemento. T_i es el factor estandarizado de respuesta tóxica, calculado en función de la toxicidad de cada sustancia y la sensibilidad de las especies, definido por Hakanson (1980) (Tabla 1 del ANEXO II). C_f es el factor de contaminación. C_o es la concentración de los elementos en el sedimento en g metal.kg⁻¹ masa seca de sedimento. C_n es el valor de referencia para los metales y As en ambientes acuáticos. Representan los límites superiores de valores de base de los elementos (Tabla 1 del ANEXO II).

Dependiendo de los valores de IR y E_i obtenidos, el riesgo puede clasificarse en las categorías indicadas en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1: Niveles de riesgo ecológico asociados a un elemento (E_r) y el nivel de riesgo ecológico total en sedimentos (IR).

Valor E_r	Nivel de riesgo ecológico asociado a un elemento	Valor IR	Nivel de Riesgo ecológico total en sedimentos
$E_r < 40$	Bajo	$R_I < 95$	Bajo
$40 \leq E_r < 80$	Moderado	$95 \leq R_I < 190$	Moderado
$80 \leq E_r < 160$	Considerable	$190 \leq R_I < 380$	Considerable
$160 \leq E_r < 320$	Alto	$R_I \geq 380$	Muy Alto
$E_r \geq 320$	Muy Alto		

2.2.6 Factor de Bioacumulación (FBA)

La acumulación de un determinado compuesto en un organismo ocurre ante un aumento progresivo del mismo, como consecuencia de que el ritmo de absorción supera la capacidad del organismo para eliminar dicha sustancia. Es un proceso por el cual, una sustancia alcanza un organismo en una concentración más alta de la que se encuentra en el ambiente al que está expuesto.

Con el fin de evaluar la acumulación de los EI_2 en los tejidos de los organismos en estudio, se calculó el FBA de acuerdo con la siguiente ecuación (Monferrán *et al.*, 2016):

$$FBA = C_{ss} / C_w$$

Donde:

C_{ss} es la concentración del elemento en los organismos en estado estacionario ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ps), y C_w es la concentración del elemento en el agua ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$).

Este factor, fue calculado para el músculo en el caso de los peces y para plancton y camarón en el homogeneizado total.

2.2.7 Evaluación de riesgo para la salud humana por consumo de Pejerrey

En los últimos años ha habido un creciente interés dentro de la comunidad científica por conocer los riesgos potenciales para la salud humana, derivados del consumo de peces expuestos a contaminantes que están presentes en el ambiente, procedentes de fuentes naturales o antropogénicas (Conti *et al.*, 2012).

El consumo de pescado ha sido identificado como la principal vía de exposición humana a metales y metaloides, representando más del 90 %, en comparación con otras formas de exposición, como la inhalación y contacto dérmico (Bortey-Sam *et al.*, 2015). Diversos métodos han sido propuestos para evaluar los posibles riesgos para la salud que plantean los elementos inorgánicos presentes en peces destinados a consumo humano. En el presente estudio se estimó:

la ingesta diaria promedio (IDP) para adultos y niños, comparándola con lo recomendado; el cociente de peligro objetivo (CPO); riesgo de cáncer (RC) causado por As y la tasa máxima de consumo mensual de pescado para minimizar efectos sistémicos crónicos (TMCM).

2.2.7.1 Estimación del consumo diario de EI₂

La ingesta diaria promedio (IDP) de los elementos depende tanto de las concentraciones presentes en los peces como de la tasa de consumo por el hombre.

La IDP ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$) de elementos inorgánicos por consumo de pescado se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{IDP} = \frac{Mc \times Tc}{PC}$$

Donde:

Mc es la concentración del elemento en el músculo de los peces; Tc es la tasa de consumo, considerando 150 y 75 $\text{g} \cdot \text{día}^{-1}$, para adultos y niños, respectivamente; PC corresponde al peso corporal, considerando un promedio de 70 kg para hombres y mujeres adultos y 20 kg para niños de ambos sexos, de siete años de edad (USEPA, 2000).

Se compararon los resultados obtenidos de IDP con la ingesta diaria recomendada (IDR). Estos valores se calcularon teniendo en cuenta las dosis de referencia de los elementos proporcionados por la USEPA (2017) y por la JECFA (2011) para el caso del Pb. Los valores de la dosis oral de referencia (DOR) ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$) utilizados en este estudio fueron los siguientes: Al: 1; Ba: 0,2; V: 0,005; Mn: 0,1; Fe: 0,7; Ag: 0,005; Sr: 0,6; Ni: 0,02; Co: 0,0003; Hg: 0,0001; Li: 0,002; Cu: 0,04; Cr: 0,003; Zn: 0,3; As: 0,0003; Se: 0,005; Cd: 0,001, Pb¹ (enfermedades crónicas renales): 0,00063 y Pb² (efecto sobre la presión arterial sistólica): 0,0015.

Además, basándonos en la guía USEPA (1989), asumimos que la dosis de ingestión es igual a la dosis de contaminante adsorbido y que la cocción no tiene efecto sobre ellos.

2.2.7.2 Cociente de peligro objetivo (CPO)

Se aplica este índice para la estimación de riesgos potenciales para la salud, asociados a la exposición de contaminantes químicos a largo plazo. El CPO es una relación entre la concentración medida y la dosis de referencia oral de un contaminante, ponderada por la duración y la frecuencia de la exposición, la cantidad ingerida y el peso corporal del individuo. En este estudio se determinaron según el método desarrollado por USEPA (1989), teniendo en cuenta el consumo de pejerrey por parte de pescadores y de la población en general. Se calculó según la siguiente ecuación:

$$\text{CPO} = \frac{FE \times DE \times TIA \times C}{DOR \times PC \times TPN} \times 10^{-3}$$

Donde:

FE es la frecuencia de exposición; DE es la duración de la exposición (70 años), equivalente al tiempo de vida media (USEPA, 1991); TIA es la tasa de ingestión de alimentos (150 g.día⁻¹); C es la concentración del elemento (µg.g⁻¹); DOR es la dosis oral de referencia (mg.kg⁻¹.día⁻¹) basada en USEPA (2017), que indica la cantidad del compuesto por kilogramo de peso que un ser humano puede ingerir por día sin riesgo; PC es el peso corporal (70 kg para adultos); TPN es el tiempo promedio para los no carcinógenos (365 días/año x número de años de exposición), suponiendo 70 años.

Para el cálculo del CPO del Pb, se aplicó la siguiente ecuación (Jovic y Stankovic, 2014):

$$\text{CPO}_{(\text{Pb})} = \frac{C}{\text{LMR}}$$

Donde:

C es la concentración de Pb en el músculo de pescado (µg.g⁻¹ ps); LMR (límite máximo de residuos de 0,3 µg.g⁻¹) establecido por el Reglamento N° 1881/2006 (EC, 2006).

Si se obtiene un valor de CPO menor que 1, entonces no se espera que la población presente efectos adversos para la salud como resultado de la exposición. Si el resultado es mayor que 1, entonces es posible que la población experimente efectos adversos en la salud (Iwegbue, 2014; Dalipi *et al.*, 2015).

Se consideraron riesgos para la salud de pescadores y de la población en general por separado, ya que la frecuencia del consumo de pescado por estos dos grupos poblacionales es diferente. Para los pescadores, se estableció una frecuencia de exposición de 48 días/año (una vez por semana), mientras que para la población en general, se estableció 12 días/año (una vez al mes).

Se ha informado de que la exposición a dos o más contaminantes puede resultar en efectos aditivos y/o interactivos (Hallenbeck, 1993). Por lo cual se calculó el CPO total; suma aritmética de los valores de CPO de los elementos individuales, como lo describe Yi *et al.* (2011):

$$\text{Total CPO (TCPO)} = \text{CPO (elemento 1)} + \text{CPO (elemento 2)} + \text{CPO (elemento 3)} \dots$$

2.2.7.3 Riesgo de cáncer (RC) causado por As

El RC se estimó como el incremento de la probabilidad de un individuo a desarrollar cáncer a través de una exposición de por vida (USEPA, 1989). Se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{RC}_{\text{As}} = \frac{FE \times DE \times TIA \times C \times \text{FPCo}}{PC \times TPN} \times 10^{-3}$$

Donde:

FPCo es el factor de pendiente para cancerígenos oral de la base de datos del Sistema Integrado de Información de Riesgos (USEPA, 2010), que fue de 1,5 (mg.kg⁻¹.día⁻¹) para As. Un RC inferior a 10⁻⁶ se considera despreciable, entre 10⁻⁶ y 10⁻⁴ se considera aceptable y superior a

10^{-4} se considera inaceptable (USEPA, 1989, 2010; Islam *et al.*, 2014). Si se supera este valor, indica una probabilidad de que 1 individuo de 10.000 desarrolle cáncer. Se evaluó para la población general y para pescadores.

2.2.7.4 Tasa máxima de consumo mensual (TMCM)

También se evaluó la tasa máxima de consumo mensual de pescado (comidas por mes) para minimizar efectos sistémicos crónicos en adultos y niños (USEPA, 2000). En el supuesto de que no existen otras fuentes de EI₂ en la dieta de los consumidores, el consumo mensual permitido de pescado para el que no se esperan efectos adversos para la salud se determina como sigue:

$$\text{TMCM} = \frac{\text{DOR} \times 7 \times 4 \times \text{PC}}{C}$$

Donde:

DOR es la dosis oral de referencia para cada elemento ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$); 7 es para calcular la dosis de referencia por semana; 4 para estimar la dosis de referencia por mes; PC es el peso corporal (70 y 20 kg, de adultos y niños) y C es la concentración de los EI₂ encontrada en los músculos de los peces ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$).

2.2.8 Análisis estadístico

Todos los datos se presentan como media \pm desviación estándar. La distribución normal de los datos fue analizada por la prueba Shapiro-Willks. Las diferencias estadísticas entre la concentración de EI₂ encontradas en los diferentes lagos y por estación, fueron determinadas a través de un ANOVA. La significancia fue aceptada a $p < 0,05$. Se empleó el software InfoStat/P (2008) en todos los casos. Las diferencias significativas en las concentraciones de elementos entre lagos, se identifican con letras mayúsculas y las diferencias entre estaciones (para un mismo lago), se identifican con letras minúsculas.

2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.3.1 Caracterización físico-química de las muestras de agua

Los resultados de los análisis físico-químicos de las muestras de agua se presentan en la Tabla 2.2. Variaciones estacionales significativas en la temperatura se registraron en los tres lagos muestreados, con temperaturas más bajas durante la ES (entre 14,1-15,5 °C), de acuerdo con la época en la que se realizó el muestreo, correspondiente al invierno. Por otra parte, se registraron variaciones significativas en los valores de pH, tendiendo a mayor alcalinidad las aguas del LSR y el ERT durante la ES y observándose la relación inversa en el LLM. El pH de un cuerpo de agua puede variar a lo largo de un amplio rango de valores, siendo el más apto para la proliferación y desarrollo de la vida acuática, entre 6 y 9 (McKean y Nagpal, 1991), lo que concuerda con los valores determinados en este estudio. Las variaciones de pH dependen de factores intrínsecos y extrínsecos del sistema acuático, como por ejemplo del equilibrio carbónico (carbonato-bicarbonato) y de procesos biológicos (fotosíntesis, respiración, descomposición de materia orgánica, etc.). Además, efectos de alcalinización natural pueden suceder vía disolución de rocas y minerales que contienen metales alcalinos y alcalinotérreos del terreno, que drenan al reservorio por escorrentía.

Tabla 2.2: Valores de parámetros físico-químicos analizados en LSR, LLM y ERT, durante estación seca y húmeda.

RESERVORIO	ESTACIÓN	Temperatura (°C)	pH	Conductividad ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	Oxígeno disuelto ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Nivel del lago (m)
LSR	Seca	15,5 \pm 0,3	9,2 \pm 0,5 ^a	364 \pm 20 ^a	10,7 \pm 0,2 ^a	32,4
	Húmeda	18,7 \pm 0,4 ^a	7,8 \pm 0,2	150 \pm 18	7,8 \pm 0,3	35,7
LLM	Seca	14,1 \pm 0,7	7,8 \pm 0,2	143 \pm 10 ^a	9,9 \pm 0,6	49,6
	Húmeda	19,1 \pm 0,2 ^a	8,7 \pm 0,3 ^a	92 \pm 12	9,4 \pm 0,3	53,4
ERT	Seca	15,2 \pm 0,2	8,9 \pm 0,5 ^a	192 \pm 10 ^a	11,8 \pm 0,2 ^a	43,9
	Húmeda	22,2 \pm 0,3 ^a	7,3 \pm 0,3	134 \pm 8	9,1 \pm 0,6	46,9

En medios acuosos la conductividad es directamente proporcional a la concentración de sólidos disueltos, por lo tanto cuanto mayor sea dicha concentración, mayor será la conductividad. Este parámetro presentó valores más altos durante la ES en los tres lagos y se puede relacionar con el menor nivel de agua registrado en los lagos con respecto a los niveles en EH (Tabla 2.2), que deriva en una mayor concentración de sólidos en el agua.

Por otra parte, resulta muy importante determinar la cantidad de oxígeno disuelto (OD) en el agua, ya que es un indicador de su calidad y de la factibilidad de vida de organismos acuáticos. La concentración de OD de las aguas del LSR y del ERT, fue mayor durante la época seca que en la húmeda. Esto puede estar correlacionado a que el OD es inversamente dependiente de la temperatura; es decir aguas con elevadas temperaturas son capaces de disolver pequeñas cantidades de oxígeno. Además, los valores determinados son propicios para

el desarrollo de la vida de la gran mayoría de especies de peces y otros organismos acuáticos (Goyenola, 2007).

Por último, comparamos los niveles de agua que presentaban los lagos durante los muestreos desarrollados con la cota del vertedero y observamos que durante la EH los niveles registrados superaban los de la cota del vertedero y en ES seca se encontraban por debajo (Tabla 2.2).

2.3.2 Concentración multielemental en matrices abióticas

En la Fig. 2.12 y 2.13 se muestran las concentraciones de los EI₂ analizados en las muestras de agua ($\mu\text{g.L}^{-1}$) de los lagos estudiados en EH y ES, respectivamente. A fin de una mejor visualización de los resultados, se han separado los elementos en dos gráficos, según los niveles en los que se encontraban. En los gráficos A están representados los elementos que se encontraban en concentraciones por debajo de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ y en los gráficos B, los elementos en concentraciones por debajo de $200 \mu\text{g.L}^{-1}$. Los lagos se encuentran representados con distintos colores, naranja (LSR), celeste (LLM) y violeta (ERT).

Las diferentes letras indican diferencias significativas en la concentración de un elemento en particular entre los reservorios evaluados. Los valores promedios y las desviaciones estándar se encuentran en la Tabla 2 del ANEXO II. Aquellos elementos que no pudieron ser detectados o cuantificados en las muestras, se indicaron como LD o LQ respectivamente (Tabla 8 del ANEXO II).

Como se puede observar, la mayoría de los EI₂ se encuentran en concentraciones más altas en las aguas del LSR, en comparación con los otros reservorios. Esta tendencia se presenta en ambas estaciones, con algunas excepciones.

Durante la EH, elementos como el Ni y el Pb se encontraron en concentraciones más altas en el ERT (Fig. 2.12A). Estos elementos pueden ser introducidos en el ambiente por fuentes y usos antropogénicos. El Ni se libera a la atmósfera durante la combustión y es utilizado ampliamente en industrias, en galvanoplastia, baterías, pigmentos, prótesis quirúrgicas y dentales, componentes informáticos, catalizadores, entre otros usos (Bradl, 2005). A su vez, el Pb cuantificado puede ser el resultado de diversas actividades industriales realizadas en las proximidades del lago, su uso en baterías, pigmentos, tuberías, construcción, como agente antidetonante, etc. Además, puede ser liberado al ambiente por la quema de carbón, fundición de minerales y minería (Bradl, 2005). Igualmente, a pesar de haber sido eliminado de los combustibles, este metal sigue presente en la atmósfera (Gioia *et al*, 2017).

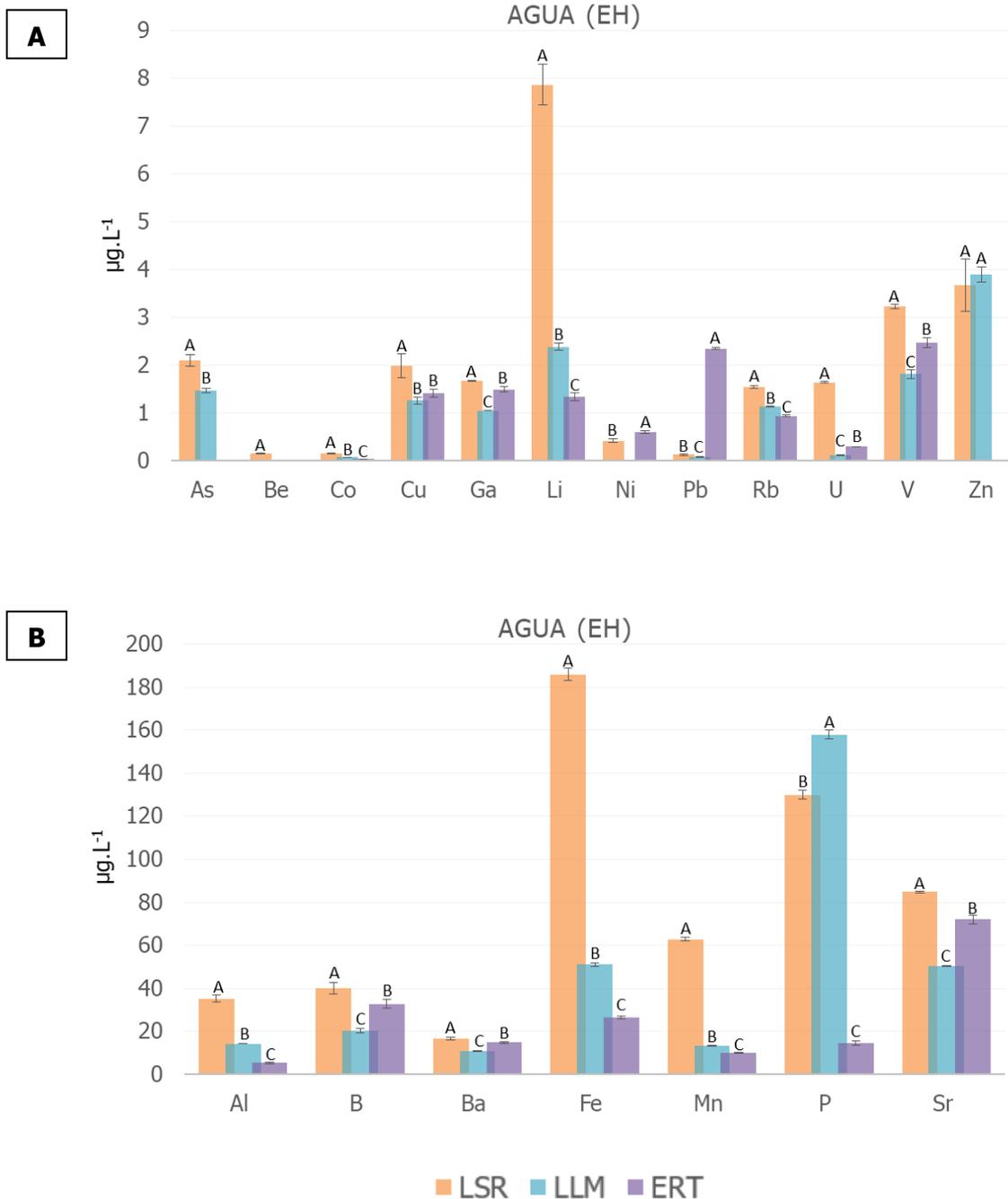


Figura 2.12: EI₂ minoritarios (A) y mayoritarios (B) analizados en muestras de agua (µg.L⁻¹) del LSR, LLM y el ERT en estación húmeda (EH).

A su vez, P se encontró en mayor concentración en el LLM (Fig. 2.12B). Este elemento puede provenir de fuentes antropogénicas puntuales que incluyen, aguas servidas domésticas e industriales, o por fuentes no puntuales que están asociadas con la escorrentía de áreas agrícolas y domésticas, en las que se emplean fertilizantes (Holtan *et al.*, 1988). Esto coincide con el uso agrícola de las tierras aledañas a este lago (Rodríguez Reartes *et al.*, 2016). La concentración de Zn en aguas del LSR fue similar a la encontrada en el LLM, y no fue detectado en el ERT. Varios

elementos no fueron detectados en las muestras analizadas de los tres lagos, como Ag, Bi, Cd, Cr, Hg, Mo, Se y Tl. El Be sólo fue cuantificado en muestras del LSR. Por último, Ni no pudo ser cuantificado en aguas del LLM ni As en aguas del ERT.

Durante la ES, el Ni se encontró en concentraciones más elevadas en el LLM, en comparación con el LSR y el ERT (Fig. 2.13A). Varios elementos tuvieron concentraciones similares en dos lagos; Cu (LSR y ERT), P (LLM y ERT) y Zn (LSR y LLM). Otros elementos resultaron por debajo del LD en los lagos analizados como Ag, Be, Bi, Cd, Cr, Hg, Mo, Se y Tl. A su vez en el ERT no se detectó Al, Co, Zn ni se pudo cuantificar Fe y Mn. En muestras del LLM tampoco se detectó Co.

Las diferencias encontradas pueden deberse a las características naturales propias de cada lago, así como al impacto de las diferentes actividades que se desarrollan en sus alrededores. Como se mencionó inicialmente, el LSR está influenciado por actividades urbanas y turísticas, el LLM por la agricultura y la ganadería y, el ERT por actividades industriales y nuclear.

Teniendo en cuenta las estaciones de monitoreo, la distribución de los elementos analizados en las muestras de agua fue diferente (estadística expresada en la Tabla 2 del ANEXO II; letras minúsculas indican diferencias significativas entre las estaciones). En el LSR, B, Ba, Ga, Li, Pb, Sr, U y V, se encontraron en mayor concentración en ES, mientras que Al, Be, Co, Cu, Fe, Mn, P y Rb se encontraron en mayor concentración en EH. No hubo diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de As, Ni y Zn entre las estaciones evaluadas.

En el LLM, B, Ba, Ga, Li, Ni, Sr y U se encontraron en mayor concentración en ES, mientras que Al, As, Co, Cu, Fe, Mn, P, Rb y V se encontraron en mayor concentración en EH. Las concentraciones de Pb y Zn, no difirieron entre estaciones. Por último, en ERT, As, B, Li, P, Sr, U y V se encontraron en mayor concentración en ES, mientras que Al, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Rb se encontraron en mayor concentración en EH. No hubo diferencias en el contenido de Ba y Ga en las muestras de agua entre las estaciones.

En general, Al, Co, Cu, Fe, Mn y Rb estuvieron en mayor concentración durante la EH y B, Li, Sr y U durante la ES, en los tres lagos. Los aportes de ríos y arroyos, la deposición atmosférica y la variación de diferentes parámetros hidrológicos, desempeñan un papel importante en la variabilidad estacional de la concentración de elementos inorgánicos (Achary *et al.*, 2016). La correlación entre la EH y las concentraciones más altas de los elementos, puede explicarse en términos del aumento de la cantidad de material erosionado y de la escorrentía urbana esperada durante la lluvia, considerando que las muestras fueron tomadas después de un período de intensas lluvias en Córdoba. La correlación observada entre altas concentraciones y la ES, podría atribuirse a las condiciones de bajo nivel del agua y a la temperatura elevada, que conducen a la desecación y concentración de los elementos en el agua (Achary *et al.*, 2016).

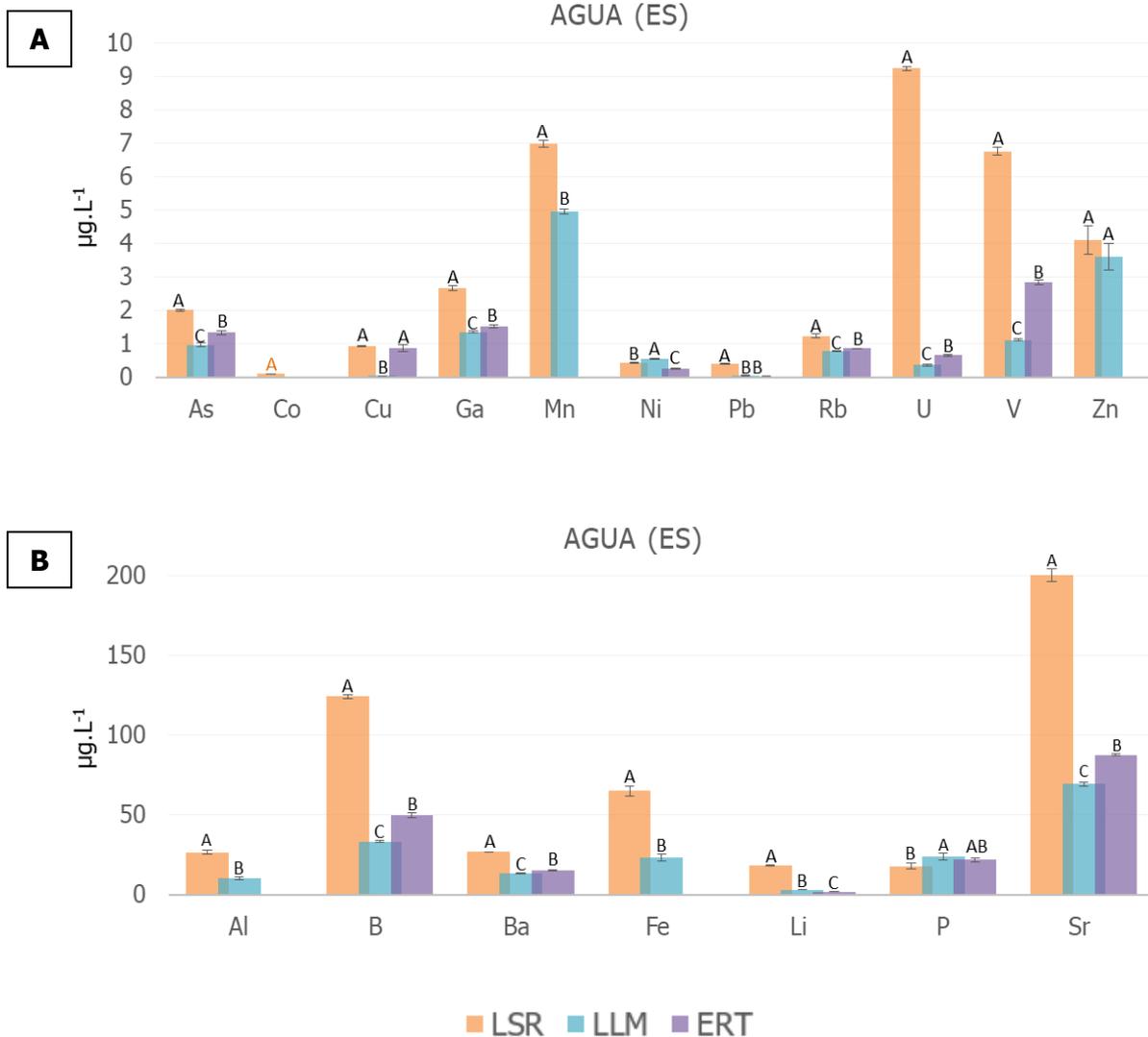


Figura 2.13: EI₂ minoritarios (A) y mayoritarios (B) analizados en muestras de agua (µg.L⁻¹) del LSR, LLM y el ERT en estación seca (ES).

Cabe destacar que en el LSR y el LLM durante la EH, se registraron niveles elevados de P, 130 y 158 µg.L⁻¹, respectivamente. Estos valores se encuentran por encima de los valores históricos promedios registrados de 50 (LSR) y 28 µg.L⁻¹ (LLM) (Rodríguez *et al.*, 2013; Bazán *et al.*, 2004). Es conocido que el enriquecimiento en nutrientes, principalmente de P y N, desplaza el equilibrio químico natural del sistema acuático con un aumento significativo en la producción primaria, conduciendo a la eutroficación y al deterioro de la calidad del agua (González de Infante, 1988). Como se mencionó anteriormente, las principales fuentes antropogénicas de P incluyen actividades agrícola-ganaderas, desechos químicos y humanos. En el LSR, las concentraciones de nutrientes usualmente son altas, debido a la carga proveniente de diversas fuentes puntuales presentes en la cuenca y márgenes del embalse que no poseen un tratamiento adecuado (Bustamante *et al.*, 2001). En cuanto al LLM, recibe P por descarga cloacal directa (28

%), tributarios (26 %), descarga animal directa (27 %) y como fuentes menores de aporte, la escorrentía agrícola (16 %) y la deposición atmosférica (3 %) (Bazán *et al.*, 2014). A partir de los resultados obtenidos podemos decir que estos lagos advierten el impacto de las actividades antropogénicas que se desarrollan en sus entornos.

Pocos estudios abordan la determinación multielemental en las aguas de estos tres lagos. Un estudio realizado por Monferrán *et al.* (2016) en el LSR, nos proporciona información a fines comparativos sobre el contenido de Ag, Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr y Zn en muestras de agua, durante el período 2011-2012. En general, estos elementos se encontraron en concentraciones más bajas en nuestro estudio, excepto el As que se encontró en concentraciones más altas durante la EH en el LSR y el LLM. En ambos estudios no fue detectado Ag ni Hg en agua.

Por otra parte, al comparar nuestros resultados con los de otros ambientes acuáticos del mundo, encontramos que las concentraciones de Cr, Cd y Pb en las aguas de los tres lagos, fueron inferiores a las informadas por Rajeshkumar *et al.* (2017) en el lago Taihu (China). En cambio, las concentraciones de Cu en este lago fueron similares a las del LLM y del ERT y levemente inferiores a las del LSR (EH). La región donde se ubica este lago es una de las áreas más industrializadas de China, con una alta densidad poblacional, y las concentraciones cuantificadas de los metales mencionados se atribuyen a los vertidos de enormes cantidades de agua servida y de efluentes industriales (Rajeshkumar *et al.*, 2017). Además, las concentraciones de Cd, Cr, Pb, Zn, Ni y Cu en las muestras de agua de los tres lagos, fueron inferiores a las informadas por Zhang *et al.* (2016) en el Lago Pontchartrain de Estados Unidos y similares a las de As. La concentración de estos elementos en el Lago Pontchartrain estuvo altamente influenciada por el tráfico vehicular de las autopistas. Sin embargo, las concentraciones de As, Mn y Pb en los lagos de Córdoba, fueron más altas que las informadas por Cui *et al.* (2001) en el Delta del Río Amarillo en China, una región designada como reserva natural nacional. Las diferentes situaciones descriptas demuestran cómo distintas fuentes de contaminación junto con las características propias de la cuenca, influyen en la composición de las aguas de los reservorios.

Al comparar las concentraciones de EI_2 obtenidas con los valores máximos permitidos para la protección de la biota acuática, propuestos por la Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación, Decreto Nacional N° 831/93 (SSRHN, 2003), encontramos que la concentración de Pb en el ERT durante la EH ($2,34 \mu\text{g.L}^{-1}$) superó el valor guía ($1,59 \mu\text{g.L}^{-1}$). El Pb es un metal no esencial que no posee una función fisiológica conocida, e incluso en pequeñas cantidades puede ser tóxico para los organismos acuáticos (Marasinghe Wadige *et al.*, 2014). Se conoce que en sistemas acuáticos puede generar una disminución del crecimiento de las algas, lo que significa menos alimento para los organismos acuáticos, teniendo repercusiones en el ecosistema entero (Taub, 2004). La distribución del Pb antropogénico en el medio acuático se rige por la entrada

atmosférica (gasolina con Pb) y el aporte de fuentes puntuales (áreas mineras, fundiciones, fábricas de productos químicos y productos a base de Pb) (Prosi, 1989).

Por otra parte, el contenido de metales y metaloides en sedimentos lacustres depende principalmente de las características geológicas de la cuenca. Sin embargo, existen otros procesos como el transporte atmosférico y las actividades antrópicas, que van modificando en el tiempo la concentración de estos elementos (Urrutia *et al.*, 2002).

En la Fig. 2.14 y 2.15 se muestran las concentraciones de EI_2 biodisponibles en los sedimentos ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ps) de los lagos durante EH y ES, respectivamente. En los gráficos identificados A, están representados los elementos que se encontraban en concentraciones por debajo de $2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y en los gráficos B, los elementos en concentraciones por debajo de $60 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Estas concentraciones se obtuvieron al sumar lo obtenido para la fracción A1 y A2. En las Tablas 3 y 4 del ANEXO II, se encuentran los valores obtenidos de elementos biodisponibles y totales ($A1+A2+A3$) en sedimento. Las diferentes letras encontradas en los gráficos indican diferencias significativas en la concentración de un elemento en particular entre los reservorios evaluados.

Nuevamente, durante la EH para la gran mayoría de los elementos las concentraciones más altas se encontraron en el LSR, con excepciones. El Cd estuvo presente en concentraciones superiores en el LLM y Ag, Fe, Ni y Zn en el ERT. En cuanto a las concentraciones de Al y Rb, no hubo diferencias significativas entre los tres lagos (Fig. 2.14A). Por otra parte, las concentraciones de Ba, Ga y P, no fueron diferentes entre el LLM y el ERT, siendo superiores a las concentraciones halladas en el LSR. El Cr no fue detectado en el LLM y en los demás reservorios se encontró en concentraciones similares. En los lagos San Roque y Los Molinos, la concentración de Se fue similar y los valores fueron superiores a los del ERT. Be, Bi, Hg, Mo y Tl no fueron detectados en las muestras analizadas, durante esta estación.

Por el contrario, durante la ES, Al, As, Cd, Cu, Mo, Pb, U y Zn presentaron concentraciones más elevadas en el ERT. En el LSR, elementos como Bi, Cr y Li, se encontraron en concentraciones más elevadas (Fig. 2.15A), mientras que en el LLM, B, Co, Mn y Se. Las concentraciones de P no difirieron entre los sedimentos de los tres lagos (Fig. 2.15B). Además, no hubo diferencias entre la concentración de V en LSR y ERT, ni tampoco para Fe y Rb entre LLM y ERT. Elementos como Ag, Be, Hg y Tl no se destacaron en ninguna de las muestras de los lagos analizados, durante esta estación de muestreo.

En cuanto a las variaciones estacionales, en el LSR, Pb y Zn no presentaron diferencias en sus concentraciones entre las estaciones de muestreo, mientras que Al, As, B, Cd, Co, Cu, Li, Mn, Ni, Rb, Se, Sr, U y V estuvieron en mayor concentración durante la EH y Ba, Bi, Cr, Fe, Ga, Mo y P, en ES (estadística expresada en la Tabla 3 del ANEXO II; letras minúsculas indican diferencias significativas entre las estaciones).

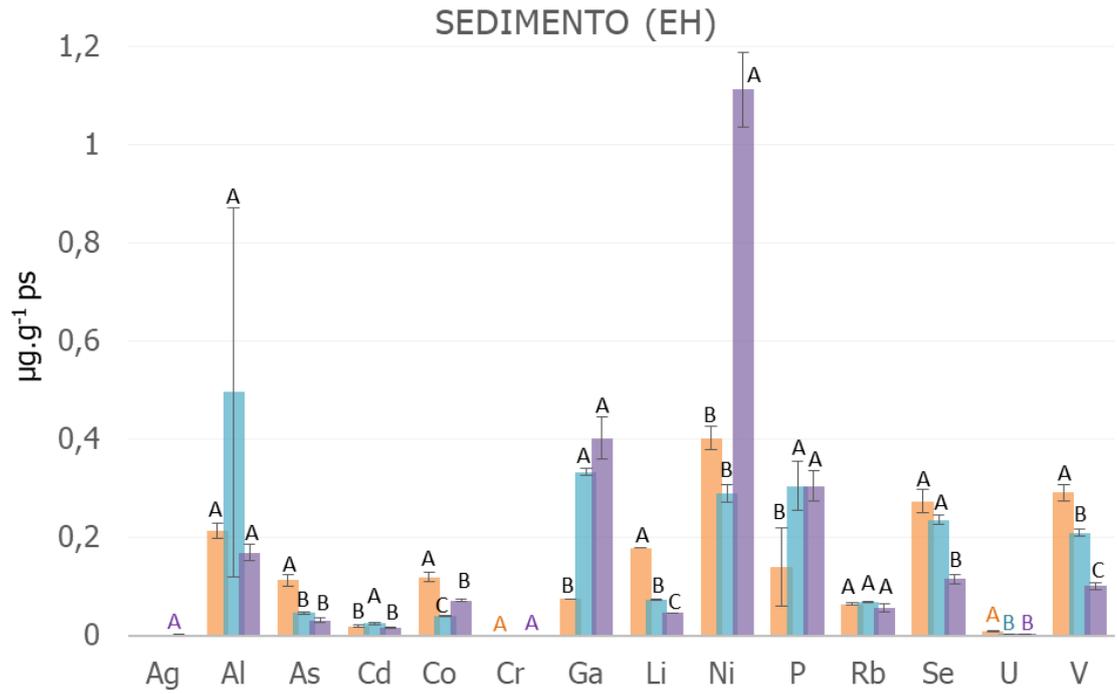
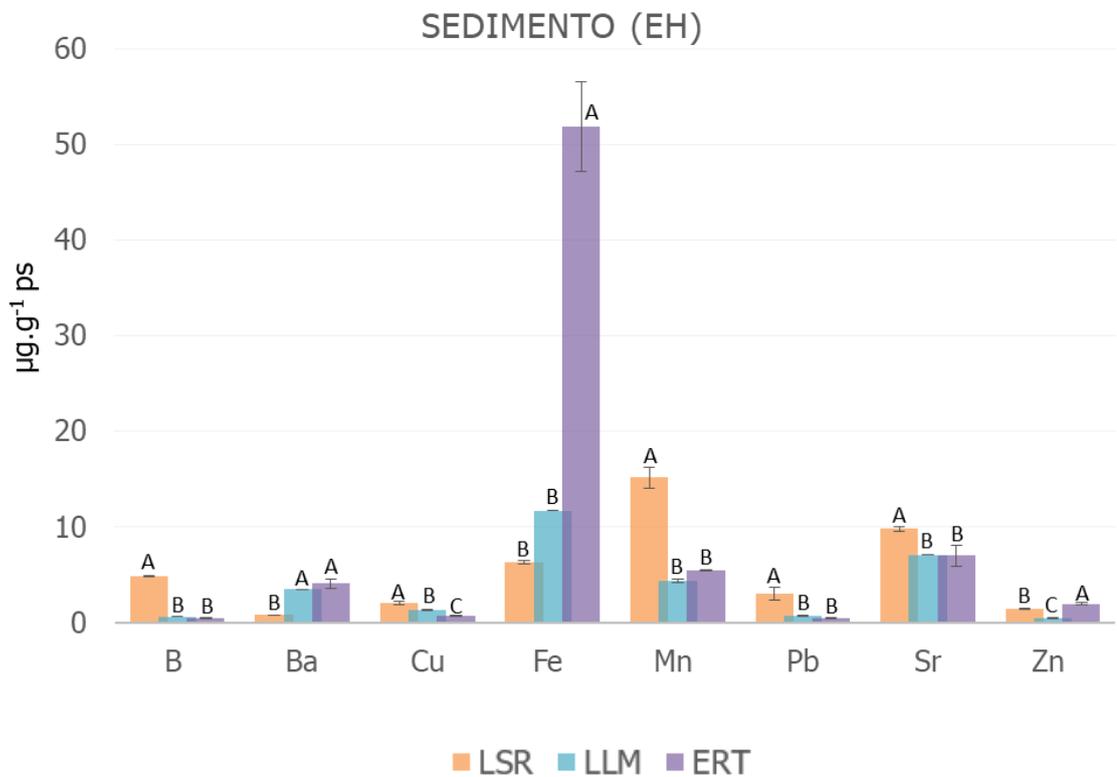
A**B**

Figura 2.14: EI₂ minoritarios (A) y mayoritarios (B) biodisponibles en muestras de sedimento (µg.g⁻¹) del LSR, LLM y ERT en estación húmeda (EH).

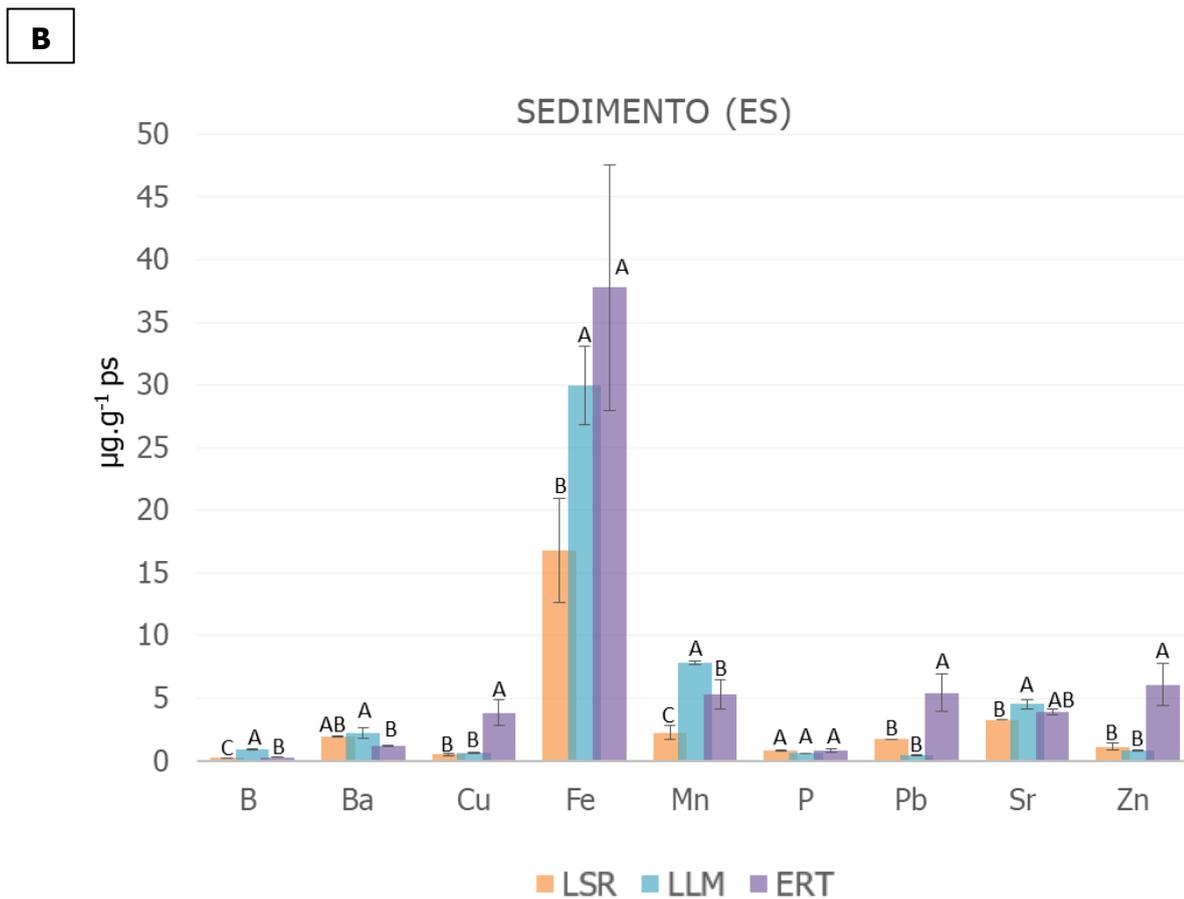
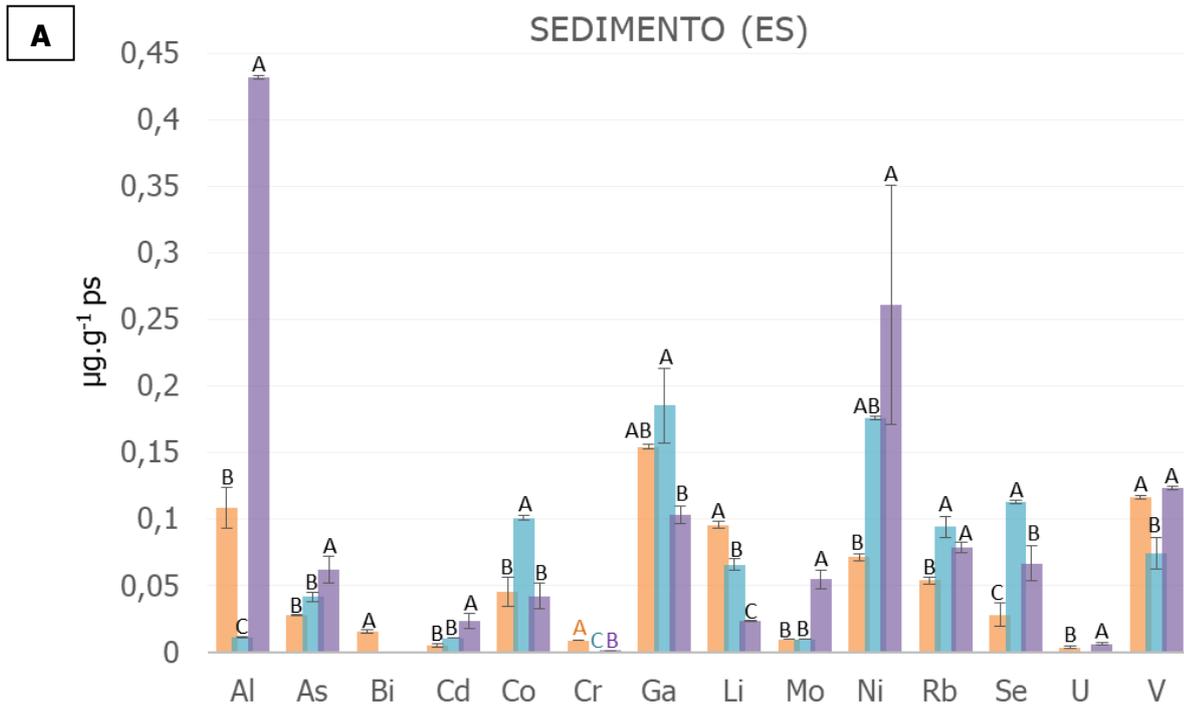


Figura 2.15: EI₂ minoritarios (A) y mayoritarios (B) biodisponibles en muestras de sedimento ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) del LSR, LLM y ERT en estación seca (ES).

En el LML, las concentraciones de Al, As y Li no mostraron diferencias entre las estaciones de muestreo. Las concentraciones de Ba, Cd, Cu, Ga, Ni, Pb, Se, Sr, U y V fueron mayores durante EH, mientras que en ES fueron mayores las concentraciones de B, Co, Cr, Fe, Mn, Mo, P, Rb y Zn. La concentración de la mayoría de los elementos en el ERT no presentaron diferencias entre las estaciones, excepto por Ag, B, Ba, Ga, Li, Ni y Sr, que estuvieron en mayor concentración durante EH y Al, Cu, Mo, P, Pb, U y V en ES.

Los sedimentos se consideran sumideros de contaminantes, ya que pueden cohabitar con estos durante períodos prolongados (Schiff, 2000). Los cambios estacionales de las concentraciones descriptos en este estudio, pueden deberse a variaciones en las propiedades físicas, químicas y biológicas del agua, vinculadas al clima y a la distintas actividades antrópicas (Joksimovic *et al.*, 2011; Ali *et al.*, 2016). Cambios en el pH, la materia orgánica, las condiciones redox, la salinidad, temperatura, etc., pueden modificar la acumulación o biodisponibilidad de metales y metaloides en los sedimentos (Nikinmaa, 2014). Estos cambios pueden inducir a la liberación de algunos metales y metaloides desde los sedimentos hacia la columna de agua, o limitar su desorción desde los sedimentos. A su vez, las concentraciones más elevadas de elementos inorgánicos encontradas en los sedimentos durante la ES, pueden ser debido al menor nivel de agua de los lagos, lo que podría ayudar a la concentración de los elementos (Ali *et al.*, 2016).

Las concentraciones biodisponibles de Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn registradas en este estudio fueron menores a las reportadas por Choque *et al.* (2013) en los sedimentos del Lago Titicaca, Bolivia. Este lago experimenta procesos eutróficos localizados, debido al acelerado crecimiento demográfico de las poblaciones costeras y al aumento de la carga turística en la región (sin una planificación adecuada), que ha incrementado significativamente la cantidad de residuos que se descargan a las aguas del lago (Fontúrbel *et al.*, 2006).

En Argentina no se han establecido niveles guía de elementos inorgánicos para sedimentos, por lo cual los resultados obtenidos se compararon con los valores disponibles en la Guía Canadiense para la Protección y Gestión de la Calidad de los Sedimentos Acuáticos (Consejo Canadiense de Ministros del Medio Ambiente, 2001). Las concentraciones de As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb y Zn en las muestras de sedimento, no exceden los niveles de riesgo propuestos por esta normativa.

Cuando relacionamos la concentración de elementos en agua y en sedimentos pudimos observar que As, B, Co, Cu, Li, Mn, Sr, U y V estaban presente en estas dos matrices en concentraciones más altas en el LSR, durante la EH. En cambio, durante la ES solo el Li cumplió esta tendencia. Por otra parte, el Cd que no fue detectado en ninguna de las muestras de agua, se encontró en mayor concentración en los sedimentos del LLM (EH). Una de las fuentes de este metal son los fertilizantes fosfatados (Bradl, 2005), con lo cual se puede relacionar con la alta concentración de P en el agua de este lago. Finalmente, el Ni se encontró en mayor

concentración tanto en agua como en sedimentos del ERT. Estos resultados se encuentran resumidos en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3: EI₂ encontrados en mayor concentración según el lago y la estación, en muestras de agua y sedimento. Elementos marcados en negrita denotan la misma tendencia en agua y sedimento.

Matriz	Estación	LSR	LLM	ERT
AGUA	<i>Seca</i>	Al-As-B-Ba-Co- Fe-Ga- Li -Mn-Pb-Rb-Sr-U-V	Ni	-
	<i>Húmeda</i>	Al- As-B -Ba- Co-Cu - Fe- Ga- Li-Mn -Rb- Sr-U-V	P	Ni -Pb
SEDIMENTO	<i>Seca</i>	Bi-Cr- Li	B-Co-Mn-Se	Al-As-Cd-Cu-Mo- Pb-U-Zn
	<i>Húmeda</i>	As-B-Co-Cu-Li-Mn-Pb- Sr-U-V	Cd	Ag-Fe- Ni -Zn

Con el fin de evaluar el grado de contaminación de metales y As en los sedimentos, de acuerdo a su toxicidad y a la respuesta del medio ambiente, se llevó a cabo la estimación del riesgo ecológico utilizando el índice Hakanson de riesgo ecológico (IR) (Hakanson, 1980). En general, para calcular el IR se utiliza la fracción metálica total, que en nuestro caso corresponde a la suma de A1, A2 y A3 de cada elemento (Weber *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2014). Según la clasificación de riesgo propuesta por este autor (bajo, moderado, considerable y muy alto), el riesgo ecológico total para los tres cuerpos de agua estudiados es bajo, en ambas estaciones. Sin embargo, como se muestra en la Tabla 2.4, durante EH, el mayor valor para este índice fue para el LSR (25,14), seguido del LLM (17,8) y finalmente para el ERT (9,64). En cambio, en ES el ERT tiene el valor más alto (36,33), seguido del LSR (10,43) y finalmente el LLM (8,22). Esto es consistente con el hecho de que la mayoría de los elementos involucrados en el índice tienen las concentraciones más altas en el ERT durante la ES. A su vez, podemos decir que los lagos San Roque y Los Molinos tienen mayor riesgo durante la EH posiblemente debido al aumento de la actividad turística y urbana a lo largo de toda la cuenca, lo que influye en la descarga y la disponibilidad de elementos inorgánicos en el sistema acuático.

Por otra parte, el índice de riesgo ecológico potencial para cada elemento individual (E_r) mostró que todos los elementos presentaron un bajo nivel de riesgo ecológico. El Hg presentó el mayor valor de E_r durante las dos estaciones evaluadas en los tres lagos con respecto a los demás elementos evaluados, debido principalmente al alto coeficiente de toxicidad de este elemento.

Tabla 2.4: Índice de Riesgo Ecológico total y para cada elemento individual en sedimentos del LSR, LLM y ERT, durante estación seca y húmeda.

Lago	Estación	Riesgo Ecológico Potencial Monomial (E_i)							IR
		As	Cu	Cd	Cr	Hg	Pb	Zn	
LSR	<i>Seca</i>	0,86	0,55	1,60	0,07	5,70	1,45	0,18	10,43
	<i>Húmeda</i>	0,88	1,04	4,96	0,08	14,45	3,61	0,12	25,11
LLM	<i>Seca</i>	1,05	0,60	1,83	0,10	3,65	0,84	0,13	8,22
	<i>Húmeda</i>	1,25	0,94	5,42	0,07	8,27	1,74	0,11	17,8
ERT	<i>Seca</i>	0,89	3,69	4,82	0,26	17,40	8,50	0,76	36,33
	<i>Húmeda</i>	0,56	0,65	2,97	0,16	4,10	1,04	0,17	9,64

2.3.3 Concentración multielemental en matrices bióticas

La acumulación de elementos inorgánicos en los organismos depende de diversos factores, en especial del elemento químico y de las especies biológicas implicadas. Además, puede estar influenciada por el sexo, la edad, el tamaño, el ciclo de vida, los hábitos de alimentación, las preferencias de hábitat de los organismos, la exposición previa a contaminantes, la fisiología digestiva del consumidor (Seebaugh y Wallace, 2009) y por parámetros fisicoquímicos del medio acuático en el que se encuentran (Heshmati *et al.*, 2017).

Los valores promedio y de desviación estándar de las concentraciones de EI_2 obtenidas para plancton, camarón y pejerrey, se encuentran en las Tablas 5, 6 y 7 del ANEXO II. Para aquellos elementos que las concentraciones no fueron detectadas o cuantificadas se indican como LD y LC en la Tabla 8 del ANEXO II.

2.3.3.1 Análisis de muestras de plancton

En la Fig. 2.16 y 2.17 se encuentran graficadas las concentraciones de los EI_2 de las muestras de plancton ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) recolectadas en los cuerpos de agua en estudio en EH y ES, respectivamente. Las diferentes letras indican diferencias significativas en la concentración de un elemento en particular entre los reservorios evaluados. En los gráficos A están representados los elementos que se encontraban en concentraciones por debajo de $200 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y en los gráficos B, los elementos en concentraciones por debajo de $20000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

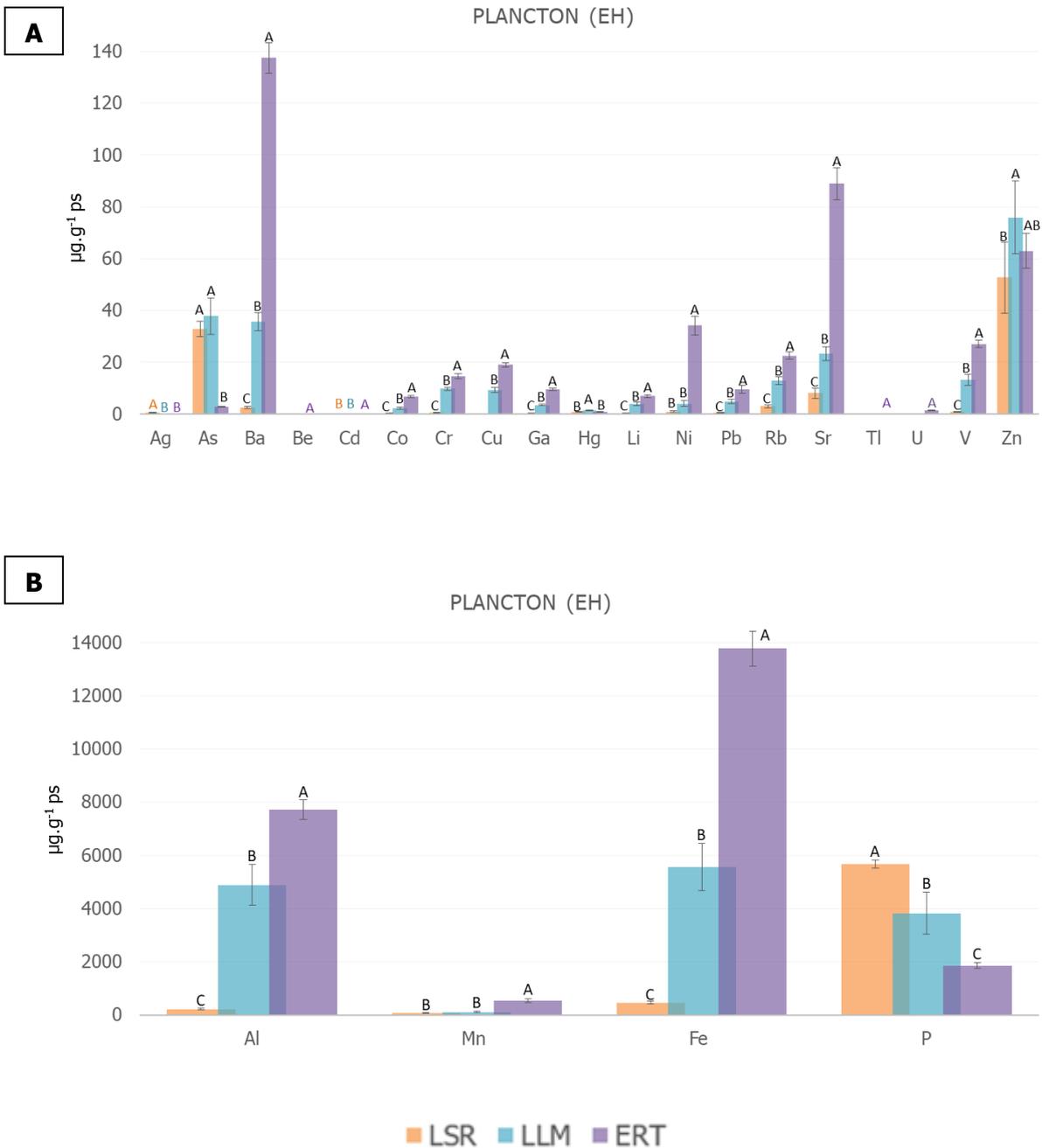


Figura 2.16: EI₂ minoritarios (A) y mayoritarios (B) analizados en muestras de plancton ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) del LSR, LLM y ERT en estación húmeda (EH).

En general, durante la EH la concentración de los elementos estudiados en muestras de plancton fue mayor en el ERT con respecto a los otros lagos, con algunas excepciones. Ag y P estuvieron presentes en mayor concentración en el LSR y Hg en el LLM. A su vez, la concentración de As no presentó diferencias significativas entre los lagos San Roque y Los Molinos, siendo superiores a la del ERT (Fig. 2.16A).

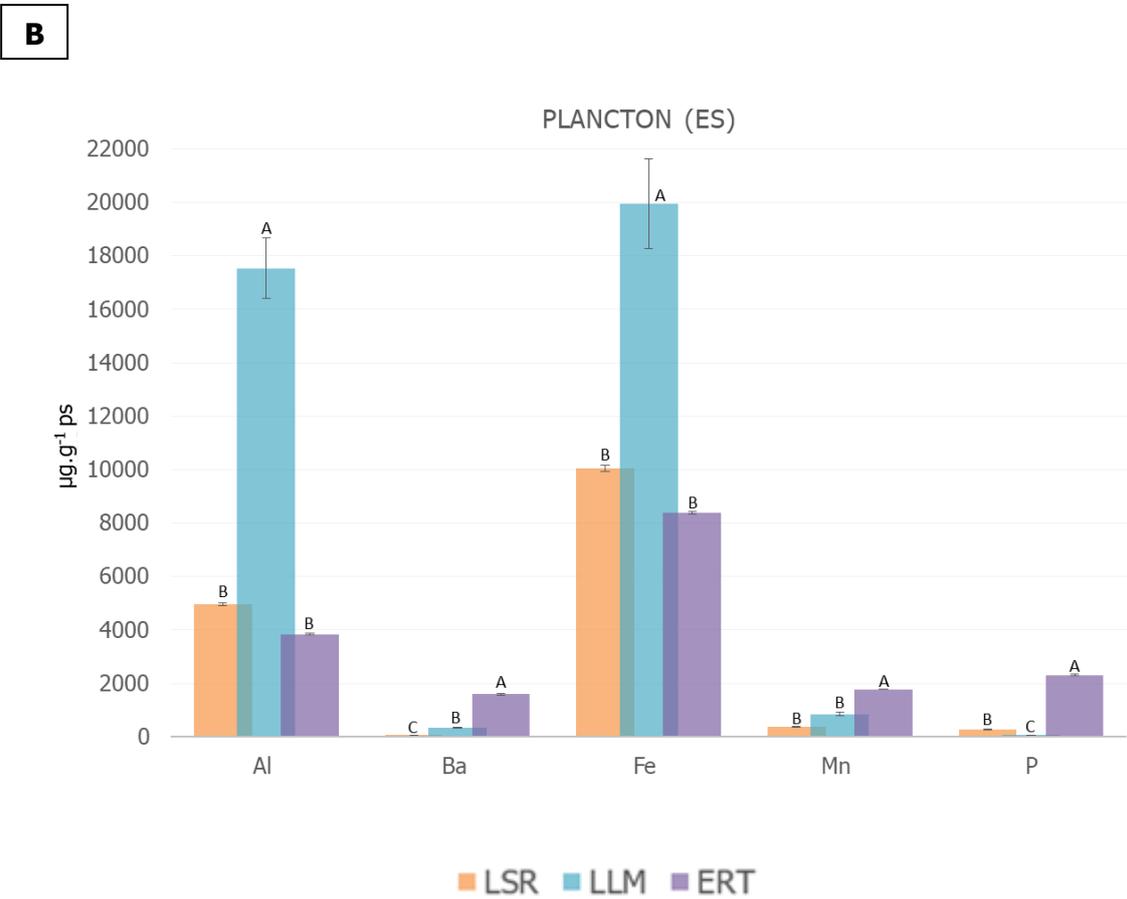
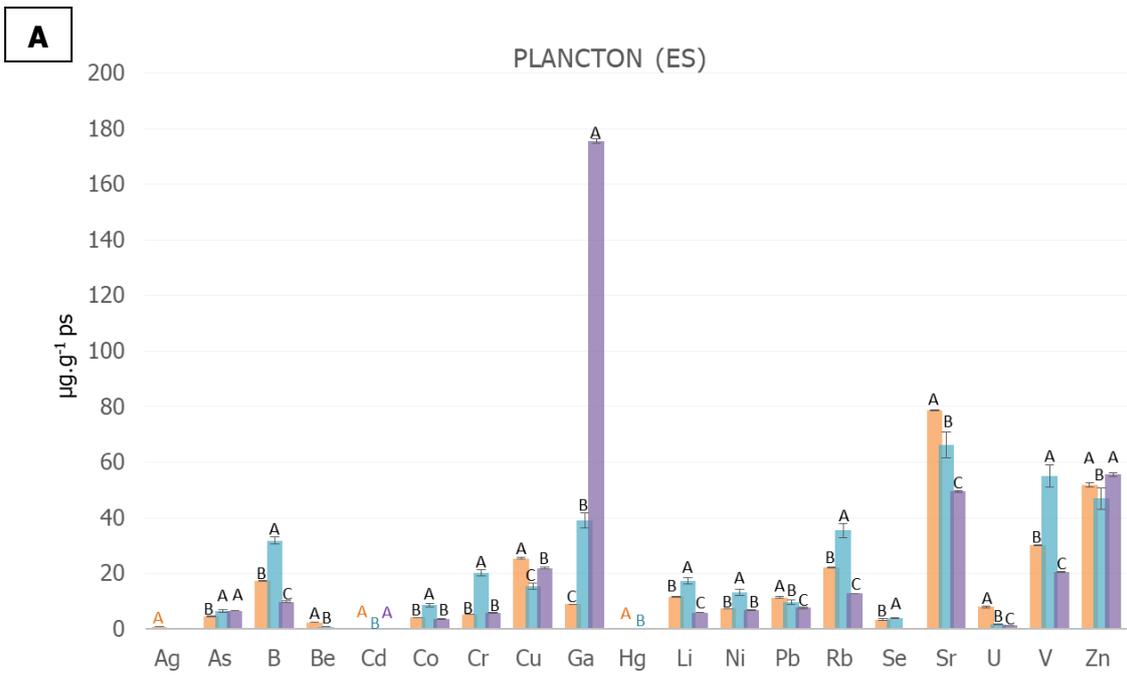


Figura 2.17: EI₂ minoritarios (A) y mayoritarios (B) analizados en muestras de plancton (µg.g⁻¹) del LSR, LLM y ERT en estación seca (ES).

Argentina es uno de los países que posee una importante área con As natural en las aguas subterráneas (Nicolli *et al.*, 1989, Smedley *et al.*, 2005). Su origen se relaciona con la composición mineralógica de los suelos, principalmente por la presencia de arsenopirita (Sracek *et al.* 2004). Las concentraciones naturales de As varían considerablemente, y pueden ser incrementadas por aportes antropogénicos, como por ejemplo por el uso de pesticidas, herbicidas, aditivos para la alimentación animal, medicina veterinaria, entre otros.

Por otra parte, no pudieron ser detectados Be, Tl y U en el LSR y en el LLM, ni B, Bi y Mo en los tres lagos evaluados. A su vez, Cu no fue cuantificado en las muestras de plancton del LSR ni Se en las muestras de los tres lagos.

No se observó la misma tendencia durante la ES, ya que los elementos con concentraciones más altas no se distribuyeron con un comportamiento claro entre los lagos. En el LSR, se encontró en concentraciones más elevadas a elementos tales como el Ag, Be, Cu, Hg, Pb, Sr y U (Fig. 2.17A); en el LLM a Al, B, Co, Cr, Fe, Li, Ni, Rb, Se y V, mientras que en el ERT fueron Ba, P, Ga y Mn. Por otra parte, Cd y Zn tuvieron concentraciones similares en el LSR y el ERT y As en el LLM y en el ERT. Finalmente, Bi, Mo y Tl no fueron detectados en muestras de ninguno de los lagos; Ag en el LLM y en ERT, ni tampoco Be, Hg y Se en el ERT.

Las diferencias encontradas entre los lagos, puede interpretarse desde el punto de vista de que la acumulación de los elementos en el plancton depende de varios factores, como la productividad del cuerpo de agua, las propiedades fisicoquímicas del agua, la composición cuantitativa y cualitativa de los metales y metaloides presentes en el ambiente, como así también la composición del plancton (Mazej *et al.*, 2010).

Al analizar los lagos individualmente y teniendo en cuenta el comportamiento de los elementos entre las estaciones, observamos que, en general las concentraciones fueron más elevadas durante la ES que en EH, en el LSR y el LLM (estadística expresada en la Tabla 5 del ANEXO II, letras minúsculas indican diferencias significativas entre las estaciones). Las excepciones están dadas por As, Hg y P, en ambos lagos y por Ag y Zn en el LLM, que se encontraron en mayor concentración durante la EH. Estas variaciones entre las estaciones pueden ser el producto de cambios en la composición del plancton según las condiciones ambientales, lo cual puede conducir a cambios en la capacidad de los organismos para acumular metales del medio, aumentando en ES y disminuyendo en EH. Mientras que algunos trabajos reportan concentraciones más elevadas en plancton durante la EH (Monteiro *et al.*, 1995; Monferrán *et al.*, 2016), Jara-Marini *et al.* (2009) reportó diferencias estacionales en las concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn, siendo mayores durante ES.

En el ERT no hay una clara tendencia, elementos como Ag, Al, Be, Co, Cr, Fe, Hg, Li, Ni, Rb, Sr y V, se encontraron en mayor concentración en EH, mientras que, As, B, Ba, Cu, Ga, Mn y P se encontraron en mayor concentración en ES. Las concentraciones de Cd, Pb, U y Zn, fueron similares entre las estaciones monitoreadas.

2.3.3.2 Análisis de muestras de camarón

Los invertebrados acuáticos absorben y acumulan desde el medio acuático circundante o desde los alimentos, metales y metaloides en sus tejidos, sean o no esenciales para el metabolismo. El camarón es una especie carroñera y se alimenta de una amplia gama de ítems, incluyendo desechos y otros organismos que habitan en el fondo de los lagos (Canli *et al.*, 2001).

En nuestro estudio, las concentraciones de EI₂ en el camarón mostraron gran variabilidad entre los lagos y las estaciones (Fig. 2.18 y 2.19). En los gráficos A están representados los elementos que se encontraban en concentraciones por debajo de 20 µg.g⁻¹ y en los gráficos B, los elementos en concentraciones por debajo de 1000 µg.g⁻¹.

A fines de una mejor esquematización, los valores obtenidos de concentración del elemento P fueron divididos por 100 para poder ser graficados a escala con el resto de los elementos.

Durante la EH, Al, As, Cr, Hg, Ni, V y Zn estuvieron en concentraciones más altas en el LLM con respecto a los otros lagos y Ag, Ba, Cu, Ga, Mn y Sr, en el ERT. No se encontraron diferencias en la concentración de Pb y Rb entre el LSR y el LLM (Fig. 2.18A) y tampoco para Co y Fe entre el ERT y el LLM. En ninguno de los tres lagos fue detectado B, Be, Bi, Tl y U, ni pudieron ser cuantificados Li y Se.

En general, durante la ES las concentraciones más altas estuvieron en el ERT, a excepción de Ag, As, Hg, P y Sr, que estuvieron en concentraciones más altas en el LSR. Las concentraciones de Pb, Se y Zn fueron similares en el LSR y el ERT y la de Mn entre los lagos San Roque y Los Molinos. A su vez, la concentración de Cd del LLM fue similar a la del ERT (Fig. 2.19A). Ag, B, Be, Bi, Mo, Tl y U, no fueron detectados en las muestras de camarones de los lagos en estudio.

Los camarones procedentes del LSR, presentaron mayores concentraciones de Cd, Cr, Mn, Ni, Pb y Zn durante la EH y Al, As, Ba, Cu, Fe, Ga, Li, Se, Sr y V durante la ES. Elementos como el Ag, Co, Hg, P y Rb presentaron concentraciones similares en las dos estaciones evaluadas. En cuanto a las muestras del LLM, Ag, As, Cd, Cr, Hg, Ni, P, Pb, Sr y Zn, estuvieron en concentraciones más altas durante la EH y Co, Cu, Fe, Li, Se y V durante la ES. No hubo diferencias significativas en las concentraciones de Al, Ba, Ga, Mn y Rb entre las estaciones. Por último, en el ERT, Ag, Cd, Cr, Hg, Mn, Ni, P y Pb estuvieron en concentraciones más altas durante la EH y Al, Ba, Co, Cu, Fe, Ga, Li, Se y V en la ES. As, Rb, Sr y Zn no presentaron diferencias entre las estaciones (estadística expresada en la Tabla 6 del ANEXO II, letras minúsculas indican diferencias significativas entre las estaciones).

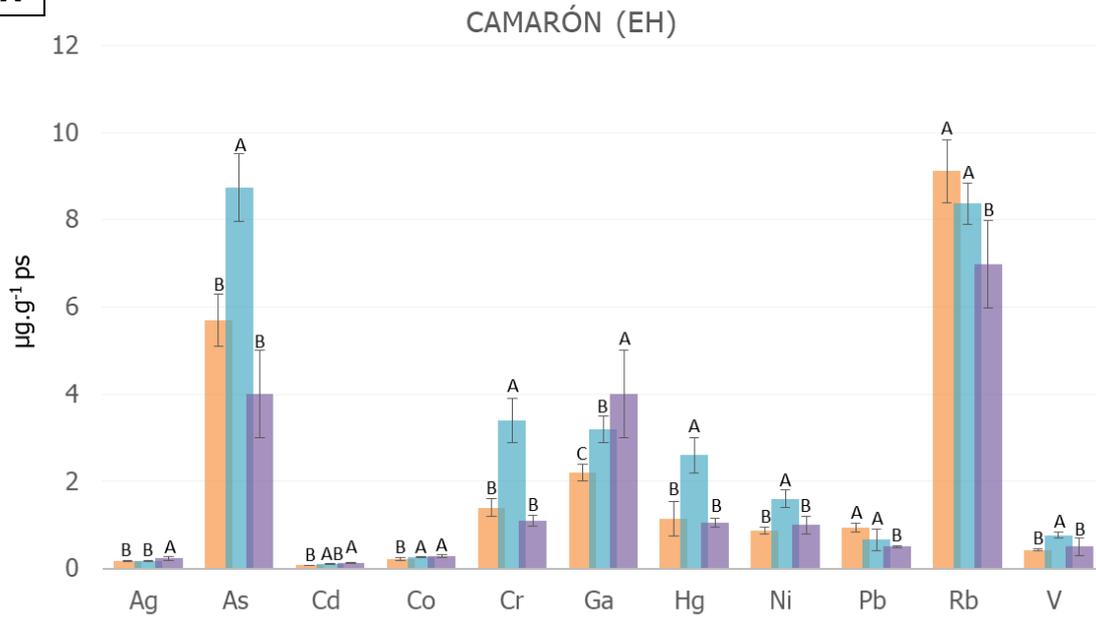
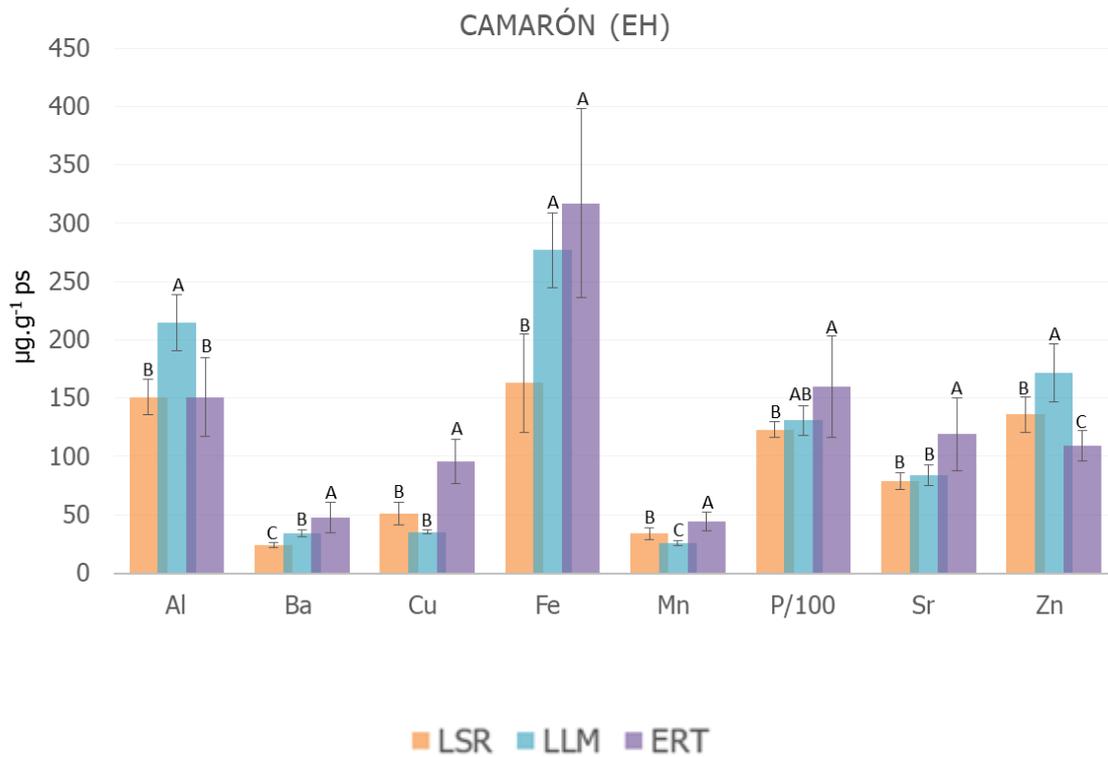
A**B**

Figura 2.18: EI₂ minoritarios (A) y mayoritarios (B) analizados en muestras de camarón ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) del LSR, LLM y ERT en estación húmeda (EH). Valores de concentración de P modificados en 1/100.

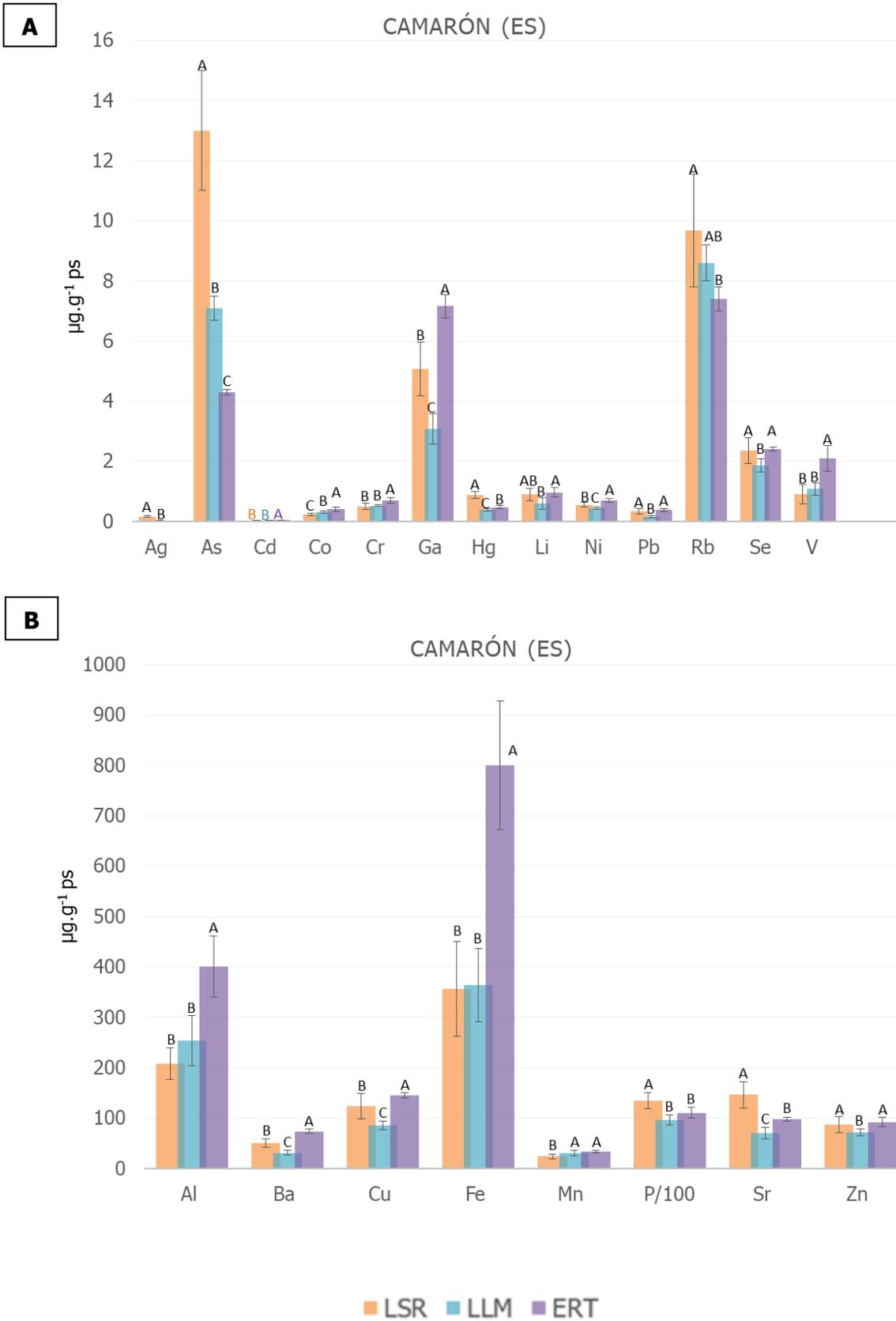


Figura 2.19: EI₂ minoritarios (A) y mayoritarios (B) analizados en muestras de camarón ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) del LSR, LLM y ERT en estación seca (ES). Valores de concentración de P modificados en 1/100.

No hubo un patrón estacional claro en las concentraciones de elementos en los camarones de los tres lagos. Estas diferencias, pueden ser el reflejo de cambios en la actividad metabólica, la tasa de crecimiento y del ciclo reproductivo de estos organismos en los distintos reservorios, como así también las propiedades fisicoquímicas del agua (Çoğun *et al.*, 2005).

2.3.3.3 Análisis de muestras de músculo de pejerrey

La acumulación de metales y metaloides en peces resulta principalmente del contacto superficial con el agua, de la respiración y por vía alimentaria. La captación de estas tres rutas depende de los niveles ambientales de los elementos en el hábitat del organismo. Se sabe que el músculo no es un órgano diana para la acumulación de tóxicos durante la exposición aguda; sin embargo, este tejido es un buen indicador de exposiciones crónicas. Cuando los contaminantes superan todas las barreras de defensa, los organismos comienzan a acumular contaminantes en este órgano (Kalay *et al.*, 1999). La acumulación en el músculo tiene una implicación directa en el efecto negativo del consumo de pescado por los humanos.

Los resultados muestran que *O. bonariensis* es capaz de acumular en su músculo una serie de elementos (Fig. 2.20 y 2.21). En los gráficos A están representados los elementos que se encontraban en concentraciones por debajo de $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y en los gráficos B, los elementos en concentraciones por debajo de $200 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nuevamente, los valores de P fueron divididos por 100 para ser graficados.

Durante la EH, los peces del ERT poseían mayores concentraciones de Al, Cd, Co, Fe, Mn, Se y Zn, con respecto a los otros peces en estudio. Los individuos del LLM acumularon más As (Fig. 2.20A) y los del LSR, Cr y Rb. No hubo diferencias significativas en las concentraciones de Hg, P y V entre los lagos. Por otra parte, las concentraciones de Ag, Ba y Sr de los lagos San Roque y Los Molinos fueron similares.

Durante la ES, la distribución de los EI_2 en los lagos fue distinta; Cr, Cu, Mn y V se encontraron en mayor concentración en muestras del ERT y Ag, Ni, Pb y Rb en el LSR. No hubo diferencias en las concentraciones de As, Ba, Hg, Ga y P entre los tres lagos. Además, no se encontró diferencias significativas para la concentración de Co entre el LLM y el ERT (Fig. 2.21A) y para Al, Fe, Se y Zn entre el LSR y el ERT.

En los músculos de estos organismos no se detectó B, Be, Bi, Mo, Tl, ni U en ambas estaciones, en los tres lagos. En particular, durante EH tampoco se detectó Ag, Pb (ERT) y Cd (LSR y LLM) y en ES, Ag (ERT) y Cd (LSR, LLM y ERT).

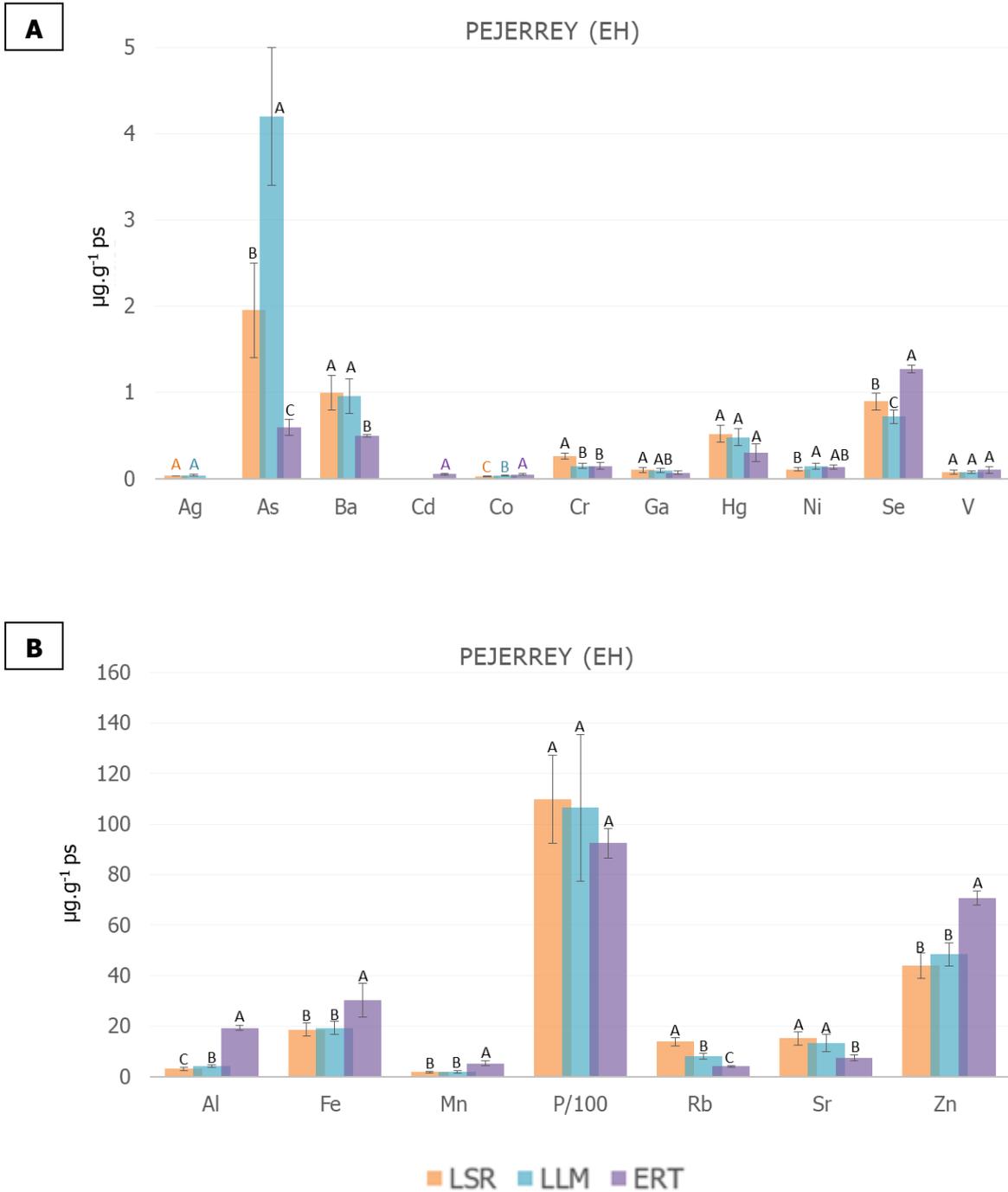


Figura 2.20: EI₂ minoritarios (A) y mayoritarios (B) analizados en muestras de pejerrey ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) del LSR, LLM y ERT en estación húmeda (EH). Valores de concentración de P modificados en 1/100.

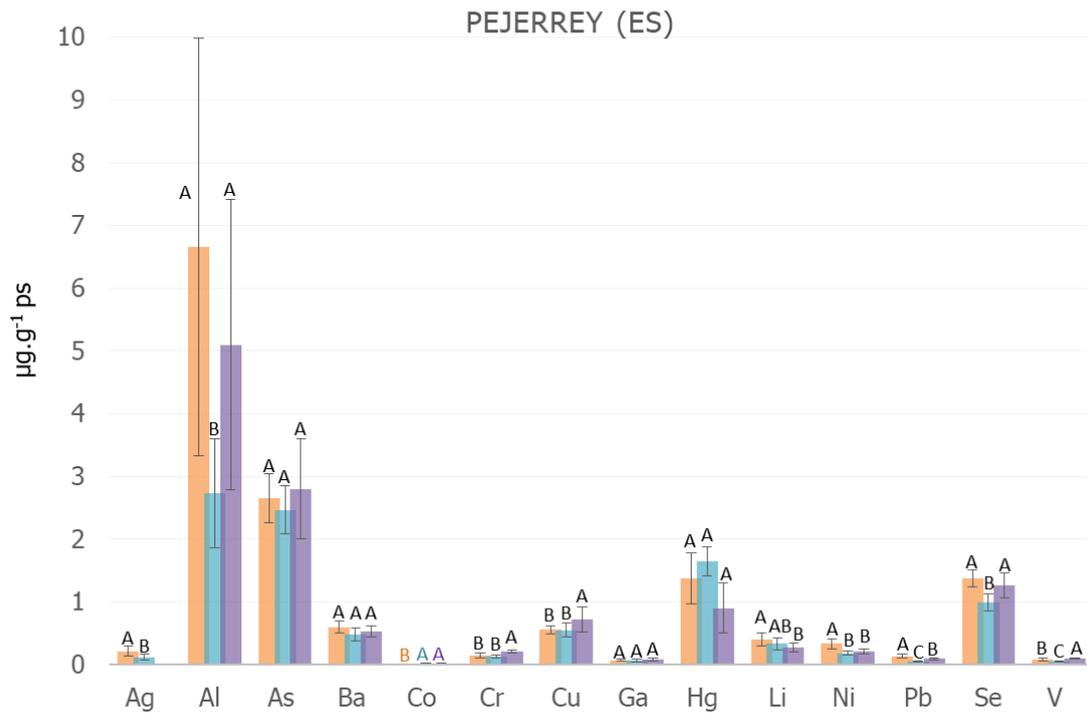
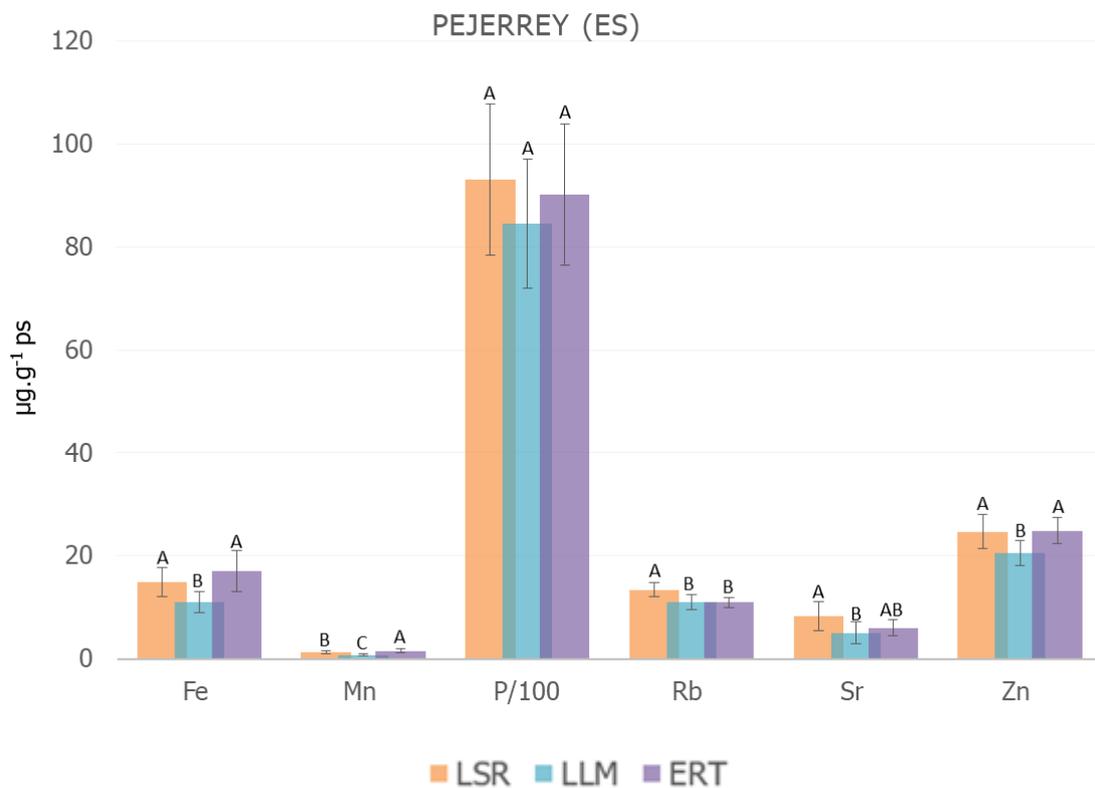
A**B**

Figura 2.21: EI₂ minoritarios (A) y mayoritarios (B) analizados en muestras de pejerrey (µg.g⁻¹) del LSR, LLM y ERT en estación seca (ES). Valores de concentración de P modificados en 1/100.

En el LSR, Ba, Co, Cr, Fe, Ga, Mn, P, Sr y Zn estuvieron en concentraciones más elevadas durante la EH; Ag, Al, As, Cu, Hg, Li, Ni, Pb y Se durante la ES y no hubo diferencias entre las estaciones para Rb y V. En el LLM, Al, As, Ba, Co, Fe, Ga, Mn, P, Sr, V y Zn se encontraron en mayor concentración durante la EH, mientras que el comportamiento inverso se observó para Ag, Cu, Hg, Li, Ni, Pb, Rb y Se. Se encontraron concentraciones similares de Cr en ambas estaciones. Finalmente, en el ERT, Al, Cd, Co, Fe, Mn y Zn estuvieron en concentraciones más elevadas durante la EH y As, Cu, Hg, Li, Ni, Pb y Rb durante la ES. No hubo diferencias en la concentración de Ba, Cr, Ga, P, Se, Sr y V entre las estaciones muestreadas (estadística expresada en la Tabla 7 del ANEXO II, letras minúsculas indican diferencias significativas entre las estaciones).

Las concentraciones determinadas en *O. bonariensis* fueron comparadas con las de peces de agua dulce de reservorios mencionados anteriormente, observándose que: Cu, Cr, Pb y Zn se encontraron en concentraciones menores que en los músculos de *Carassius auratus* del Lago Taihu (Chi *et al.*, 2007) y, Co y Zn en concentraciones similares a las encontradas en músculos de *O. bonariensis* del Lago Titicaca (Monroy *et al.*, 2014).

A su vez, se compararon los resultados con los de concentraciones de Hg y Se en músculos de individuos juveniles de *Oncorhynchus mykiss* del Lago Nahuel Huapi. Este lago de la Patagonia Argentina, se encuentra dentro de un área protegida y cercano a zonas volcánicas de la Cordillera Andina. Eventos eruptivos históricos y recientes han afectado a este reservorio con Hg y Se debido al ingreso de material volcánico (Naranjo y Stern, 2004). En los lagos de estudio, Hg se encontró en concentraciones más elevadas y Se en concentraciones inferiores a las respectivas encontradas en el lago afectado por la actividad volcánica (Arcagni *et al.*, 2017).

Por otra parte, la cuantificación de Se en el músculo de peces resulta útil para evaluar el impacto potencial del Hg sobre estos organismos, ya que el Se tiene una alta afinidad química por el Hg en sistemas biológicos y puede formar complejos insolubles, secuestrando el Hg y neutralizando su toxicidad (Arcagni *et al.*, 2013). Para ello, se determinó la relación molar Se:Hg en muestras de músculo de pejerrey del LSR, LML y ERT. Los valores obtenidos fueron $2,5 \pm 0,7$ (ES) y 5 ± 1 (EH); $1,6 \pm 0,3$ (ES) y 4 ± 1 (EH), y 4 ± 1 (ES) y 10 ± 2 (EH), respectivamente. Esto indica que hay un exceso molar de Se en el tejido de los peces, aumentando la posibilidad de este elemento en participar en la detoxificación de Hg (relación molar Se:Hg>1). Se observan valores más altos para esta relación durante la EH y en particular, en el ERT. La relación molar Se:Hg podría ser un criterio adicional, junto con la medición de la concentración de Hg, para evaluar el riesgo de exposición al Hg de los peces de estos lagos.

Para finalizar con el análisis de los EI₂ en muestras bióticas, se compararon las concentraciones de un mismo elemento en plancton, camarón y pejerrey, para cada lago y estación en particular. Durante la EH, se encontraron niveles más altos de Al, Co, Fe, Li, Mn, Ni y V en todas las muestras de plancton, en comparación con lo acumulado por camarones y músculo de peces (Fig. 2.22A). Además, As y Ag presentaron concentraciones más altas en plancton del LSR y del LLM; Cr y Rb en muestras del LLM y ERT y Ba, Be, Cd, Ga, Tl y U en el

plancton proveniente del ERT. Por otra parte, en ES, Al, Ba, Cd, Co, Cr, Fe, Ga, Li, Mn, Ni, Pb, Rb y U, estaban presentes en mayor concentración en muestras de plancton de los tres lagos; B, Be y Se en plancton de los lagos San Roque y Los Molinos; Ag del LSR y As del ERT (Fig. 2.22B).

Cabe destacar que en la única muestra biótica que se determinó Tl fue en el plancton proveniente del ERT, durante la EH. Este metal se encuentra en bajas concentraciones en sistemas naturales (Belzile y Chen, 2017) y tiene una aplicación limitada debido a la toxicidad que posee para los humanos, animales, plantas y microorganismos (Kazantsis, 2000).

El plancton puede acumular metales rápidamente desde el agua, incluso cuando están presentes en bajas concentraciones (Mazej *et al.*, 2010). De acuerdo con el tamaño de red utilizado (50 μm), el plancton recolectado consiste en diferentes variedades de algas unicelulares, ricas en oligoelementos y elementos mayoritarios como Al, Fe, Mn y Ni, ya que tienen una gran capacidad para almacenar elementos del entorno (Monferrán *et al.*, 2016). A esto se agrega que las algas tienen una gran capacidad para sintetizar fitoquelatinas y metalotioneínas, proteínas que pueden formar complejos con metales y almacenarlos en vacuolas (Singh *et al.*, 2016).

Por otro lado, Cu y Zn presentaron las concentraciones más altas en todas las muestras de camarón, con respecto a las cuantificadas en plancton y músculo de pejerrey, en ambas estaciones (Fig. 2.23). Se conoce que los invertebrados como el camarón son fuertes acumuladores de metales, especialmente de Cu y Zn (Cui *et al.*, 2011; Hargreaves *et al.*, 2011). Esto se debe, a que son metales esenciales para estos organismos; el Zn actúa como cofactor de numerosas enzimas de gran importancia metabólica, incluyendo la anhidrasa carbónica, y el Cu es una parte funcional de la hemocianina. Esta proteína se encuentra en la hemolinfa, posee dos átomos de Cu y tiene como función transportar oxígeno a través del organismo (Giomi y Beltramini, 2007).

Por otro lado, los niveles de Sr (LSR y ERT) y As (LSR) fueron mayores en *P. argentinus* durante la ES, con respecto a los demás organismos. A su vez, durante la EH el As y el P se encontraron en mayores concentraciones en camarones provenientes del ERT; Ba, Cr, Ga y Pb en los del LSR; Cd y Hg en los de los lagos San Roque y Los Molinos y Sr de los tres lagos.

Como podemos observar en la Fig. 2.24A, el Rb se encontró en mayor concentración en el músculo de pejerrey del LSR y en plancton del ERT, durante EH. En adición, el Se presentó mayor acumulación en todas las muestras de músculo de peces analizadas. En cambio, en la ES se observó mayor acumulación de Hg en peces del LSR y del LLM (Fig. 2.26B) y de Ag en el LLM (Fig. 2.24B).

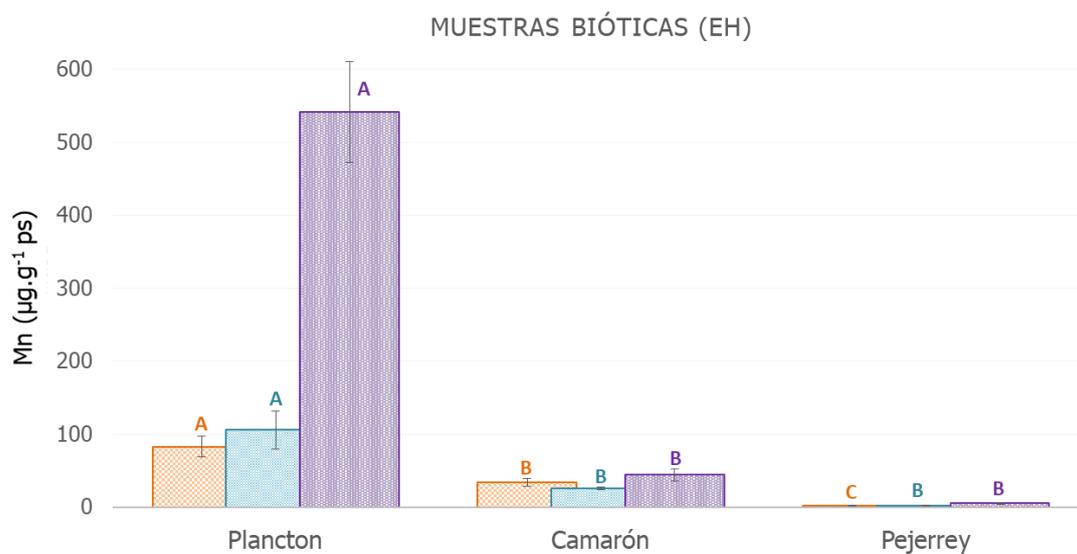
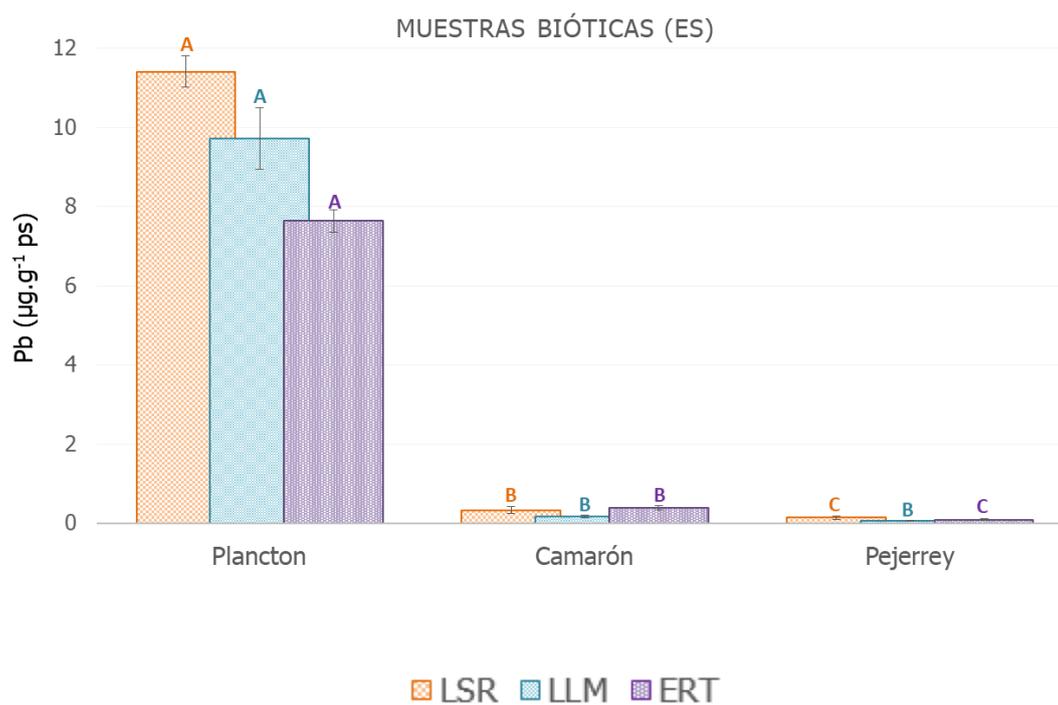
A**B**

Figura 2.22: Concentración de A) Mn y B) Pb en muestras de plancton, camarón y pejerrey ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) provenientes del LSR, LLM y ERT. Diferentes letras indican diferencias en la concentración del elemento entre los organismos de un mismo lago.

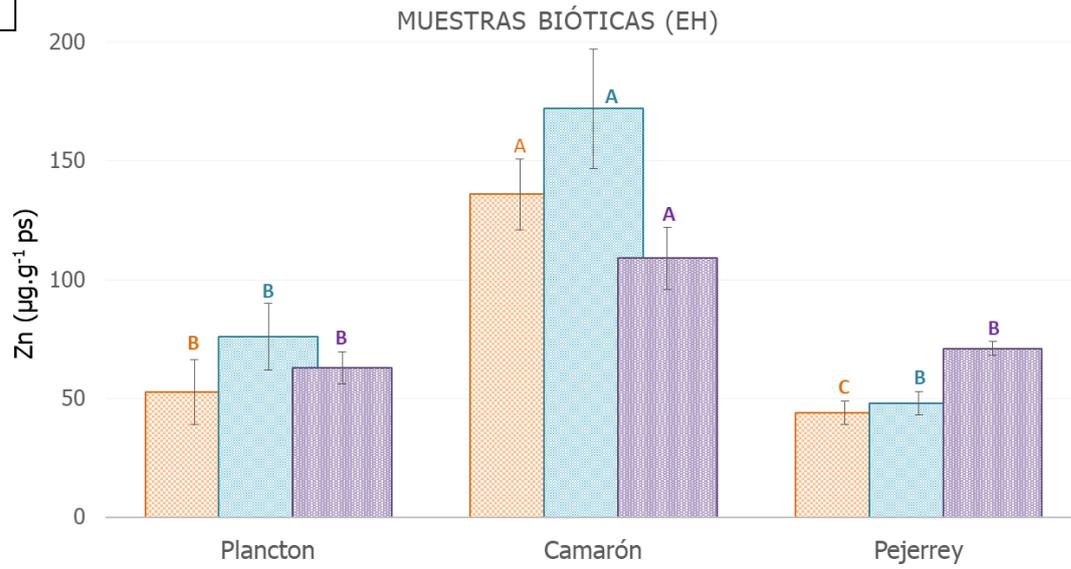
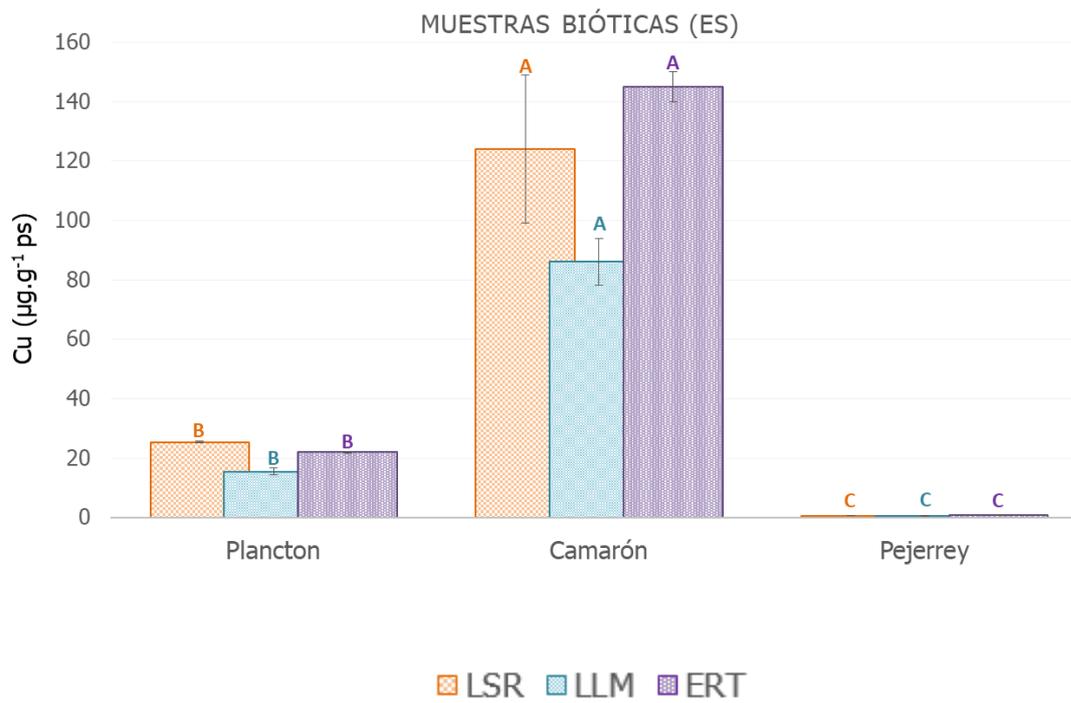
A**B**

Figura 2.23: Concentración de A) Zn y B) Cu en muestras de plancton, camarón y pejerrey ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) provenientes del LSR, LLM y ERT. Diferentes letras indican diferencias en la concentración del elemento entre los organismos de un mismo lago.

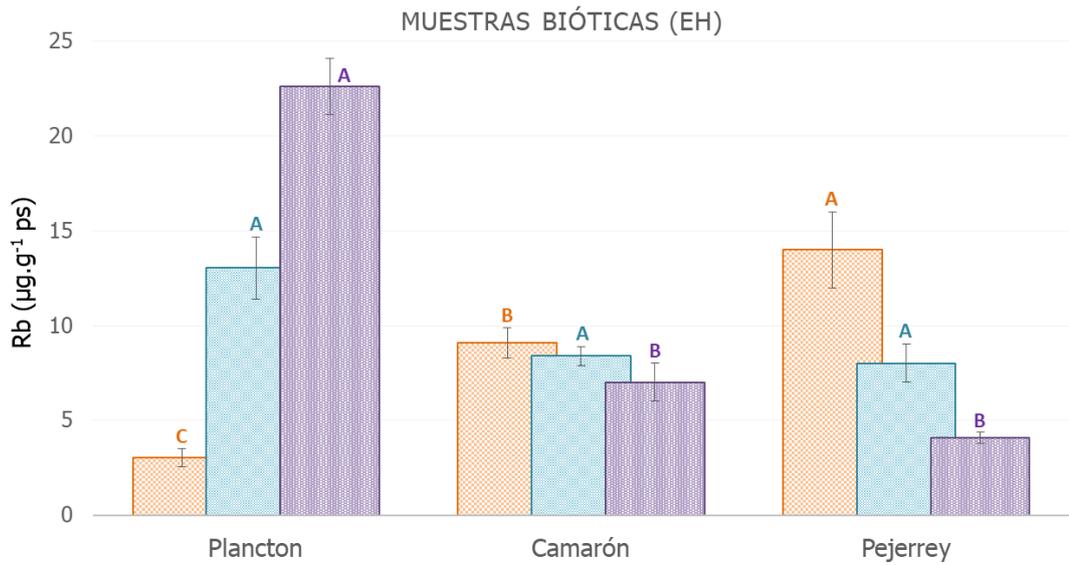
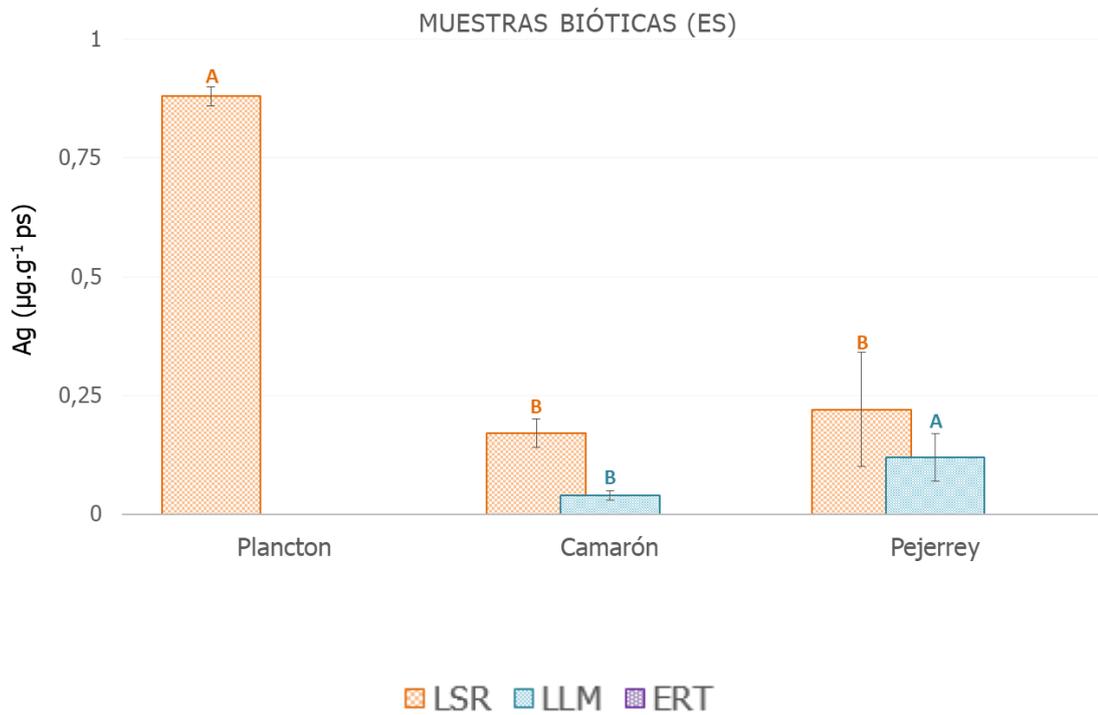
A**B**

Figura 2.24: Concentración de A) Rb y B) Ag en muestras de plancton, camarón y pejerrey ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) provenientes del LSR, LLM y ERT. Diferentes letras indican diferencias en la concentración del elemento entre los organismos de un mismo lago.

Cabe destacar el comportamiento de elementos como el As y el Hg en las matrices bióticas estudiadas. Durante la EH el As presentó concentraciones más elevadas en plancton del LSR y del LLM con respecto a las otras matrices bióticas, sin embargo en el ERT, los camarones presentaron valores más elevados. Durante la ES, en el LSR los camarones presentaron las

concentraciones más altas de As, en ERT las muestras de plancton y en el LLM no se observaron diferencias significativas entre las concentraciones halladas en camarón y plancton (Fig. 2.25).

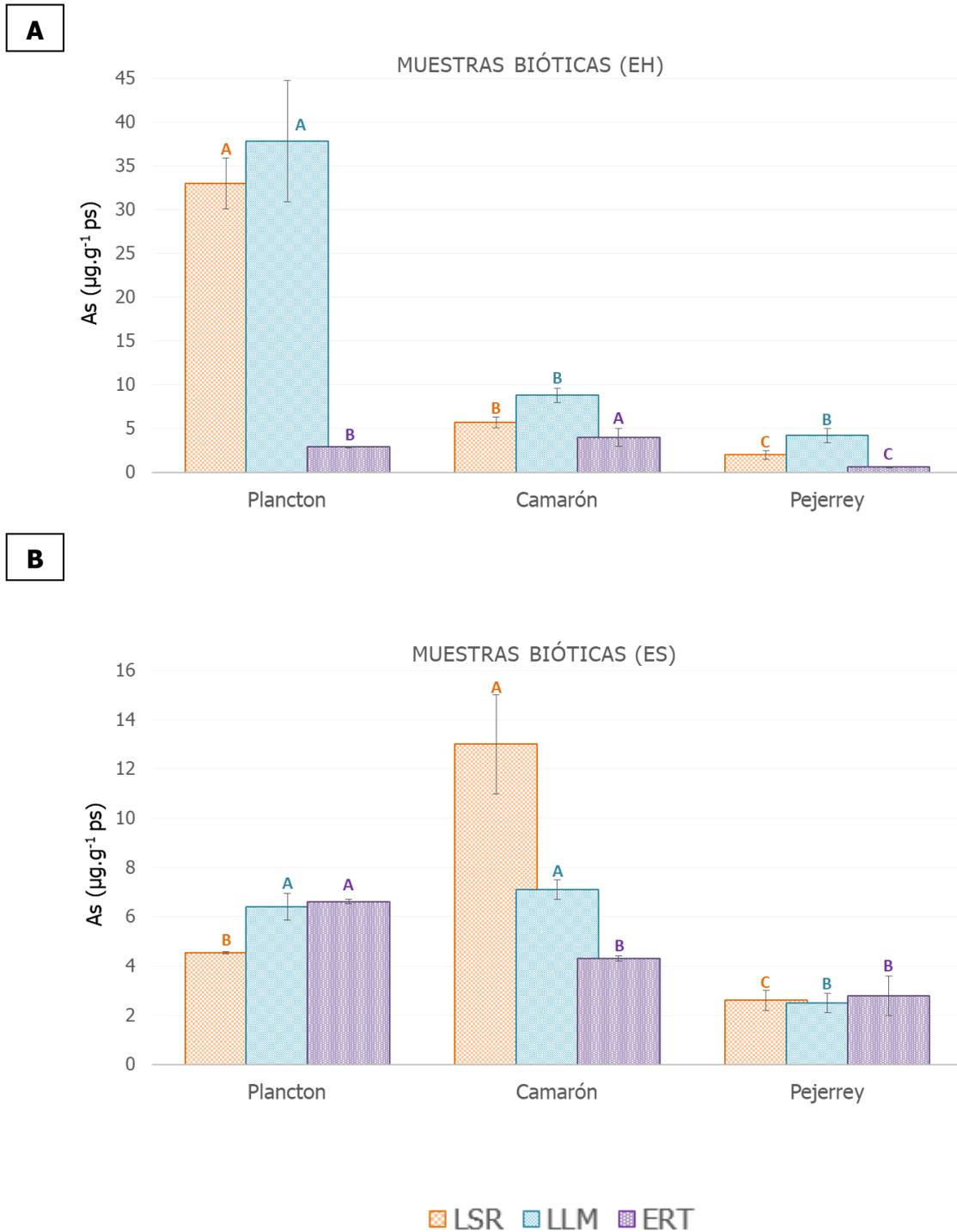


Figura 2.25: Concentración de As en A) estación húmeda y B) estación seca en muestras de plancton, camarón y pejerrey ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) provenientes del LSR, LLM y ERT. Diferentes letras indican diferencias en la concentración del elemento entre los organismos de un mismo lago.

En cuanto al Hg, se observa en la Fig. 2.26A que durante la EH en el LLM los camarones presentaron la mayor acumulación de este elemento, mientras que en el ERT no hay diferencias entre lo acumulado por el plancton y el camarón. En el LSR no se presenta una clara tendencia en el patrón de acumulación de este elemento por los organismos. Finalmente, durante la ES los músculos de pejerrey de los lagos San Roque y Los Molinos presentaron mayor concentración de Hg con respecto al plancton y al camarón, no observándose diferencias significativas entre lo acumulado por peces y camarones en el ERT (Fig. 2.26B).

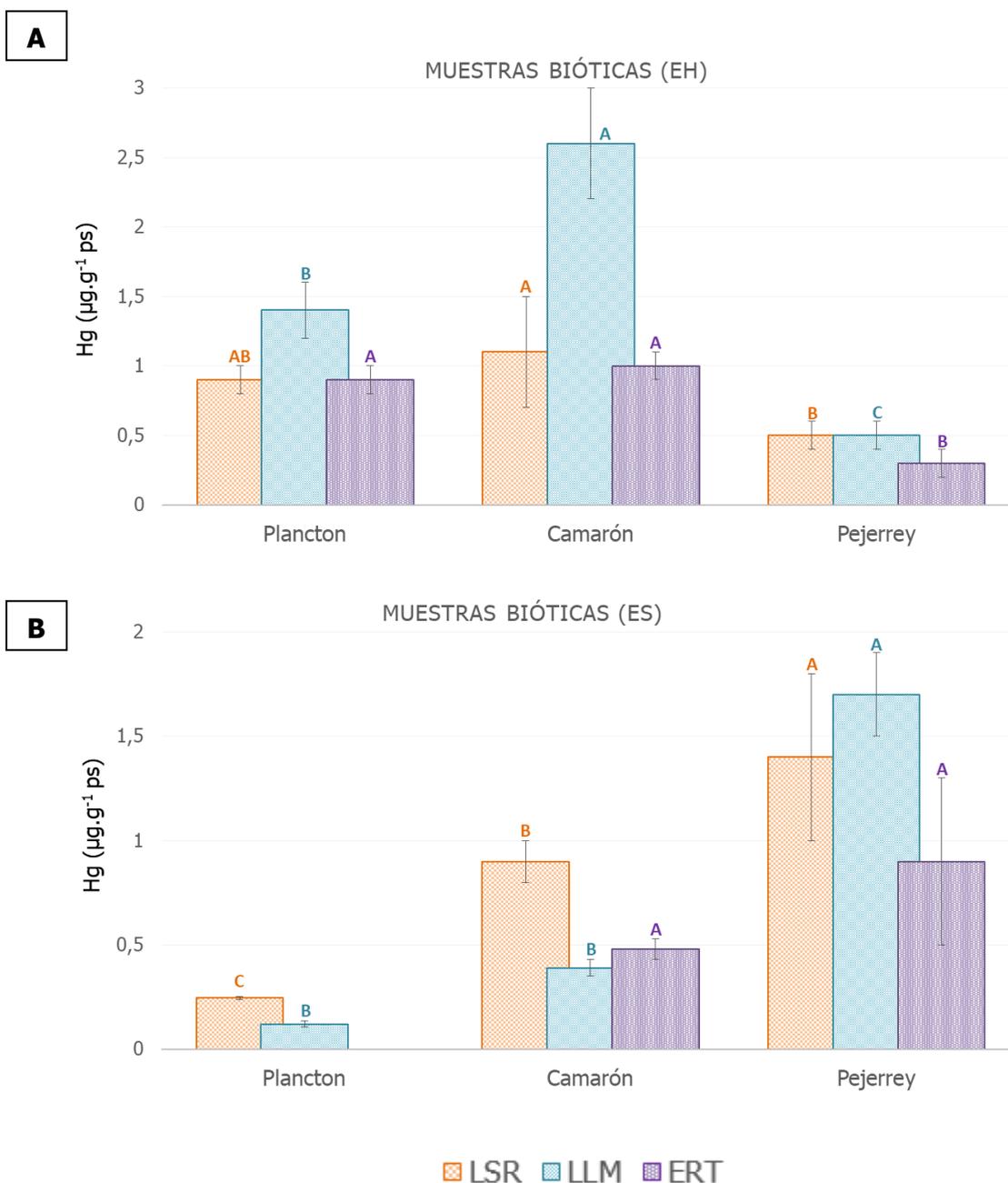


Figura 2.26: Concentración de Hg en A) estación húmeda y B) estación seca en muestras de plancton, camarón y pejerrey ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) provenientes del LSR, LLM y ERT. Diferentes letras indican diferencias en la concentración del elemento entre los organismos de un mismo lago.

2.3.4 Bioacumulación de los elementos estudiados

El FBA nos indica si el organismo tiene el potencial de acumular químicos desde el medio acuático, por lo general no se considera significativo a menos que exceda el valor de 100 (USEPA, 1991). Este valor puede variar, dependiendo de los rasgos específicos de cada especie de organismo, tales como la dieta/absorción, hábitos alimenticios, hábitat, tamaño corporal, sexo, capacidad metabólica y los niveles tróficos (Peng *et al.*, 2017). La determinación del FBA es sumamente importante para la caracterización de la biota en estudio y sus consecuentes evaluaciones de riesgo ecológico (Jayaprakash *et al.* 2015).

Los resultados de FBA de EI_2 en la biota, durante EH y ES, se presentan en la Tabla 2.5 y 2.6, respectivamente. Para aquellos elementos cuya concentración en agua no se pudo determinar, se utilizaron los valores de límites de detección o cuantificación (según correspondiera) como C_w en la ecuación para el cálculo del FBA. Los elementos que no se pudieron determinar en las muestras bióticas se identifican por medio de ND (No Determinado) en las tablas de resultados.

Según los valores obtenidos, podemos decir que la mayoría de los elementos cuantificados se bioacumuló en la biota analizada, ya que los FBA superaron el valor 100. Sin embargo, durante la EH, Sr y Li no presentaron bioacumulación en el plancton del LSR. Por otra parte, no se estableció bioacumulación de Al y Mn en peces del LSR, de Sr en el ERT, ni de Ba, Ga y V en los tres lagos estudiados. En cuanto a la ES, también se encontraron excepciones donde el FBA fue menor a 100. En particular, no se observó bioacumulación de Be y Se en plancton (LLM); Li (LSR), Co y Se (LLM) en camarones y tampoco Li (LSR), Co, Se (LLM), Ba, Sr, Ga y V en peces.

A su vez, los FBA del plancton fueron mayores que los de camarones y peces para la mayoría de los elementos estudiados, en ambas temporadas, con algunas excepciones. Esto podría deberse a la mayor capacidad de los organismos que conforman el plancton de absorber directamente elementos inorgánicos del agua, en comparación con camarones y peces que utilizan varios mecanismos de captación, además de poseer una mayor capacidad metabólica. En las muestras de camarones se obtuvieron FBA superiores con respecto a los otros organismos para Cu, Sr, P y Zn en ambas estaciones en los tres lagos. Además, As (LSR y LLM) y Se (ERT) también fueron mayores durante la ES y Ba, Cr, Ga, Pb (LSR), As, Ag (ERT), Cd (LLM y LSR) y Hg (3 lagos), durante la EH.

Los valores obtenidos de FBA para Cu y Zn en camarones coinciden con el hecho de que estos son elementos esenciales para los invertebrados, como se mencionó anteriormente. El músculo de pejerrey se caracterizó por presentar mayores FBA de Ag (LLM) y Hg (3 lagos) en ES, mientras que en EH para Rb (LSR) y Se (3 lagos).

Tabla 2.5: Factor de bioacumulación de elementos en plancton, camarón y pejerrey provenientes del LSR, LLM y ERT en estación húmeda.

Elemento	FACTOR DE BIOACUMULACIÓN ESTACIÓN HUMEDA								
	Plancton/agua			Camarón/agua			Pejerrey/ agua		
	LSR	LLM	ERT	LSR	LLM	ERT	LSR	LLM	ERT
Ag	4615	2077	1308	1308	1351	1769	257	319	0
Al	6113	340453	1423637	4273	14943	27842	88	300	3430
As	15733	25811	8788	2718	5941	12121	932	2853	932
B	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ba	173	3284	9249	1432	3136	3241	64	92	33
Be	ND	ND	2750	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cd	406	462	1077	553	718	923	ND	ND	385
Co	2584	30392	189580	1469	3383	8206	184	496	1347
Cr	19931	326667	500000	46667	113333	36608	8667	5000	5000
Cu	ND	7310	13425	25704	28026	67832	ND	ND	ND
Fe	2495	108869	519675	876	5428	11954	104	377	1004
Ga	188	3423	6410	1314	3042	2671	62	86	47
Hg	2164	3582	2172	2750	6500	2500	1271	1204	750
Li	41	1677	4904	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Mn	1322	7989	54439	542	1959	4419	29	158	502
Mo	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ni	2171	10000	57107	2080	4223	1680	261	372	233
P	43658	24214	126960	94820	82892	1092543	84515	67399	631368
Pb	4608	65916	4266	7246	7847	213	ND	ND	ND
Rb	1823	11428	24481	5907	7360	7431	9032	7181	4372
Se	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2250	1750	3175
Sr	94	455	1236	927	1659	1652	173	265	97
Tl	ND	ND	1647	ND	ND	ND	ND	ND	ND
U	ND	ND	4728	ND	ND	ND	ND	ND	ND
V	248	7153	10907	133	421	202	26	43	40
Zn	14442	19488	157427	37058	44064	273042	11989	12417	177500

Tabla 2.6: Factor de bioacumulación de elementos en plancton, camarón y pejerrey provenientes del LSR, LLM y ERT en estación seca.

Elemento	FACTOR DE BIOACUMULACIÓN ESTACIÓN SECA								
	Plancton/agua			Camarón/agua			Pejerrey/ agua		
	LSR	LLM	ERT	LSR	LLM	ERT	LSR	LLM	ERT
Ag	6466	ND	ND	1308	290	ND	1696	923	ND
Al	185768	1684986	1536285	7787	24404	160400	262	288	2040
As	2255	6542	4924	6471	7265	3199	1319	2526	2083
B	140	950	194	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ba	2562	25279	104311	1879	2348	4824	21	38	33
Be	20240	7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cd	1402	593	1150	185	291	335	ND	ND	ND
Co	41768	854	363014	2340	31	40637	123	2	1700
Cr	175061	672647	193027	16061	17667	22818	5000	4286	7000
Cu	26983	319006	25054	131794	1780886	166333	584	11875	828
Fe	154438	855901	2793435	5484	15629	266667	228	472	5667
Ga	3319	28699	115760	1902	2268	4723	26	51	51
Hg	610	295	ND	2250	975	1200	3500	4250	2250
Li	630	5469	3061	49	190	506	21	105	141
Mn	53276	170056	1786125	3471	6229	34000	192	159	1600
Mo	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ni	16911	23813	27176	1267	808	2794	771	331	835
P	15786	2737	105457	746112	400446	505194	516314	351626	411849
Pb	27920	189215	254483	820	3116	13017	343	1039	3000
Rb	17841	45410	14732	7802	10993	8547	10564	14100	12646
Se	8384	10	ND	5887	5	6025	3363	3	3156
Sr	393	955	565	731	1018	1117	41	72	64
Tl	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
U	866	4594	1828	ND	ND	ND	ND	ND	ND
V	4438	49071	7203	135	960	739	12	50	30
Zn	12610	13052	138906	21146	20000	231266	6075	5833	62500

Cuando comparamos los FBA de los organismos según la estación, observamos distintos patrones de bioacumulación. La mayoría de los elementos presentan mayor bioacumulación durante la ES, con excepciones. En el plancton del ERT, Ag, Be, Cr, Li, Ni, Rb, Sr U y V, presentaron mayor FBA durante EH. Por otra parte, Co y Ag en LLM y As, Hg, P y Zn en los 3 lagos, exhibieron la misma tendencia. En camarones, el factor de bioacumulación de Pb en LSR; Ag, Ba, Co, Ga y Pb en LLM; Ag, As y P en ERT y Cd, Cr, Hg, Ni, Sr y Zn en los tres lagos, fueron superiores durante la EH. Finalmente, Ba, Co, Ga y V, mostraron valores más altos de este factor durante la EH en peces del LSR, mientras que Al, As, Ba, Co, Ga, Ni y Se en peces del LLM; Al, P, Se y V en ERT y Cr, Sr y Zn, en los peces de los tres lagos.

Los resultados indican que las especies evaluadas presentan un alto nivel de acumulación de EI₂, lo que podría tener un impacto ambiental en los sistemas acuáticos estudiados.

2.3.5 Composición isotópica de las muestras analizadas

La comprensión de las relaciones tróficas, así como evaluar los niveles tróficos, es de fundamental importancia para el conocimiento de la estructura de los ecosistemas. En este contexto, las mediciones de isótopos estables de carbono y nitrógeno, se han convertido en herramientas útiles para determinar posiciones tróficas relativas de varias especies (Bond, 2010).

En las Fig. 2.27 y 2.28 se encuentran graficados los valores obtenidos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ para muestras de RSA, sedimento, plancton, camarón y músculo de pejerrey, durante la estación húmeda (A) y seca (B). Las diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas en los valores de isótopos entre los lagos, para una misma matriz. Los símbolos expresan diferencias significativas entre los valores obtenidos para plancton, camarón y músculo de pejerrey de un mismo lago. No se pudo determinar los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en muestras de sedimento durante la ES, debido al contenido insuficiente de N presente en las mismas.

A partir de los gráficos, se pueden observar diferencias significativas en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre los diferentes organismos de cada lago. En general, en ambas estaciones los peces presentaron los valores más altos de $\delta^{15}\text{N}$, los camarones tuvieron valores intermedios y el plancton mostró los valores más bajos, en los tres reservorios. Esta tendencia indica que los peces por su condición de predadores tope, se encuentran en niveles tróficos más altos que los invertebrados y productores primarios. Sin embargo, se manifiesta una excepción en el LSR (ES), en la que el camarón es el organismo que presentó un valor más alto de este isótopo.

Los organismos acuáticos incorporan preferentemente ^{15}N en relación al ^{14}N durante el procesamiento metabólico del nitrógeno. De esta forma, el isótopo ligero se concentra en los productos de excreción nitrogenada, mientras que el isótopo pesado es discriminado y retenido en los tejidos corporales (Deniro y Epstein, 1981). Las tasas de recambio y los factores de fraccionamiento isotópico específicos de cada tejido y especie, son poco conocidos y se han reportado variaciones sustanciales entre especies (Dehn *et al.*, 2006). Una hipótesis que generalmente se postula en los estudios de isótopos estables es que, la dieta de un organismo es constante o que el tiempo transcurrido desde el cambio de la dieta más reciente, es suficiente para que los tejidos alcancen el valor que refleja la nueva dieta.

En cuanto a los peces evaluados del LSR, podría estar ocurriendo que su composición isotópica no se haya equilibrado con la de su dieta (los camarones). Por lo tanto, sería importante conocer en los organismos estudiados la ventana de tiempo en la que se pueden percibir los cambios en la dieta asociados al valor de $\delta^{15}\text{N}$ de cada especie. Según van de Merwe *et al.* (2016), la tasa de recambio de isótopos estables en el fitoplancton ocurre en días, en *Macrobrachium australiense* (camarón de agua dulce) ocurren en semanas y en *Nematalosa erebi* (pez de agua dulce) en meses.

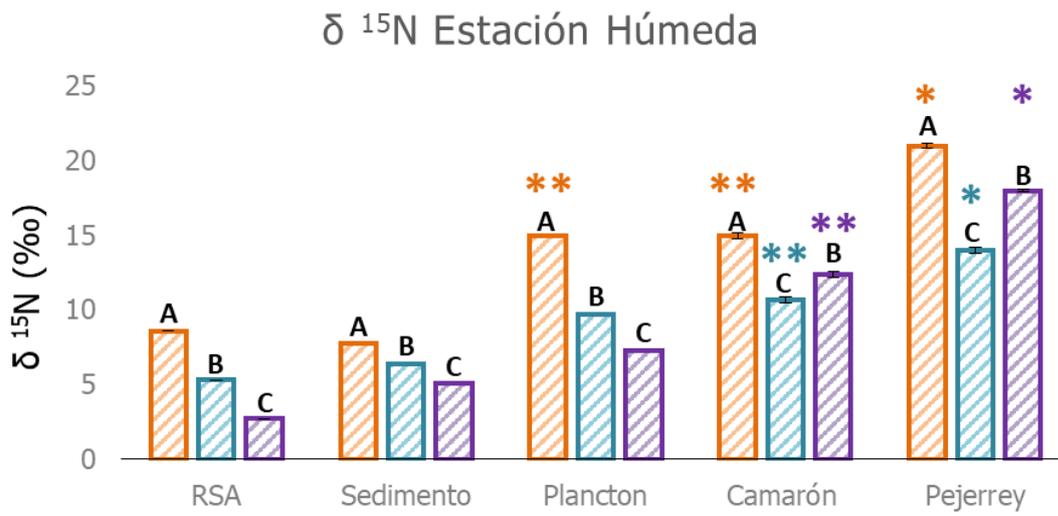
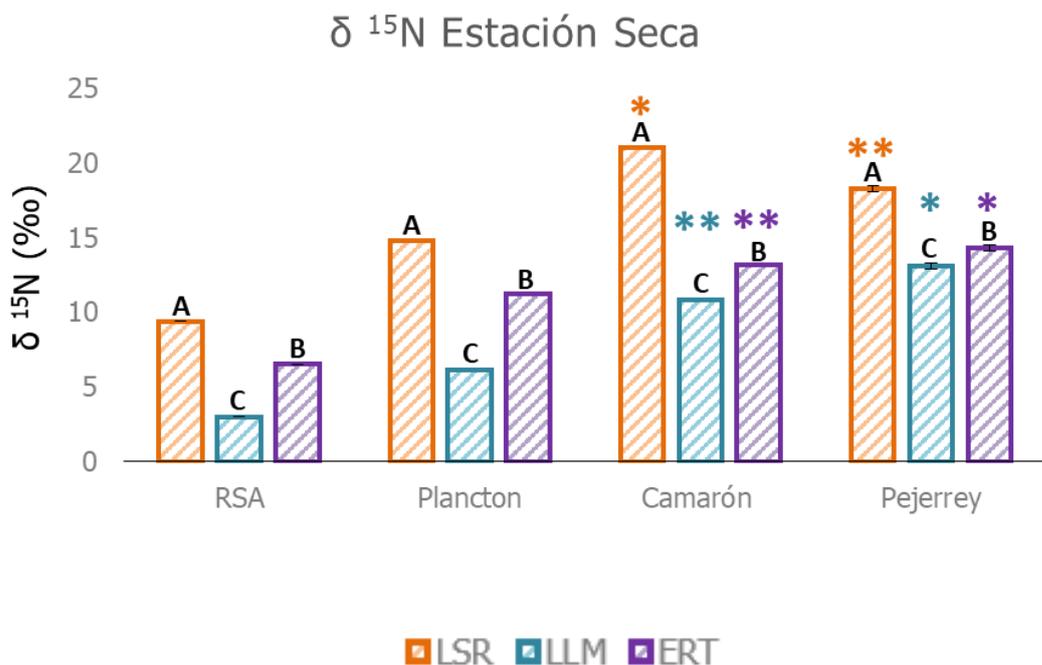
A**B**

Figura 2.27: $\delta^{15}\text{N}$ en muestras de RSA, sedimento, plancton, camarón y músculo de pejerrey provenientes del LSR, LLM y ERT en A) estación húmeda y B) estación seca. Diferentes letras indican diferencias en los valores del isótopo entre las matrices de un mismo lago y los diferentes símbolos indican diferencias entre los organismos de un mismo lago.

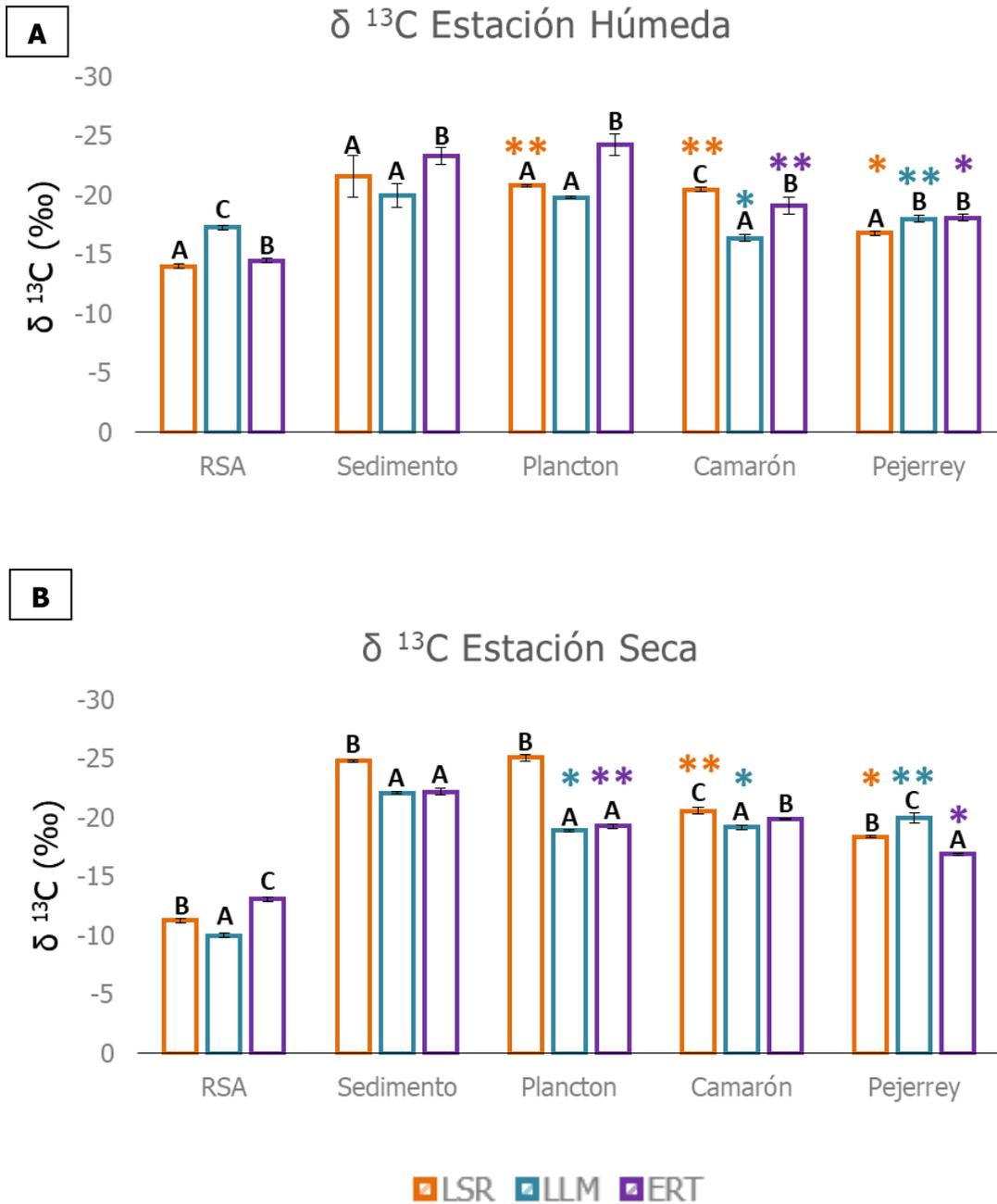


Figura 2.28: $\delta^{13}\text{C}$ en muestras de RSA, sedimento, plancton, camarón y músculo de pejerrey provenientes del LSR, LLM y ERT en A) estación húmeda y B) estación seca. Diferentes letras indican diferencias en los valores del isótopo entre las matrices de un mismo lago y los diferentes símbolos indican diferencias entre los organismos de un mismo lago.

Además, hay que tener en cuenta que se determinaron estos isótopos en el músculo de pejerrey y en el camarón completo; siendo que los valores pueden variar drásticamente dependiendo del tejido que se analiza (Vanderklift y Ponsard, 2003; Caut *et al.*, 2009).

A partir de los resultados de $\delta^{15}\text{N}$, se determinaron los niveles tróficos relativos de las especies en los distintos lagos y estaciones, calculando la diferencia entre los valores de este isótopo en las relaciones potenciales predador-presa (Tabla 2.7).

Considerando los valores obtenidos para las especies estudiadas y el hecho de que ocurre un aumento de $\delta^{15}\text{N}$ entre los organismos, se sugiere una cadena trófica con niveles tróficos crecientes como sigue: plancton-camarón-pejerrey. Si bien ocurrieron incrementos fuera del rango 3-5 ‰, los niveles tróficos propuestos son consistentes con lo publicado en bibliografía sobre los hábitos alimenticios del pejerrey (Monferrán *et al.*, 2016). Investigaciones recientes mostraron que existen variaciones considerables como las obtenidas en este estudio y que dependen de diversos factores extrínsecos (por ejemplo, calidad o composición de la dieta (McCutchan *et al.*, 2003; Robbins *et al.*, 2005)) y factores intrínsecos (por ejemplo, taxones (Caut *et al.*, 2009; Vanderklift y Ponsard, 2003) o la edad de los organismos (Hobson y Quirk, 2014; Minagawa y Wada, 1984)).

Tabla 2.7: Determinación de niveles tróficos en el LSR, LLM y el ERT en estación seca y húmeda.

Lago	Estación	Relación	Diferencia $\delta^{15}\text{N}$
San Roque	Seca	Camarón/Plancton	6,2
		Pejerrey/Camarón	-
	Húmeda	Camarón/Plancton	0,07
		Pejerrey/Camarón	6
Los Molinos	Seca	Camarón/Plancton	4,7
		Pejerrey/Camarón	2,3
	Húmeda	Camarón/Plancton	1
		Pejerrey/Camarón	4,3
Embalse de Río Tercero	Seca	Camarón/Plancton	2
		Pejerrey/Camarón	1,1
	Húmeda	Camarón/Plancton	5,1
		Pejerrey/Camarón	5,6

Por otra parte, debe considerarse que el valor de $\delta^{15}\text{N}$ puede variar en función de las contribuciones de N de origen antrópico. Las variaciones en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ permiten la discriminación de un número de fuentes de nitrógeno, por ejemplo, valores típicos de $\delta^{15}\text{N}$ para NO_3^- de fertilizantes varían entre -7 y 7 ‰; para NO_3^- de precipitaciones están entre -5 ‰ y 8 ‰, N del suelo entre 3 y 8 ‰, NH_4^+ en fertilizantes y lluvia entre -9 ‰ y 4 ‰ y para el estiércol y aguas servidas entre 0 y 25 ‰ (Fenech *et al.*, 2012).

Al analizar los valores de $\delta^{15}\text{N}$ por matriz entre los lagos, observamos que en ambas estaciones los valores más altos de este isótopo lo poseen las muestras pertenecientes al LSR. Durante la ES, le siguen las muestras del ERT y por último las del LLM. En la EH ocurre un comportamiento similar en muestras de camarón y pez, mientras que para las muestras de plancton, sedimento y RSA, los valores más bajos se encuentran en el ERT. Esto puede ser debido a las distintas actividades antropogénicas que se realizan en los alrededores de estos lagos, siendo diferentes fuentes de nitrógeno, con distintos valores isotópicos.

Comparando los valores obtenidos de $\delta^{15}\text{N}$ con los característicos de fuentes de nitrógeno, observamos que las muestras del LSR poseen valores superiores a 8 ‰, más específicamente entre 8,6 y 21 ‰, adjudicando estos valores a la alta influencia que posee este lago de aguas residuales. A su vez, la biota del LLM (6,1 a 14 ‰) y del ERT (7,3 a 18 ‰), también se ven afectadas por los aportes de líquidos cloacales que reciben sus aguas.

A su vez, se compararon los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de los organismos analizados en este estudio con los de otros sistemas acuáticos de diferentes características; Lago Victoria (Este de África) y del Delta del Río Amarillo (Shandong, China). En un estudio desarrollado por Campbell y colaboradores se analizó la estructura de la red trófica del Lago Victoria, en una región mesotrófica a eutrófica, evaluando $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en diversos organismos (Campbell *et al.*, 2003). Este lago recibe efluentes cloacales, generalmente no tratados. En la Fig. 2.29 se muestran los valores obtenidos para plancton, *Caridina nilotica* (camarón de agua dulce) y *Rastrineobola argentea* (pez) analizados en este lago. Además, se encuentran graficados los valores obtenidos para la biota del LSR en EH y los de *Myriophyllum spicatum* (plantas acuáticas), *Fenneropenaeus chinensis* (camarón) y *Ameiurus nebulosus* (pez), evaluados por Cui y colaboradores en el Río Amarillo. Estos últimos, fueron extraídos de la región que conforma una reserva nacional, donde el gobierno de China ha implementado un proyecto de restauración del agua (Jiang *et al.*, 2015), que resultó en menores contenidos de nitrógeno y fósforo total en el agua, menor salinidad y mayor materia orgánica en sedimentos, entre otros beneficios (Cui *et al.*, 2009).

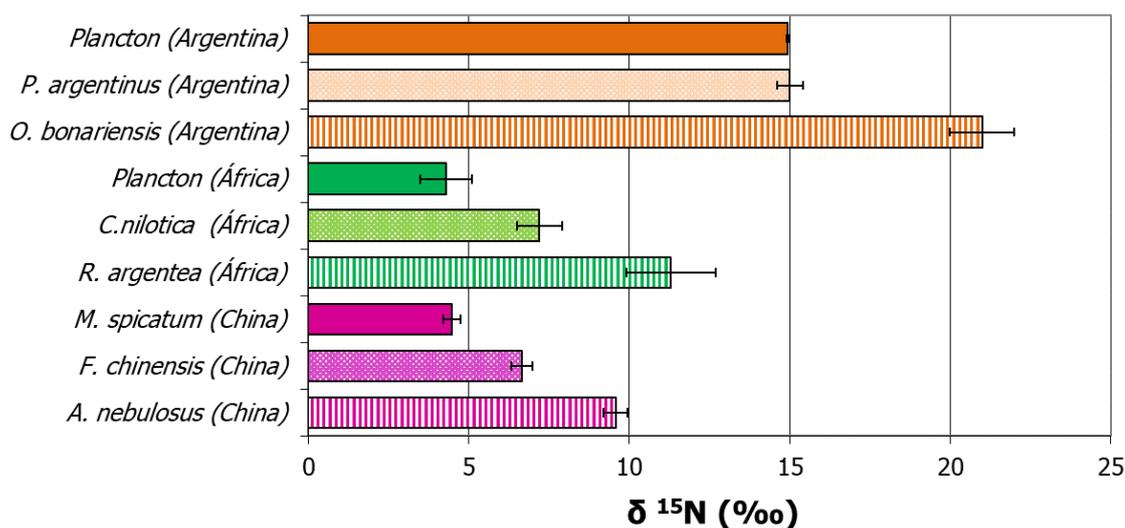


Figura 2.29: $\delta^{15}\text{N}$ en muestras de diversos organismos provenientes del LSR (EH), del Lago Victoria (África) y del Delta del Río Amarillo (China).

Podemos observar que los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de las muestras procedentes del LSR, son mayores a los de las muestras análogas de los demás reservorios, demostrando cómo afecta la descarga de efluentes cloacales en el valor de éste isótopo en los sistemas acuáticos. Este marcador, demuestra su valioso uso como herramienta para la identificación de contaminación con aguas servidas, en especial este punto abre la posibilidad de utilizar los valores de $\delta^{15}\text{N}$ para determinar si un alimento proviene de un ambiente contaminado con desechos cloacales, lo que representa un riesgo para la salud de la población que consuma dichos alimentos.

Finalmente, se evaluó el comportamiento de $\delta^{15}\text{N}$ entre las estaciones para una misma matriz (estadística expresada en la Tabla 9 del ANEXO II, letras minúsculas indican diferencias significativas entre las estaciones). De este análisis podemos decir que, no hay una tendencia generalizada entre los lagos y por matriz, en la que el valor del isótopo sea mayor en una u otra estación. En el LSR, $\delta^{15}\text{N}$ presentó valores más altos en muestras de RSA y camarón durante ES y en el músculo de pejerrey durante EH. Para las muestras de plancton, no hubo diferencias en el valor de este isótopo entre las estaciones. En el LLM, el RSA y plancton presentaron valores mayores de $\delta^{15}\text{N}$ en EH y en muestras de camarón y pez fueron similares en ambas estaciones. Por último, en el ERT, muestras de RSA, plancton y camarón presentaron valores mayores durante ES y de pez en EH.

En cuanto al $\delta^{13}\text{C}$, es una herramienta útil para la identificación de diferentes fuentes de producción primaria (Hobson *et al.*, 2002, Hoekstra *et al.*, 2003). Los valores de este isótopo en herbívoros y carnívoros se correlacionan con los correspondientes a su dieta. En lagos, se puede utilizar para diferenciar fuentes de producción primaria litoral proveniente de algas bentónicas (-32 a -16 ‰) y la producción pelágica del fitoplancton (-38 a -26 ‰) (France, 1995).

De acuerdo a los valores obtenidos en la biota del LSR (-25,1 a -16,8 ‰), del LLM (-20 a -16,4 ‰) y del ERT (-24,3 a -16,9 ‰) y a la caracterización de las fuentes de producción primaria en lagos, podemos decir que la base de las tramas tróficas en los tres cuerpos de agua estudiados fueron de producción litoral. Esto indica que los organismos se están alimentando en regiones de aguas poco profundas, a lo largo de la orilla y en zonas con vegetación enraizada, lo que concuerda con la zona de toma de muestras de plancton y camarón.

Ante el análisis del $\delta^{13}\text{C}$ en la biota de los lagos, observamos diferencias significativas entre los organismos, presentando valores más altos los peces del LSR y del ERT, con respecto al plancton y camarones, en ambas estaciones. En cuanto al LLM, se observó que los valores más altos de este isótopo estaban presentes en las muestras de camarón durante la EH y que las muestras de plancton y camarón en ES presentaban valores similares, siendo estos mayores a los de los peces. A pesar de estas diferencias observadas, está demostrado que *P. argentinus* es considerado como parte de la dieta (fuente de carbono) de *O. bonariensis* (Rodríguez y Bemvenuti, 2011) en las redes tróficas.

Generalmente los valores de $\delta^{13}\text{C}$ fueron superiores en las matrices del LLM, con respecto a las análogas de los otros reservorios, con algunas excepciones. Durante la EH, el RSA y el

músculo de pejerrey del LSR presentaron valores superiores. No hubo diferencias significativas en los valores de muestras de plancton entre los lagos Los Molinos y San Roque. Por otra parte, en ES los peces del ERT exhibieron valores mayores del isótopo y muestras de sedimento y plancton presentaron valores similares en el LLM y el ERT.

Diferencias estacionales fueron encontradas en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en las distintas matrices (estadística expresada en la Tabla 9 del ANEXO II, letras minúsculas indican diferencias significativas entre las estaciones). En particular en el LSR, valores más elevados se encontraron en muestras de sedimento, plancton y pejerrey en EH y en RSA durante ES. En el LLM, valores más elevados se encontraron en sedimento, camarón y pez durante EH, mientras que en ES, en RSA y plancton. Finalmente, en ERT los valores más elevados se encontraban en la mayoría de las matrices durante la ES, a excepción de los camarones.

Es importante tener en cuenta que el muestreo realizado en EH, se llevó a cabo luego de intensas lluvias, y durante estas condiciones hay un ingreso y egreso de materia orgánica diversa (Junk y Wantzen, 2006). Esto puede introducir una fuente de variabilidad en el isótopo de carbono, ya que el valor del mismo para productores primarios depende de varios parámetros ambientales y a veces pueden presentar cambios estacionales (Yoshioka *et al.*, 1984), resultando en cambios en los flujos de carbono a través de las cadenas tróficas.

2.3.6 Relación entre las concentraciones de elementos inorgánicos y $\delta^{15}\text{N}$

Se evaluó la biomagnificación y la biodilución de los EI₂ a través de las cadenas tróficas planteadas, utilizando $\delta^{15}\text{N}$ y la concentración del elemento en la biota transformada, aplicándole el logaritmo decimal. Para ello, se realizaron regresiones lineales simples, donde una pendiente significativa (p-valor <0,0001) y positiva indica la acumulación del elemento a través de la cadena trófica (biomagnificación) y una pendiente negativa sugiere la eliminación del elemento de la cadena trófica o la interrupción de la transferencia trófica (biodilución) (Monferrán *et al.*, 2016). Los parámetros registrados de las regresiones lineales realizadas (pendiente, ordenada al origen, R² y p-valor) se encuentran especificados en las Tablas 10, 11 y 12 del ANEXO II, para los tres lagos en ambas estaciones.

En base a los resultados, no encontramos evidencia de biomagnificación para la mayoría de los elementos, ya que las pendientes obtenidas de la regresión lineal fueron negativas. En general, las concentraciones de Al, Cd, Co, Cr, Fe, Li, Mn, Ni, Se y V en las cadenas tróficas estudiadas disminuyeron significativamente con el aumento de $\delta^{15}\text{N}$, en ambas estaciones, mostrando un comportamiento de biodilución (Fig. 2.30). En particular, en el LSR elementos como As, Ba, Ga, Hg, Sr y Zn, mostraron biodilución durante la EH; Rb durante la ES y Ag, Pb y Se en ambas estaciones. En el LLM los elementos que exhibieron este comportamiento fueron Ag y Hg en EH, Pb en ES y As, Ba, Cu, Ga, Rb, Sr y Zn en ambas estaciones. Finalmente, en el ERT presenciaron biodilución Hg (EH), Cu, Zn (ES), As, Ba, Ga, Pb, Rb y Sr (ambas estaciones).

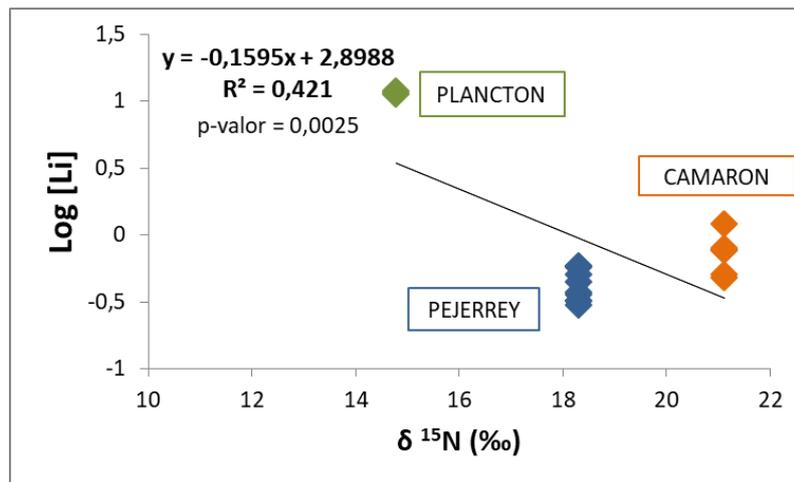
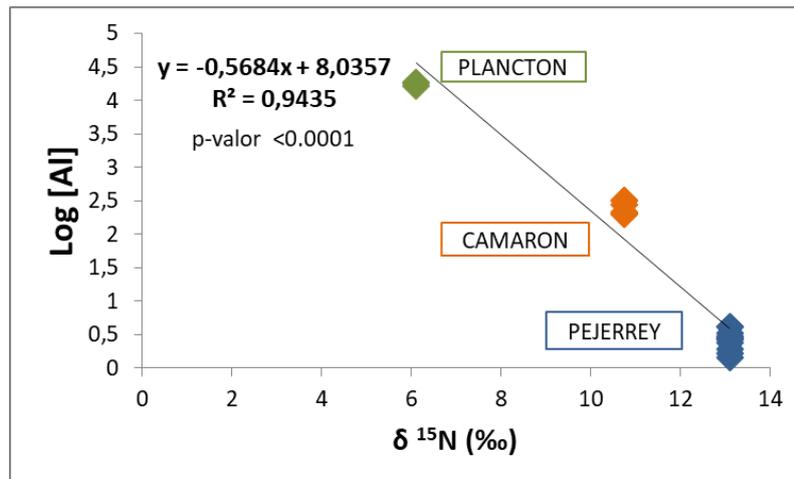
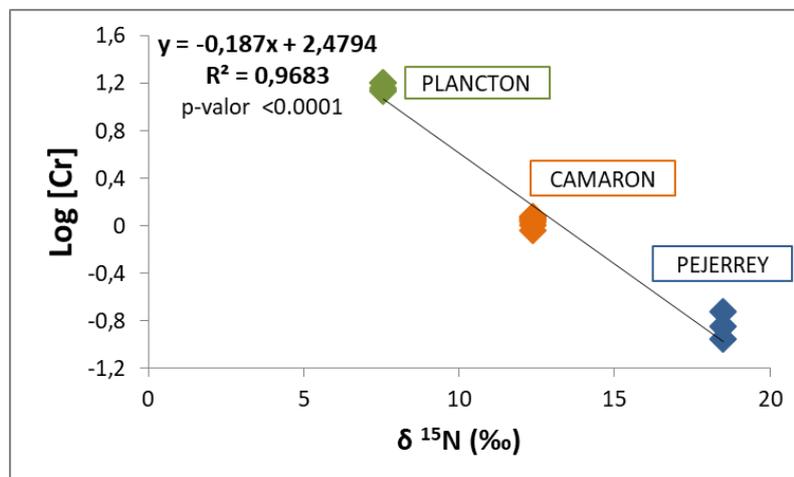
A**B****C**

Figura 2.30: Relación entre $\text{log [concentración de elementos, } \mu\text{g.g}^{-1} \text{ ps]}$ y el $\delta^{15}\text{N}$ para Li en el LSR en ES (A); Al en el LLM en ES (B) y Cr en el ERT en EH (C) en las cadenas tróficas estudiadas, representando el comportamiento de biodilución.

Se han reportado en varios trabajos la biodilución de la mayoría de estos elementos en diferentes cadenas tróficas (Nfon *et al.*, 2009; Campbell *et al.*, 2005, Asante *et al.*, 2008; Marín-Guirao *et al.*, 2008), sugiriendo que podrían estar parcialmente biodiluidos en un nivel trófico aumentado o podrían estar concentrados por organismos, pero no se biomagnifican en las

cadena trófica. Según Nfon *et al.* (2009), esto puede deberse a la regulación homeostática de los metales por medio de metalotioneínas y proteínas similares propias de los organismos. Estas se encuentran en vertebrados e invertebrados, regulando las tasas de captación, acumulación y excreción de metales.

En el caso particular del As, estudios previos demostraron que este metaloide generalmente no se biomagnifica a través de las cadenas tróficas. Asante *et al.* (2008) informaron que no se presenta correlación significativa entre las concentraciones de As y los valores $\delta^{15}\text{N}$ en peces del Mar de China Oriental. De forma similar, las concentraciones de As en una red trófica marina (invertebrados, peces, aves y mamíferos) no se correlacionan significativamente con los valores de $\delta^{15}\text{N}$ ‰ (Campbell *et al.*, 2005). Sin embargo, se encontró que este elemento se biomagnifica significativamente en la biota (zooplancton y pescado) de Bahía Suruga, Japón (Sakata *et al.*, 2014) y en peces del mar de Sulu, Filipinas (Asante *et al.*, 2010). Por lo tanto, la transferencia de As a través de una cadena trófica podría estar influenciada por diversos factores, como por ejemplo la estructura de la misma y de la especiación del elemento.

Por lo contrario, se observaron relaciones positivas y significativas entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y del logaritmo de la concentración de P (LLM y LSR) y de Hg (LLM) durante la ES (Fig. 2.31). Cabe destacar que en el ERT se observó esta tendencia para Cu (EH), pero evaluando solamente dos niveles tróficos, plancton y camarón, ya que en el músculo de pejerrey se encontraba por debajo del LQ. No se han encontrado estudios donde evalúen la dinámica del P en cadenas tróficas acuáticas, pero al ser éste un nutriente esencial para el crecimiento normal de los peces (Baeverfjord *et al.*, 1998), se espera que sea ampliamente acumulado por estos organismos.

En cambio, la acumulación del Hg a través de cadenas tróficas acuáticas se encuentra muy bien documentada, al ser especialmente problemática (Monferrán *et al.*, 2016, Ofukany *et al.*, 2014, Nfon *et al.*, 2009). El Hg es clasificado como un metal no esencial y altamente tóxico, que puede liberarse al ambiente mediante una serie de procesos naturales o antropogénicos. Se ha demostrado en muchos estudios que la transferencia trófica, desde niveles tróficos inferiores a niveles tróficos superiores, es una forma predominante de acumulación de Hg en ambientes acuáticos y puede llegar a los humanos mediante el consumo de peces. Es importante señalar que la biomagnificación de este elemento no se observó durante la EH en el mismo reservorio (LLM), lo que puede deberse al hecho de que los especímenes recogidos tenían un tamaño más pequeño en EH (18 ± 2 cm) que los recogidos durante la ES (24 ± 1 cm). Se conoce que existe una relación positiva entre el tamaño/edad de los peces y las concentraciones de Hg; especies de peces adultos de gran tamaño generalmente tienen mayores niveles de este metal que peces más pequeños (Bosch *et al.*, 2016).

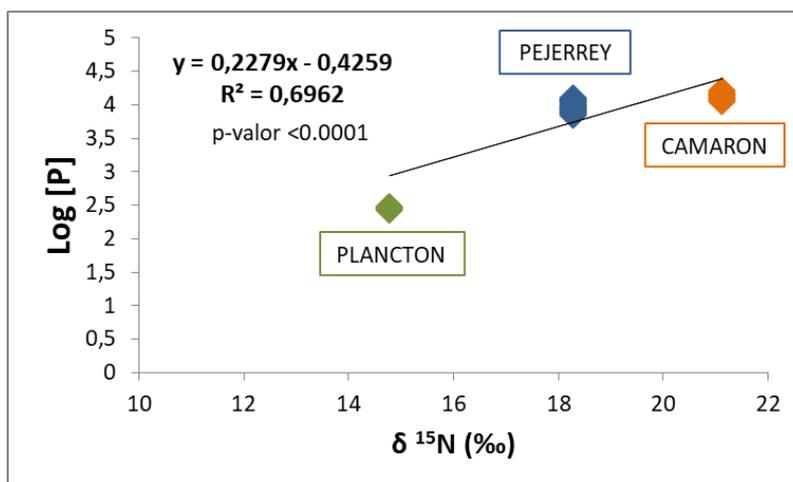
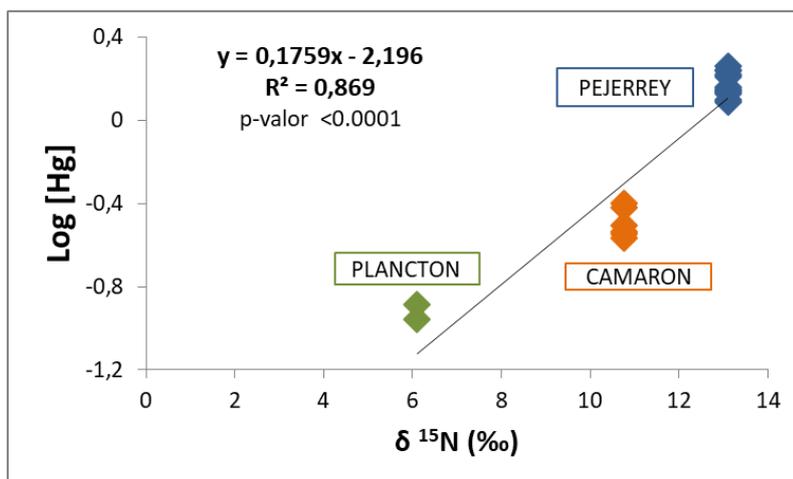
A**B**

Figura 2.31: Relación entre log [concentración de elementos, $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ps] y el $\delta^{15}\text{N}$ para P en el LSR en ES (A) y Hg en el LLM en ES (B) en las cadenas tróficas estudiadas, representando el comportamiento de biomagnificación.

Por otra parte, se encontraron pendientes positivas pero no significativas para varios elementos, lo que indica una transferencia del elemento en la cadena trófica (Fig. 2.32). En el LSR, mostraron este comportamiento P y Rb durante la EH y As, Ba, Cu, Ga, Hg, Sr y Zn durante la ES. En cambio en el LLM, P, Pb (EH) y Ag (ES) presentaron pendiente positiva y no significativa. Por último, en ERT se encontraron elementos que manifestaban este comportamiento como Ag, Zn (EH), Hg (ES) y P (EH y ES).

Cabe señalar que la Ag no se detectó en las muestras de plancton del LLM en ES ni en peces del ERT en EH, por lo que la transferencia se produce de camarón a peces y de plancton a camarón, respectivamente. La eficiencia de la transferencia trófica de la Ag suele ser muy baja, por lo que su biomagnificación a través de las cadenas tróficas rara vez es reportada (Huang *et al.*, 2008; Revenga *et al.*, 2011).

A su vez, el Pb tampoco se detectó en las muestras de pejerrey del LLM (EH) y el Hg en plancton del ERT (ES). No se ha encontrado evidencia que apoye la biomagnificación de Pb en cadenas tróficas acuáticas (Campbell *et al.*, 2005; Nfon *et al.*, 2009; Sakata *et al.*, 2014; Guo *et*

al., 2016). Aunque el presente estudio no mostró su biomagnificación (pendiente positiva, $p = 0,0001$), resulta interesante mencionar que hay una transferencia de este elemento del plancton al camarón, pero que de camarón a pez se biodiluye.

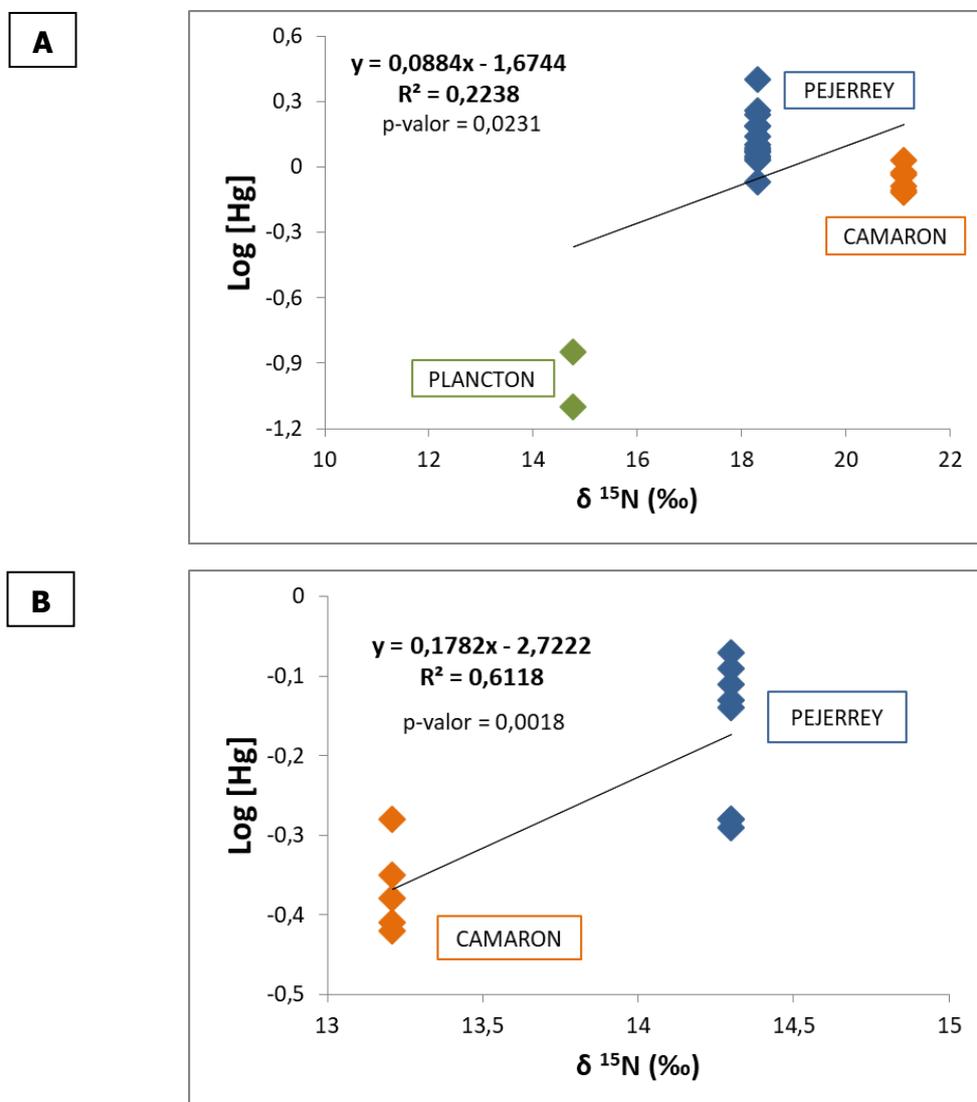


Figura 2.32: Relación entre log [concentración de elementos, $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ps] y el $\delta^{15}\text{N}$ para Hg en el LSR en ES (A) y Hg en el ERT en ES (B) en las cadenas tróficas estudiadas, representando la transferencia trófica.

Varias explicaciones pueden ser posibles para la observada falta de transferencia trófica de algunos elementos entre los organismos estudiados. La ausencia de relaciones significativas entre los elementos y $\delta^{15}\text{N}$, así como la falta de patrones claros dados por los signos de las pendientes de las ecuaciones de regresión, reflejan la influencia de la dieta de los organismos. Los individuos recolectados se alimentan en más de un nivel trófico, a pesar de estar progresivamente enriquecidos en $\delta^{15}\text{N}$ con la edad. Además, la mayoría de los elementos se acumulan en ciertos

órganos, como el hígado y el riñón, pero se regulan a niveles muy bajos en el músculo de los peces (Reinfelder *et al.*, 1998), órgano en el que se analizaron los EI₂.

Finalmente, es importante remarcar que la química de los elementos inorgánicos en las cadenas tróficas es muy compleja. Estos son elementos naturalmente persistentes en el ambiente, que se bioacumulan y regulan internamente mediante diferentes estrategias (por ejemplo, excreción, almacenamiento) según la especie y su toxicidad está influenciada por factores geoquímicos que influyen en su biodisponibilidad.

2.3.7 Evaluación de riesgo para la salud

Las vías dietarias representan una de las vías de exposición más importantes de metales en humanos (Choudhury *et al.*, 2001). La especie *O. bonariensis* de los lagos estudiados, resulta un producto acuático importante en diversas regiones de la ciudad de Córdoba. Por lo tanto, se considera importante evaluar los potenciales riesgos para la salud causados por el consumo de esta especie.

La ingesta diaria promedio (IDP) de EI₂ a través del consumo de pejerrey se encuentra presentada en la Tabla 13 del ANEXO II, tanto para adultos como para niños. No se determinó la IDP de los elementos que en el músculo de pejerrey se encontraban por debajo del LD o LQ. A su vez, en la Tabla 14 del ANEXO II se encuentran los valores de ingesta diaria recomendada, calculados a partir de la dosis de referencia determinada por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) en adultos de 70 Kg y niños de 20 Kg. No se pudo determinar la IDR de Ga, Rb y P, ya que no se encuentran estipuladas dosis de referencia para estos elementos.

Teniendo en cuenta la concentración promedio de los EI₂ en el músculo de *O. bonariensis* y suponiendo que un adulto de 70 kg come 150 g de músculo de pescado por día, el cálculo de IDP revela que no hay riesgo por el consumo de la mayoría de los elementos estudiados, a excepción de Hg y As en los tres lagos durante la EH y ES. Esta situación es más preocupante para los niños o para personas con menor peso corporal. Al considerar un niño de 20 kg, que ingiere 75 g de músculo de pescado por día, también se observa el potencial riesgo de As y Hg provenientes del consumo de pejerrey del LSR, LLM y ERT, en ambas estaciones, ya que IDP es superior a la IDR.

En la Tabla 2.8 se resumen los resultados obtenidos de IDR e IDP para As y Hg, teniendo en cuenta el consumo de peces de los lagos en estudio por adultos y niños.

Tabla 2.8: Comparación de la Ingesta Diaria Recomendada con la Ingesta Diaria Promedio de peces del LSR, LLM y del ERT en estación seca y húmeda.

ELEMENTO	IDR (mg.kg ⁻¹ .día ⁻¹)		IDP (mg.kg ⁻¹ .día ⁻¹)						
				LSR		LLM		ERT	
	Adultos	Niños	Estación	Adultos	Niños	Adultos	Niños	Adultos	Niños
As	0,0200	0,0060	<i>Seca</i>	0,39	0,20	0,38	0,19	0,42	0,21
			<i>Húmeda</i>	0,30	0,15	0,63	0,32	0,09	0,05
Hg	0,0070	0,0020	<i>Seca</i>	0,21	0,11	0,26	0,13	0,14	0,07
			<i>Húmeda</i>	0,08	0,04	0,08	0,04	0,05	0,02

Estos resultados refuerzan lo publicado por Monferrán *et al.* (2016b), que demuestran que los niveles de As y Hg superan los niveles de IDR por la USEPA para adultos, ante el consumo de pejerrey del LSR durante tres campañas de muestreo (estación seca, húmeda e intermedia). Sin embargo, en éste trabajo no se menciona el riesgo de consumo para niños.

El As es un metaloide ubicuo en el ambiente y del que se ha informado ampliamente sobre los efectos adversos que ejerce en la salud de los seres humanos (Bardach *et al.*, 2015). La exposición se produce principalmente por la ingestión de agua y alimentos contaminados con este elemento, ya sea procedente de fuentes naturales o antropogénicas. La contaminación del agua por As es un problema mundial, donde más de 226 millones de personas se encuentran expuestas (Murcott, 2012; Smedley y Kinniburgh, 2013). Las concentraciones más altas y, en consecuencia, los problemas de salud más importantes, se localizan en Argentina, Bangladesh, Nepal, Chile, China, Hungría, India, México, Rumanía, Taiwán, Vietnam y los EE.UU (Bundschuh *et al.*, 2008). En Argentina, el contenido más alto de As en agua subterránea se encuentra en la llanura Chaco-Pampeana (provincias de Buenos Aires, Córdoba y La Pampa).

La exposición crónica a As se asocia con una variedad de problemas de salud, incluyendo varios tipos de cáncer (pulmón, piel, vejiga, riñón), enfermedades neurológicas, enfermedades cardiovasculares, afecciones perinatales y otras enfermedades benignas (Bardach *et al.*, 2015). La exposición a largo plazo y en bajas dosis conduce a una serie de alteraciones en la salud, que dan como resultado la intoxicación por As o "Arsenicosis" (McCarty *et al.*, 2011). En Argentina, un estudio demostró que la proporción de cáncer de piel alcanza niveles tan altos como el 88 %, en pacientes con arsenicosis (Bardach *et al.*, 2015). De acuerdo a estudios epidemiológicos, han encontrado que la exposición a este metaloide en la vida temprana está fuertemente asociada con un aumento de la mortalidad por cáncer de vejiga, cáncer de laringe, cáncer de hígado, y enfermedad renal crónica en adultos (Hopenhayn-Rich *et al.*, 2000), mientras que la exposición perinatal se asocian con el aumento de la mortalidad fetal, neonatal y post neonatal tardía (Smith *et al.*, 2012).

Por otro lado, Hg es un elemento altamente tóxico que se libera por evaporación natural de las superficies marinas y terrestres, así como por la actividad volcánica. El vapor de Hg es estable y puede residir en la atmósfera durante más de 1 año y es capaz de ser distribuido a regiones remotas (Virtanena *et al.*, 2007). Además, puede ser liberado por la quema de combustibles fósiles, en particular del carbón, y la incineración de residuos municipales. Se encuentra en una gran variedad de especies de peces y de animales que se alimentan de ellos. En humanos, la mayor exposición a Hg ocurre a través de los alimentos, siendo el pescado y los productos pesqueros las principales fuentes de consumo de este metal (Clarkson, 2002).

Se absorbe a través del tracto gastrointestinal y avanza afectando a otros sistemas a través de esta ruta. Este elemento ha sido reconocido como una neurotoxina para los seres humanos, debido a la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica, llegando al cerebro donde ejerce su toxicidad. El cerebro de los adultos y, en particular, de los fetos en desarrollo, son muy sensibles a los efectos neurotóxicos del Hg (Fernandes Azevedo *et al.*, 2012). En los últimos 10 años, sus efectos potencialmente nocivos sobre el sistema cardiovascular han sido causa de gran preocupación, sobre todo debido a que algunos estudios epidemiológicos han encontrado una correlación positiva entre los niveles de Hg en el cuerpo y el riesgo de una enfermedad cardiovascular.

Paralelamente, se determinaron los cocientes de peligro objetivo (CPO) de los EI₂, teniendo en cuenta el consumo de pejerrey por parte de la población general (PG) y de los pescadores (PE), estos valores se encuentran expresados en la Tabla 15 del ANEXO II. Los valores de CPO para la mayoría de los EI₂ fue inferior a 1, lo que indica que la población expuesta es poco probable que experimente efectos adversos obvios por el consumo de estos organismos, con excepción del As y Hg. Específicamente, el As supera el valor de 1 para el grupo considerado de PE en los lagos San Roque y Los Molinos en ambas estaciones, y también para los PE del ERT durante la ES. Estos valores (>1) estarían indicando que los consumidores se encuentran experimentando en cierta medida efectos adversos para la salud, siendo peor la situación para los PE del LLM (EH). A su vez, el Hg mostró valores de CPO superiores a 1 para los PE en la EH y ES en los tres lagos, y para la PG en el LLM durante ES, indicando nuevamente que los consumidores experimentan efectos adversos para la salud.

Como se puede observar a partir de la Fig. 2.33, el valor total de CPO para los PE fue superior a 1 en los tres lagos, en ambas estaciones. Para la PG, se observó esta misma tendencia durante la ES en los tres lagos y en EH en el LLM. Los TCPO de PE y de la PG más altos se encontraron en el LLM, durante la ES. Estos valores nos indican que los consumidores estarían experimentando efectos adversos para su salud, en especial en los casos de TCPO mayores a 5, que podrían advertir grandes riesgos para la salud.

Al comparar los TCPO reportados para los PE y la PG durante las dos estaciones evaluadas, observamos que el primer grupo presenta valores entre 3,5 y 4 veces más altos que los correspondientes al segundo grupo. Esto sugiere que debido a la mayor frecuencia de consumo,

los PE presentan mayor riesgo por consumo de pejerrey, asociados principalmente con Hg y As. El riesgo por consumo de pescado se incrementa durante la ES, donde generalmente observamos las mayores concentraciones de As y Hg en el músculo de pejerrey.

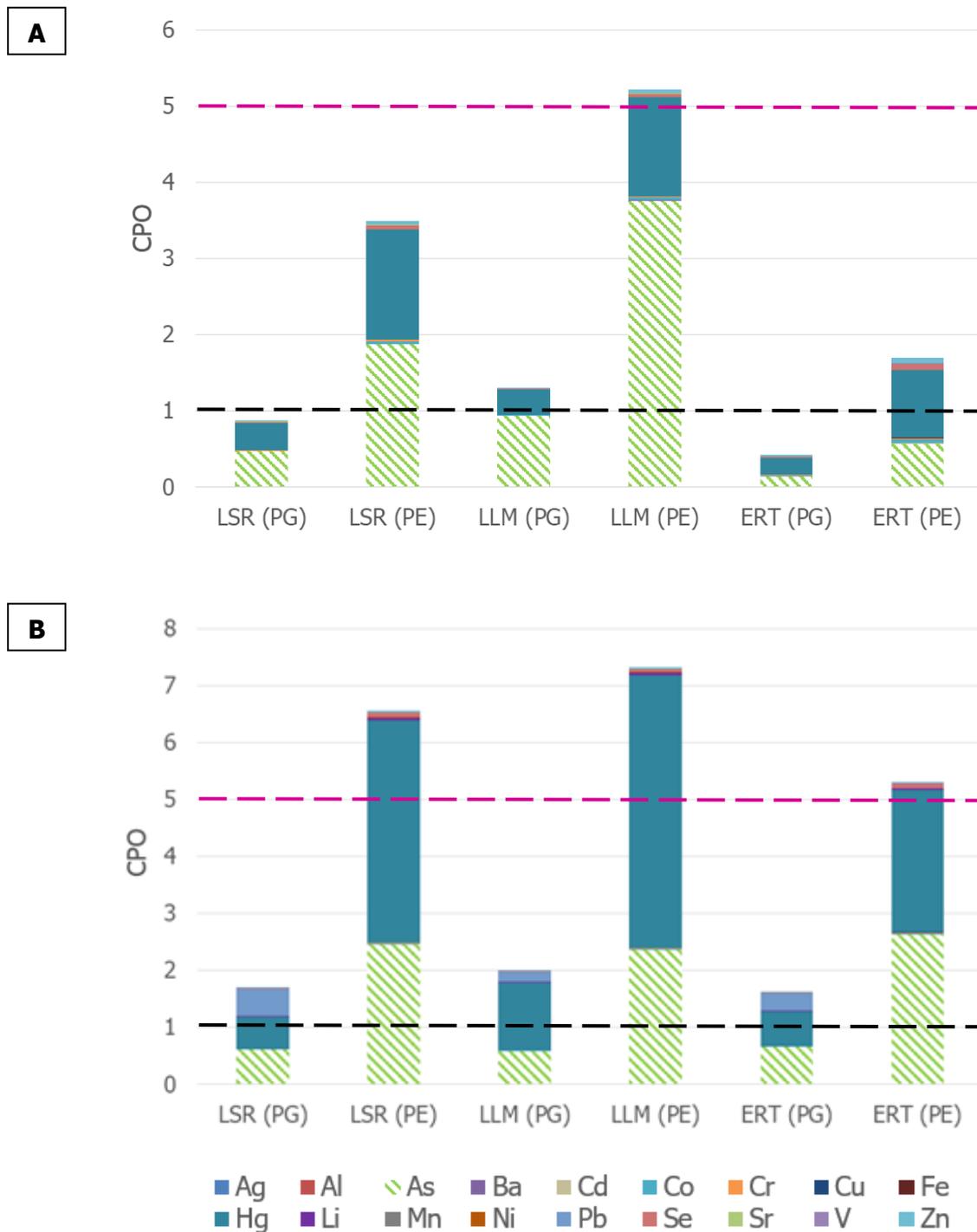


Figura 2.33: CPO para EI₂ de peces provenientes del LSR, LLM y del ERT en (A) estación húmeda (B) y estación seca, calculados para la población general (PG) y pescadores (PE).

El riesgo carcinogénico (RC) ocasionado por el consumo de peces con presencia de As, se enumera en la Tabla 2.9. Este factor de riesgo se estima como la probabilidad incremental de un individuo de desarrollar cáncer, como resultado de la exposición a un posible carcinógeno, en este caso As (Ahmed *et al.*, 2016). La mayoría de los valores de RC obtenidos no se encuentran dentro del rango aceptable de 10^{-4} , siendo superiores los RC de los PE, con respecto a los de la PG. Solamente el RC de la PG del ERT, durante la EH, se encuentra dentro de los parámetros aceptables. Por lo tanto, esto indica que el consumo excesivo de pejerrey durante un largo período de tiempo, provenientes de los principales lagos de la provincia de Córdoba, podría causar un efecto cancerígeno. Específicamente que existe una probabilidad de que 1 entre 10.000 personas que consume estos peces desarrolle cáncer.

Tabla 2.9: Riesgo carcinogénico causado por As en peces del LSR, LLM y del ERT en estación seca y húmeda.

Elemento	Estación	Riesgo de Cáncer por exposición a As					
		LSR		LLM		ERT	
		PG	PE	PG	PE	PG	PE
As	Seca	2,75E ⁻⁰⁴	1,10E ⁻⁰³	2,64E ⁻⁰⁴	1,06E ⁻⁰³	2,96E ⁻⁰⁴	1,18E ⁻⁰³
	Húmeda	2,11E ⁻⁰⁴	8,45E ⁻⁰⁴	4,44E ⁻⁰⁴	1,78E ⁻⁰³	6,34E ⁻⁰⁵	2,54E ⁻⁰⁴

Finalmente se estimó la tasa máxima de consumo mensual (TMCM) de pescado que adultos y niños pueden consumir con seguridad durante un período de tiempo, la cual minimiza posibles efectos sistémicos crónicos (valores en la Tabla 16 del ANEXO II). Suponiendo que en la dieta de los consumidores no existen otras fuentes de EI₂, los límites determinados de consumo de pescado para los cuales no se esperan efectos adversos para la salud fueron > 8 comidas / mes, tanto en adultos y niños para la mayoría de los EI₂ analizados, a excepción de As y Hg. Los límites de consumo obtenidos indican que sería conveniente minimizar las comidas mensuales de las especies de peces analizadas para evitar efectos sistémicos crónicos debidos al contenido de As y de Hg, especialmente en niños. TMCM en niños mostraron los niveles más bajos de comidas sugeridas con pescado.

En la Fig. 2.34 se puede observar que la TMCM de pejerrey con Hg y As es mayor para los niños y adultos durante la EH en los tres lagos estudiados, con la excepción de As en el LML. Estos resultados están correlacionados con las concentraciones inferiores de Hg y As que se encuentran en el músculo de pejerrey durante esta estación. Especialmente para niños, los límites de consumo calculados sugieren reducir la ingesta mensual de comidas con pescado provenientes del LLM a 0,4, para minimizar el riesgo por consumo de Hg. Es decir, realizar una comida con este pescado cada 2 meses y medio.

Si bien es cierto que reduciendo la exposición a Hg o As puede disminuir los riesgos de salud, las tasas elevadas de cáncer pueden persistir durante muchos años luego de una exposición a altas dosis (Steinmaus *et al.*, 2013). La gravedad de las enfermedades provocadas por estos elementos es muy dependiente de varios factores tales como, las concentraciones presentes en el pescado, la duración de la exposición, la edad, peso corporal, entre otros.

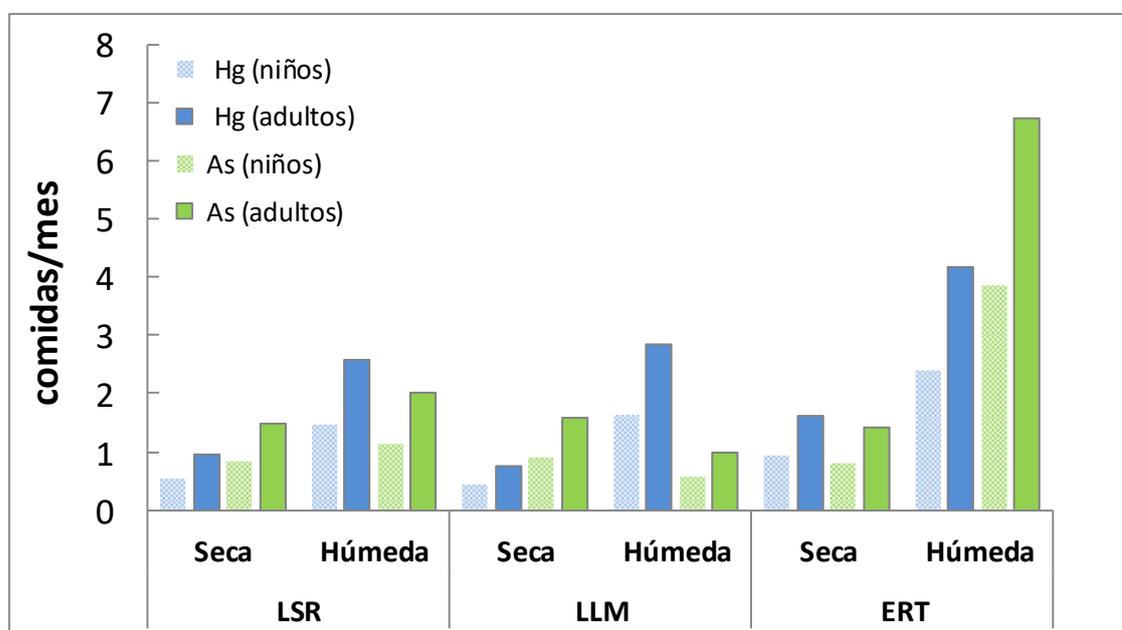


Figura 2.34: Tasa Máxima de consumo de pejerrey provenientes del LSR, LLM y del ERT, en estación seca y húmeda, recomendadas para niños y adultos.

Los peces son una fuente importante de nutrientes para los seres humanos. Son una excelente fuente de proteínas, vitamina D y, en especial, de ácidos grasos de cadena larga omega-3 como el ácido eicosapentaenoico, el ácido docosapentaenoico y el ácido docosahexaenoico. Además, provee ciertos elementos inorgánicos nutricionalmente esenciales como el Co, Cu, Fe, Mn, Se y Zn, los cuales desempeñan un papel clave en los procesos fisiológicos o bioquímicos en humanos. Efectos nutricionales adversos pueden ocurrir si los metales esenciales no están disponibles en cantidades suficientes en la dieta humana, los déficits pueden además aumentar la vulnerabilidad de los humanos a otros factores de estrés, incluyendo aquellos asociados con otros metales. Sin embargo, los peces también pueden contener sustancias nocivas tales como As y Hg, como se ha demostrado en este estudio. En base a los resultados, los riesgos para la salud humana asociados con el consumo de pejerreyes provenientes de los lagos analizados de la ciudad de Córdoba no son despreciables, y las fuentes de contaminación antrópica con metales y As claramente deben ser controladas para no incrementar su concentración histórica.

2.4. CONCLUSIONES

En el presente estudio se evaluaron conjuntamente las concentraciones de Ag, Al, As, B, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Hg, Li, Mn, Mo, Ni, P, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, U, V y Zn en diferentes matrices bióticas (plancton, camarón y pejerrey) y abióticas (agua y sedimento) en los tres lagos más importantes de la Ciudad de Córdoba. Además, se determinaron $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en estas muestras, con el fin de caracterizar las cadenas tróficas y la transferencia trófica de los elementos inorgánicos. A su vez, se utilizó $\delta^{15}\text{N}$ como herramienta para identificar posibles fuentes de nitrógeno a las cuales se encuentran sometidas el Lago San Roque, el Lago Los Molinos y el Embalse de Rio Tercero.

La concentración evaluada de elementos inorgánicos en las muestras de agua y sedimentos no muestran potencial para ejercer un efecto tóxico sobre la biota acuática, considerando que sus niveles estaban por debajo de los límites establecidos por la legislación apropiada. Nos encontramos con una excepción en el ERT, donde el Pb en muestras de agua fue el único elemento que durante el muestreo realizado en EH superó el límite permitido propuesto para la protección de la biota acuática.

Por otra parte, nuestros resultados indican diferencias significativas en la concentración de algunos elementos entre los organismos, lagos y estaciones. Al evaluar bioacumulación, se observó que la mayoría de los elementos cuantificados se bioacumularon en los organismos de estudio, especialmente en el plancton. A su vez, se observó cómo la acumulación depende del elemento en particular, de la especie y de su capacidad de asimilar/ eliminar el elemento según sus requerimientos fisiológicos. Además, el Hg mostró biomagnificación a través de los diferentes componentes de la cadena trófica del LLM durante la ES, mientras que Al, Cd, Co, Cr, Fe, Li, Mn, Ni, Se y V, mostraron un patrón general de biodilución en los tres lagos.

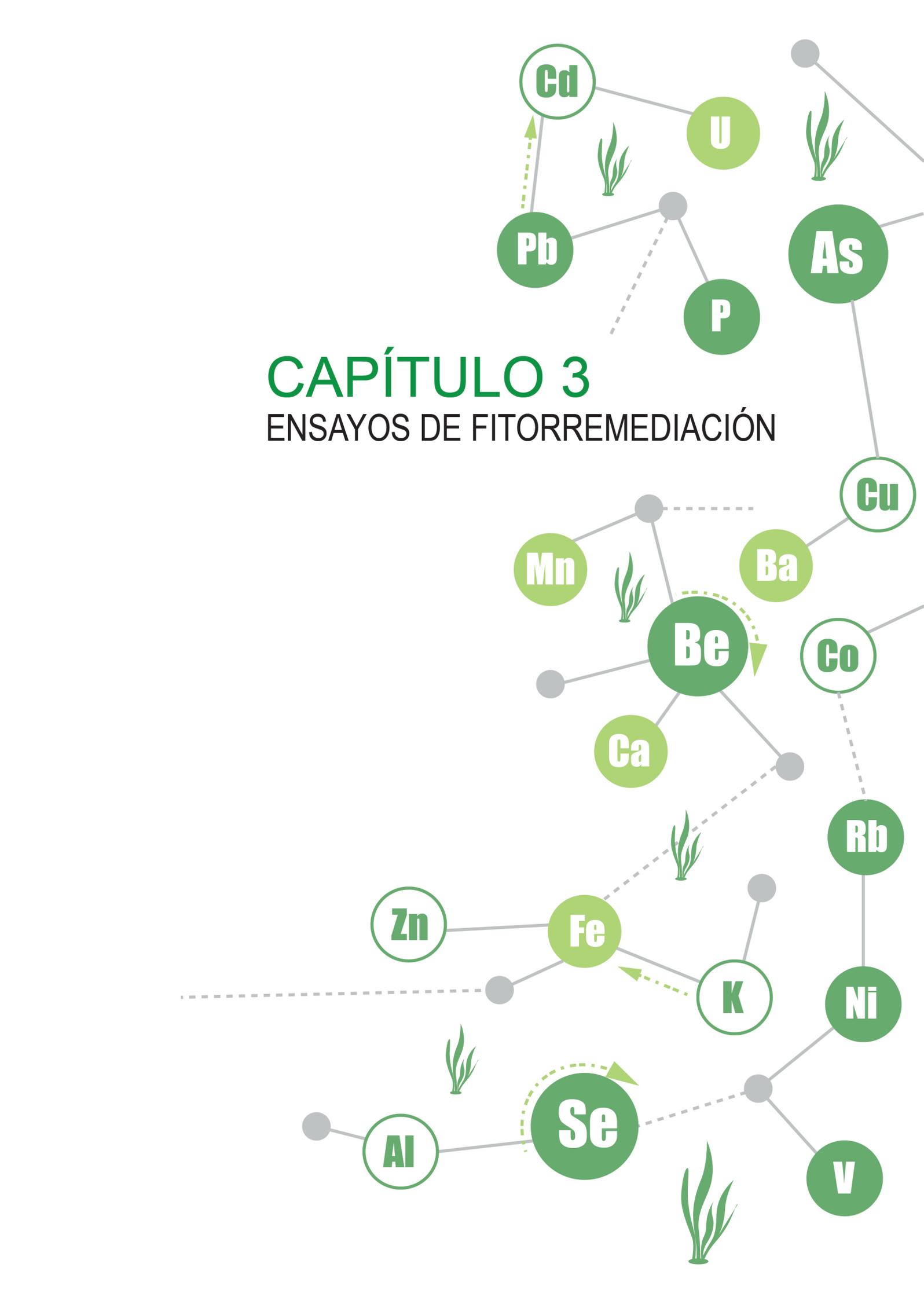
La evaluación de elementos que se biomagnifican a través de la cadena trófica o que están presentes en concentraciones elevadas en los organismos, sirve de guía para identificar posibles fuentes de contaminación de los lagos y con la consiguiente posibilidad de su control. Estudios como el actual son importantes para evaluar los efectos de los contaminantes en la estructura y dinámica de las especies acuáticas y avanzar en ellos es necesarios para monitorear la evolución de estos cuerpos de agua y entender los diferentes escenarios encontrados.

El uso de isótopos estables permitió diferenciar los tres lagos de Córdoba y caracterizar las relaciones tróficas entre los organismos estudiados de estos sistemas acuáticos. Los resultados indicaron diferencias notorias de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ entre las muestras de los lagos. En el Lago San Roque se encontraron los niveles más altos de $\delta^{15}\text{N}$ en todas las matrices analizadas, lo que indicaría que este lago tiene un fuerte aporte de desechos cloacales, posiblemente procedentes de las poblaciones próximas al lago. Este último punto abre la posibilidad de utilizar valores de $\delta^{15}\text{N}$ para determinar si un alimento es producido en un ambiente contaminado con residuos cloacales, lo que representaría un riesgo para la salud de la población que consuma dichos alimentos.

A su vez, esta tesis proporciona datos sobre riesgos para la salud que podrían derivarse del consumo de pejerreyes provenientes de los lagos en estudio. Teniendo en cuenta las evaluaciones de riesgo realizadas, se puede decir que la exposición a la mayoría de los elementos inorgánicos analizados a través del consumo de músculo de pejerrey, presentan un riesgo insignificante para la salud, excepto por As y Hg. Estos elementos, en los peces estudiados representan un riesgo potencial para la salud de las personas que consumen con frecuencia esta especie. A fines de profundizar estos resultados, se podría realizar un monitoreo de las tasas reales de consumo de esta especie en la comunidad local (niños y adultos, hombres y mujeres / mujeres embarazadas).

El pescado es una fuente importante de alimento, recomendado en el desarrollo de una dieta balanceada, sin embargo, los riesgos para la salud asociados con su consumo no deben ser ignorados. De acuerdo con nuestros resultados, el consumo de pejerrey del Lago San Roque, del Lago Los Molinos y del Embalse de Río Tercero, plantearía un riesgo carcinogénico, lo que indica que este tipo de alimento debe ser limitado para minimizar la exposición potencial a estos elementos, especialmente a As.

Los resultados obtenidos en este trabajo constituyen un aporte en el estudio del contenido de metales y metaloides en distintos compartimentos de los lagos más importantes de Córdoba. A su vez, a partir de ellos se pueden construir políticas preventivas y paliativas, para proteger tanto los organismos acuáticos como las poblaciones en contacto con estos reservorios.



CAPÍTULO 3

ENSAYOS DE FITORREMEDIACIÓN

3.1 INTRODUCCIÓN

Elementos químicos inorgánicos tales como metales y metaloides, están afectando cada vez más a los sistemas acuáticos y terrestres. Diversos problemas ambientales y económicos pueden ser generados por estos elementos, ya que la mayoría tienen efectos destructivos sobre la calidad del suelo y del agua, la nutrición vegetal y animal, así como la salud humana (Rezania *et al.*, 2016).

La fitorremediación constituye una alternativa posible para la remoción de estos elementos en ambientes acuáticos, mediante el uso de plantas acuáticas. Retomando los objetivos específicos de esta Tesis Doctoral, se planteó evaluar la capacidad de la macrófita autóctona *Potamogeton pusillus*, para acumular tóxicos inorgánicos a partir de soluciones acuosas, bajo condiciones de laboratorio. Fueron seleccionados As y Hg para realizar las exposiciones, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los capítulos anteriores. Observamos que estos elementos pueden alcanzar la leche de vaca, como así también acumularse en el músculo de peces (*Odontosis bonaerensis*) provenientes de los lagos analizados (LSR, LLM y ERT) y que además, las concentraciones encontradas superaban ampliamente los límites de ingesta diaria admitida por la USEPA. Por el riesgo que estos elementos representan para el hombre y el ambiente, es que se plantea realizar estudios para su remediación en aguas contaminadas.

3.1.1 Caracterización del metaloide As

Este elemento se encuentra naturalmente distribuido en rocas y sedimentos, y se lo considera uno de los elementos tóxicos más abundantes de la corteza terrestre (Rahman y Hasegawa, 2011). Puede ingresar a los ecosistemas de forma natural como resultado de la erosión del suelo o por actividades volcánicas (Fitz *et al.*, 2002). Además, actividades antropogénicas como la minería, actividades agrícolas que involucren el uso de plaguicidas, insecticidas y herbicidas con As y la calcinación de la madera tratada con conservantes, son otras fuentes de contaminación que aceleran la liberación de este elemento al ambiente (Bundschuh *et al.*, 2012; Ancelet *et al.*, 2012).

El As posee propiedades metálicas y no metálicas, se lo puede encontrar en varias formas químicas, integrando compuestos orgánicos e inorgánicos y en cuatro estados de oxidación. Su toxicidad y su comportamiento químico están fuertemente influenciados por su concentración, el estado de oxidación, estructura y solubilidad en el medio biológico. La arsina es la forma más tóxica (AsH_3), seguida por los arsenitos (AsO_2^+), los arseniatos (AsO_4^{3-}) y por último los compuestos orgánicos de arsénico, que son menos tóxicos (Castro de Esparza, 2006; Fitz *et al.*, 2002). Rara vez se encuentra en su forma nativa debido a su afinidad de unión con otros elementos (Rahman y Hasegawa, 2011).

La apariencia y forma en la que se encuentra el As en suelos y aguas depende del potencial redox, el pH y la actividad biológica presente, entre otros (Meharg *et al.*, 2002). En

aguas naturales se produce principalmente como As^{+5} y As^{+3} , dependiendo de las condiciones del medio (Smedley *et al.*, 2005). En aguas anóxicas (carentes de oxígeno) y con bajo potencial redox, la especie predominante es As^{+3} , mientras que en condiciones inversas la especie predominante es As^{+5} (Meharg *et al.*, 2002). Con un nivel de pH creciente, la solubilidad de As^{+5} aumentará, mientras que la solubilidad de As^{+3} disminuirá.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que es uno de los elementos químicos de mayor preocupación, debido a que aparece frecuentemente en altas concentraciones en suelos y aguas subterráneas del mundo, posee efectos tóxicos para la salud y es un elemento no esencial clasificado como carcinógeno (Rahman y Hasegawa, 2011). Una de las vías de ingestión de As más común para los humanos es mediante el consumo de agua, pero también contribuye significativamente la ingestión de cultivos que hayan sido regados con aguas contaminadas, por el ganado (y sus derivados) alimentado con vegetación contaminada o por el consumo de peces y mariscos contaminados (Fitz *et al.*, 2002).

Los primeros síntomas a la exposición prolongada de altos niveles de As se observan generalmente en la piel e incluyen cambios de pigmentación, lesiones cutáneas, durezas y callosidades en las palmas de las manos y las plantas de los pies (hiperqueratosis). La ingestión continua puede conducir a enfermedades como la fibrosis hepática, neuropatía periférica y cáncer de piel, vejiga y pulmón (Sinha *et al.*, 2007).

La Unión Europea (UE) y la OMS, fijaron un límite recomendado de As en agua potable de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Organización Mundial de la Salud, 2011). Este valor de referencia se considera provisional dadas las dificultades prácticas relacionadas con la eliminación de este elemento del agua de bebida, por lo cual muchos países tienen sus propios valores guía teniendo en cuenta las circunstancias locales, los recursos disponibles y los riesgos asociados. Argentina, México, Chile, India y China establecieron el límite permisible de As en agua potable de $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Bundschuh *et al.*, 2012).

Millones de personas en Asia, América y Europa, están expuestas a concentraciones elevadas de As en agua potable (Concha *et al.*, 2006). En Argentina, alrededor de 4 millones de personas dependen de agua potable que excede el límite de la OMS y al menos 1,2 millones de personas dependen de agua que excede el límite nacional. Las provincias más afectadas son Salta, La Pampa, Córdoba, San Luis, Santa Fe, Buenos Aires, Santiago del Estero, Chaco y Tucumán (Castro de Esparza, 2006). En cuanto a la provincia de Córdoba, en distintas regiones es posible encontrar altas concentraciones de As que superan el nivel límite para agua de consumo (Cabrera *et al.*, 2005; Francisca *et al.*, 2006). En aguas subterráneas de Córdoba se lo encuentra predominantemente como arsenito y arseniato, generalmente combinado con otros elementos que dan importantes niveles de toxicidad (Francisca *et al.*, 2006).

3.1.2 Caracterización del metal Hg

El Hg es considerado como una de las "sustancias peligrosas prioritarias" por la Agencia para las Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, debido a su toxicidad, capacidad de bioacumularse en los ecosistemas, movilidad y largo tiempo de residencia en la atmósfera. Es un elemento que se encuentra naturalmente en la corteza terrestre, en la atmósfera y en los ambientes acuáticos (Wang *et al.*, 2012). Las emisiones antrópicas de Hg pueden ocurrir principalmente con la combustión de combustibles fósiles, la producción electrolítica de cloro-álcali, la industrialización de plaguicidas, las amalgamas dentales y la extracción de oro (Micaroni *et al.*, 2000).

En la atmósfera existe principalmente en forma de mercurio elemental (Hg^0), en estado gaseoso. Además, se lo puede encontrar formando parte de compuestos inorgánicos (Hg^+ y Hg^{+2}) o compuestos orgánicos (metilmercurio, etilmercurio, etc.). En términos generales, el Hg en forma orgánica es más tóxico que en la forma inorgánica y a su vez, el metilmercurio (CH_3Hg^+) es considerado como el compuesto más tóxico entre todas las especies de este elemento (Ullrich *et al.*, 2001).

Puede ingresar a los recursos acuáticos directamente desde la atmósfera por deposición seca, lluvia o por arrastre y lavado del suelo, donde es depositado y almacenado. Comúnmente ingresa al medio acuático en forma de su estado bivalente, el cual puede sufrir una serie de transformaciones, como por ejemplo reducirse, asociarse al material particulado y sedimentar, o puede, por acción de bacterias que contienen la enzima metano-sintetasa transformarse en metilmercurio (Wang *et al.*, 2012).

Las especies de Hg son liposolubles y tienden a acumularse en el tejido de los peces, donde experimentan bioacumulación a través de la cadena trófica acuática y desde allí pueden tomar contacto con el hombre. Es un elemento no esencial para la vida humana y es extremadamente dañino para el ambiente (Liu *et al.*, 2017). La exposición del hombre a altos niveles de Hg puede tener efectos nocivos y permanentes en el sistema nervioso central. Se ha informado que causa varias enfermedades neurodegenerativas como la esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson (Mutter *et al.*, 2004). Además, la exposición a este metal durante el embarazo y/o lactancia, es extremadamente peligrosa para el feto y/o los lactantes (Solan y Lindow, 2014).

La USEPA ha fijado un valor máximo de Hg en agua potable de $2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y la OMS ha fijado como máximo $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, el cual se aplica en la Argentina (Aragay *et al.*, 2011). Es importante tener en cuenta que se ha encontrado Hg en componentes bióticos y abióticos en una gran variedad de sistemas acuáticos, con diferentes propiedades hidrográficas, biológicas y geológicas, así como diferentes tipos de fuentes de contaminación a los que están expuestos (De Marco *et al.*, 2006).

3.1.3 Estrategias de fitorremediación: Fitofiltración

Si los cuerpos de agua están contaminados, por ejemplo con As y Hg, tienen que ser recuperados para poder ser utilizados, de lo contrario representan una amenaza para la salud humana y para el ambiente en general.

Las técnicas de fitorremediación, que utilizan la capacidad natural de las plantas para reducir, eliminar y degradar los contaminantes, se describen en los últimos años como alternativas sostenibles para la descontaminación a largo plazo. El bajo costo de mantenimiento, el menor impacto ambiental y la creciente aceptación pública, son algunos de los criterios que hacen que las técnicas de ingeniería ecológica sean atractivas para los tomadores de decisiones (Pilon-Smits, 2005).

Entre las técnicas de fitorremediación, la fitofiltración en ambientes acuáticos muestra un gran potencial. Esta se define como el uso de plantas acuáticas flotantes, sumergidas o emergentes, para la eliminación de contaminantes en solución, principalmente a través de su sistema radicular, aunque en algunos casos las hojas y tallos también participan directamente en el proceso de eliminación (Olguín y Sánchez-Galván, 2012). Los sistemas de transportadores y canales dentro de la planta le permiten acumular sustancias esenciales (por ejemplo, nutrientes) y no esenciales (por ejemplo, As) de su entorno. Este sistema es específico para cada especie de planta y difiere para cada sustancia (Monferrán *et al.*, 2012).

La eficacia de la fitofiltración depende en gran medida de las características fisicoquímicas de las plantas y de sus propiedades biológicas, tales como los mecanismos de transporte de metales y la tolerancia a elementos tóxicos que intervienen en el proceso de bioacumulación. Una planta ideal debe tener un alto potencial de tolerancia a la acumulación, gran tasa de producción de biomasa y factibilidad de ser cosechada (Rezania *et al.*, 2016). Después del tratamiento, estas plantas acuáticas pueden utilizarse para la producción de biogás, producción de compost, para la modificación de residuos sólidos y como fibras (Mishra *et al.*, 2008).

Los estudios con macrófitas están aumentando considerablemente entre la comunidad científica, como consecuencia de la creciente importancia que la gestión de los recursos hídricos tiene para la sociedad. Varias plantas acuáticas se han utilizado para la eliminación de As de aguas residuales en distintas partes del mundo, como por ejemplo *Micranthemum umbrosum*, *Spirodela polyrhiza* L., *Eichhornia crassipes*, *Lemna minor* y *Spirodela polyrhiza* (Islam *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2011; Alvarado *et al.*, 2008; Mishra *et al.*, 2008). Por otra parte, para la remoción de Hg se han utilizado *Azolla caroliniana*, *E. crassipes*, *Pistia stratiotes*, *Scirpus Tabernaemontani*, *Typha domingensis*, entre otras (Moreno *et al.*, 2008; Bennicelli *et al.*, 2004; Skinner *et al.*, 2007; Teles Gómez *et al.*, 2014).

3.1.4 Organismo de estudio: *Potamogeton pusillus*

Potamogeton pusillus (Fig. 3.1) es una macrófita nativa, con importancia ecológica dentro de ecosistemas acuáticos subtropicales, la cual proporciona refugio y hábitat para peces pequeños y otros animales acuáticos con los que cohabita (Novara, 2003). Forma parte de cadenas tróficas acuáticas como productor primario. Además, es una de las especies de mayor distribución en Argentina encontrándose en el noroeste, nordeste y Litoral, Cuyo y Centro Argentino hasta Buenos Aires (Novara, 2003). Este organismo es sedentario, sus hojas se encuentran sumergidas en el medio acuático, tiene tamaño y masa considerable, es fácil de recolectar, transportar e identificar a campo. La planta posee una tasa de crecimiento elevada y resiste una gran variedad de condiciones. Esta especie también es capaz de concentrar contaminantes en sus tejidos y reflejar en respuestas fisiológicas el estrés provocado por los mismos (Alscher *et al.*, 2002; Monferrán *et al.*, 2009).



Figura 3.1: *Potamogeton pusillus*.

Estudios previos realizados en el grupo de investigación indican que este organismo es capaz de acumular Cu y Cr, y que la captación se produce no sólo a través de las raíces, sino también por tallos y hojas (Monferrán *et al.*, 2012). De acuerdo a nuestros conocimientos no se dispone información sobre la capacidad de esta macrófita nativa para bioacumular As o Hg.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1 Recolección y aclimatación de los organismos

Las macrófitas se colectaron en un sitio de baja contaminación del Río Suquía en La Calera - Córdoba, Argentina (Monferrán *et al.*, 2012) y fueron transportadas al laboratorio en recipientes plásticos de 20 L, que contenían agua del mismo río. En el laboratorio, se lavaron exhaustivamente con agua destilada, para eliminar residuos y pequeña biota asociada con el sedimento. Luego, fueron colocadas en peceras de 40 L con solución de Hoagland al 10 % (Tabla 1 del ANEXO III) y sedimento (1/4 del volumen) proveniente del sitio de extracción de la planta. De esta forma, se aclimataron durante 2 semanas, a temperatura constante (20-22 °C) y con un ciclo de luz-oscuridad de 14:10 h, suministrado por lámparas de luz diurna, con una irradiación de 100 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ (Monferrán *et al.*, 2012).

En la Fig. 3.2 se resume mediante un esquema los bioensayos realizados y el procesado de muestras.

3.2.2 Bioensayos para evaluar acumulación

Para evaluar la capacidad de *P. pusillus* para remover As^{+3} , As^{+5} y Hg de soluciones acuosas, se realizaron ensayos de acumulación, en los cuales la planta fue expuesta a cada elemento inorgánico. Para ello, los organismos se colocaron en frascos de 1,5 L de capacidad (cuatro plantas por recipiente) y se mantuvieron en solución con medio de Hoagland al 10 %. Para las exposiciones se formuló un diseño experimental que comprendió cinco tratamientos:

- Control: plantas dispuestas en medio Hoagland sin adición de X.
- Control X: solución 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de X, sin plantas en medio de Hoagland.
- Organismos expuestos a 0,1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de X.
- Organismos expuestos a 0,5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de X.
- Organismos expuestos a 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de X.
- Organismos expuestos a 2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de X.

Siendo X, As^{+3} , As^{+5} y Hg.

Estas concentraciones se obtuvieron agregando a las peceras las correspondientes alícuotas de las respectivas soluciones madres, preparadas con agua ultrapura. Se utilizó NaAsO_2 (Sigma-Aldrich), $\text{Na}_2\text{HAsO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Biopack) y HgCl_2 (Merck) para la preparación de las soluciones.

RECOLECCION Y ACLIMATACION



Río Suquia en La Calera
Córdoba, Argentina.



Solución de Hoagland al 10%
+ Sedimentos

T: 20-22 °C

Ciclo luz Oscuridad: 14:10 h

Tiempo: 2 Semanas

EXPOSICION

X= As⁺³ As⁺⁵ Hg

0,0 mg.L⁻¹ de X

0,1 mg.L⁻¹ de X

0,5 mg.L⁻¹ de X

1 mg.L⁻¹ de X

2 mg.L⁻¹ de X

Control X (1 mg.L⁻¹)



BIOENSAYOS

ACUMULACION



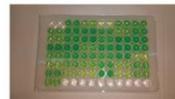
7, 14 y 20 días

DISTRIBUCION



15 días

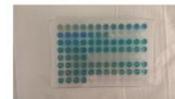
CLOROFILA



Extracto etanólico

649 y 665 nm

PROTEINAS



Extracción con buffer
fosfato de potasio 0.1 M,
pH 7.5

595 nm



Agilent 7500cx ICP-MS



Figura 3.2: Descripción de los bioensayos realizados con *P. pusillus* expuesta a As⁺³, As⁺⁵ y Hg.

Las técnicas de fitorremediación se aplican comúnmente en áreas con extensas tasas de contaminación, por lo tanto, para la elección de las concentraciones ensayadas se tuvo en cuenta niveles ambientales de estos elementos, planteando escenarios con distinto grado de contaminación. A su vez, las concentraciones de exposición se seleccionaron considerando los valores que usualmente se utilizan en estudios de fitorremediación, según lo indicado en la literatura (Qian *et al.*, 1999; Bennicelli *et al.*, 2004; Skinner *et al.*, 2007; Alvarado *et al.*, 2008).

Se ensayaron diferentes tiempos de exposición para cada tratamiento, extrayendo material biológico a los días 7, 14 y 20. Las concentraciones de Hg y As en solución se determinaron al iniciar los experimentos (tiempo 0) y periódicamente (cada dos o tres días), evaluando los cambios en la concentración en el tiempo. Todas las exposiciones se realizaron por cuadruplicado. Finalizado el tiempo de exposición, las plantas se lavaron minuciosamente con agua corriente, seguido de un lavado con agua destilada, para luego ser utilizadas para medir la bioacumulación (considerando toda la planta).

3.2.3 Bioensayos para evaluar distribución

Se realizó una segunda serie de ensayos para evaluar la distribución de los elementos inorgánicos en estudio dentro de la planta (raíz, tallo y hoja). Por lo tanto, *P. pusillus* fue expuesta nuevamente a las concentraciones mencionadas anteriormente (0,1, 0,5, 1 y 2 mg.L⁻¹), pero solamente por un período de 15 días. En este experimento se evaluó la bioacumulación en las diferentes partes de la planta en lugar de considerar la planta entera.

3.2.4 Bioensayos para evaluar toxicidad

Finalmente, se realizó una tercera configuración experimental para evaluar la toxicidad de As⁺³, As⁺⁵ y Hg sobre *P. pusillus*. Así, las macrófitas fueron expuestas nuevamente a 0,1, 0,5, 1 y 2 mg.L⁻¹ de X. Se ensayaron diferentes tiempos de exposición, dejando las plantas sumergidas en solución durante 5, 10 y 15 días. Se analizaron posibles cambios inducidos por la exposición a estos elementos, incluyendo la medida del contenido de clorofila-a (Cl-a) y de proteínas, que han demostrado ser un método confiable para evaluar el estrés fisiológico en plantas acuáticas (Monferrán *et al.*, 2009; 2012).

3.2.5 Procesamiento de aguas de exposición

Las muestras de agua obtenidas a los distintos tiempos y concentraciones de exposición, fueron acidificadas con 100 µL de HNO₃ (sub-boiling, Merck) y se filtraron utilizando filtros de nitrocelulosa de 0,45 µm (Sartorius, Alemania). Se conservaron a 4 °C en heladera hasta su análisis.

3.2.6 Procesamiento del material biológico

Para determinar la concentración de los elementos inorgánicos acumulados en las plantas y en sus distintas partes (raíz, tallo y hoja), el material biológico se secó en estufa a 35 °C hasta peso constante y fue homogeneizado en un mortero de cerámica.

Para los organismos expuestos a Hg, aproximadamente 0,05 g de muestra se digirieron con 6 mL de HNO₃ (sub-boiling, Merck) y 2 mL de HCl (sub-boiling, Merck), en tubos de teflón cerrados sobre planchas calefactoras fijadas a 180 °C, durante 24 h. El mismo procedimiento se realizó para las plantas expuestas a As, sólo que utilizando como mezcla de digestores, 6 mL de HNO₃ (sub-boiling, Merck) y 0,5 mL de H₂O₂ (Merck).

Las muestras digeridas se filtraron usando filtros de nitrocelulosa con poros de 0,45 µm y se guardaron en heladera hasta su análisis.

3.2.7 Determinación de As y Hg en muestras de agua y plantas

Si bien se realizaron exposiciones utilizando diferentes especies de As, la cuantificación fue de As total.

El análisis de Hg y As se realizó como describe la **sección 1.2.3 del capítulo 1**.

Para verificar la eficiencia del método de digestión, se utilizó un material de referencia certificado de hojas de durazno (NIST 1547) por la similitud de matriz y fue procesado de la misma forma que las muestras de planta. Se encontró que el método empleado permite recuperar 93 ± 15 % de Hg. Para el As no se pudo determinar el porcentaje de recuperación ya que el material de referencia no posee este elemento. Conjuntamente se prepararon muestras enriquecidas, para las cuales se añadieron cantidades conocidas de soluciones patrones que contenían los elementos analizados, a 0,02-0,03 g de muestra de planta antes de la digestión de la muestra. El resto del procedimiento fue el mismo que se usó para las muestras sin enriquecer. La recuperación media fue de 95 ± 6 % y 103 ± 10 % para As y Hg, respectivamente.

3.2.8 Análisis de clorofila-a

La Cl-a se determinó según Carreras y Pignata (2001), con modificaciones menores. En resumen, para la cuantificación de este pigmento se utilizó aproximadamente 0,3 g de planta, previamente lavada con agua destilada, a la cual se sometió a congelamiento y triturado con nitrógeno líquido, en un mortero de cerámica. Luego, se suspendió en 10 mL de EtOH (99 % v/v, Biopack), como solvente extractor. Con el fin de eliminar los restos de material vegetal, el homogeneizado se centrifugó a 2500 rpm durante 10 minutos y fue filtrado para separar el sobrenadante. La concentración de clorofila se midió en esta fracción, por espectrofotometría UV-Vis a 649 y 665 nm (Biotek, Synergy HT) y se expresó en mg.g⁻¹ ps.

3.2.9 Análisis de proteínas

El contenido de proteínas se determinó a partir de la disgregación de aproximadamente 0,5 g de planta con nitrógeno líquido en un mortero de cerámica. Luego, se le adicionaron 5 mL de

buffer fosfato de potasio 0,1 M, pH 7,5, para la extracción. Esta solución se centrifugó a 26000 g durante 20 min y el sobrenadante restante se utilizó para el análisis de proteínas por el método de Bradford (1976), que se midió por espectrofotometría a 595 nm. La curva de calibración se realizó utilizando albúmina de suero bovino, como se describe en la Tabla 2 del ANEXO III. Los resultados se expresaron en $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ps.

3.2.10 Estadística

Todos los datos se presentan como media \pm desviación estándar. La distribución normal de los datos fue analizada por la prueba Shapiro-Willks. Se realizó un ANOVA para identificar diferencias en los resultados; diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo de exposición y letras minúsculas, diferencias entre tiempos de exposición para un mismo tratamiento. La significancia fue aceptada a $p < 0,05$, para evaluar diferencias significativas entre tratamientos. Se empleó el software InfoStat / P (2008) en todos los casos.

3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1 Remoción de As y Hg de soluciones acuosas

La Fig. 3.3 muestra los cambios en la concentración de los elementos inorgánicos ensayados en agua a diferentes tiempos (valores promedio y desviación estándar se encuentran indicados en las Tablas 3, 4 y 5 del ANEXO III). Los tratamientos que contienen *P. pusillus* y As en solución (Fig. 3.3A y B) no evidencian cambios significativos en la concentración de As en agua con el paso del tiempo, en ninguna de las especies del metaloide evaluadas. Por otra parte, la concentración de As en los controles (tratamiento sin planta) fue casi constante durante el tiempo que duró el experimento. El objetivo de estos ensayos fue evaluar una posible pérdida por volatilización de los compuestos en estudio. Con lo cual, podemos decir que este metaloide es estable en el medio utilizado para los tratamientos.

Por otra parte, en los experimentos que contienen *P. pusillus* y Hg en solución, se observa una caída en la concentración del metal desde el comienzo del experimento hasta el día 20, para todas las concentraciones evaluadas. En la Fig. 3.1C se puede apreciar que a partir del día 3-5 la concentración de Hg en solución disminuyó significativamente a valores cercanos a cero en todas las exposiciones donde estaba presente la planta. El control del metal (sin plantas) muestra que existe una ligera pérdida de Hg por volatilización (~ 15 %), aunque la tasa de desaparición de este elemento en presencia de la macrófita excede la velocidad de volatilización en las condiciones ensayadas. Por lo cual, podemos decir que la disminución de la concentración de Hg en solución se debe a la presencia de *P. pusillus*.

En la Tabla 3.1 se encuentran expresados los porcentajes de remoción de los elementos ensayados. Estos fueron calculados para cada elemento y concentración de exposición, teniendo en cuenta la concentración del elemento el día cero y la disminución que sufrió la misma hasta la finalización del ensayo según la siguiente fórmula (Romero–Aguilar *et al.*, 2009):

$$\% \text{ Remoción} = \frac{(C_I - C_F) \times 100}{C_I}$$

Donde, C_I es la concentración inicial del elemento en agua y C_F es la concentración final del elemento en agua, luego de los 20 días de exposición.

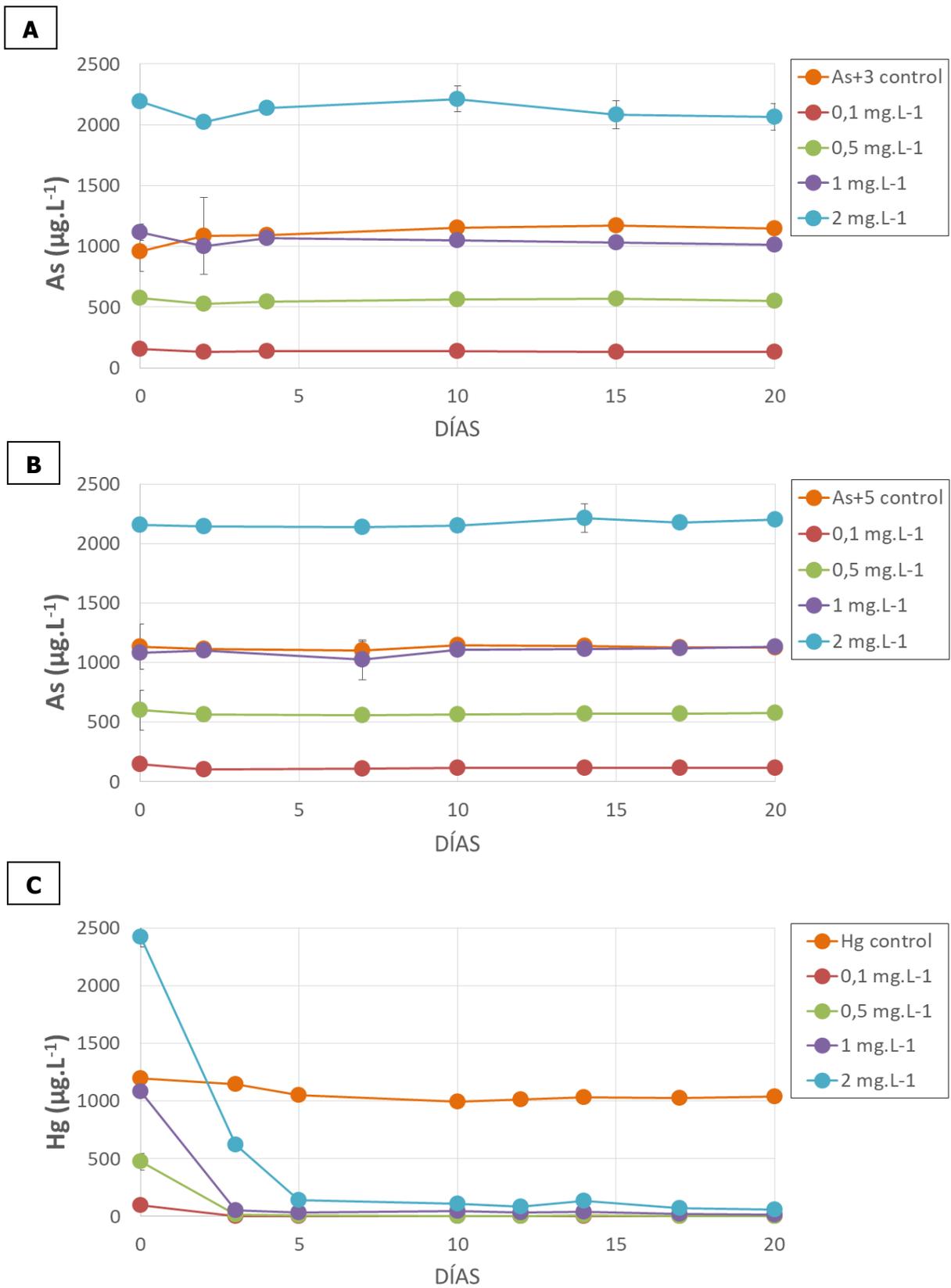


Figura 3.3: Eliminación dependiente del tiempo de A) As^{+3} , B) As^{+5} y C) Hg, a partir de soluciones acuosas por *P. pusillus*.

Tabla 3.1: Remoción (%) de As⁺³, As⁺⁵ y Hg en soluciones acuosas por *P. pusillus*, después de 20 días de exposición.

Elemento	Concentración inicial (mg.L ⁻¹)	Remoción (%)
As ⁺³	0,1	14 ± 1
	0,5	1,6 ± 0,3
	1	7,4 ± 0,6
	2	5,0 ± 0,5
As ⁺⁵	0,1	21 ± 3
	0,5	3,9 ± 0,6
	1	0,0 ± 0,4
	2	1,2 ± 0,2
Hg	0,1	99,8 ± 0,6
	0,5	98,8 ± 0,2
	1	98,6 ± 0,8
	2	97,7 ± 0,6

Podemos observar que el porcentaje de remoción para exposiciones con As⁺³ o As⁺⁵ fue más alto (14 % y 21 %, respectivamente) a la concentración ensayada más baja (0,1 mg.L⁻¹), pero a concentraciones de exposición superiores, el porcentaje disminuye a valores inferiores al 10 % para ambas especies de As.

En cambio, la eliminación de Hg por *P. pusillus* fue mayor que la registrada para las especies de As, en todas las concentraciones. El porcentaje de remoción de Hg fue casi constante en el intervalo de las concentraciones evaluadas (97,7 % - 99,8 %), observándose una disminución mínima en la eficiencia de remoción a medida que aumentaba la concentración de exposición (2,1 %).

3.3.2 Acumulación de As y Hg en *P. pusillus*

Las Fig. 3.4A y B muestran que la acumulación de As por *P. pusillus* cuando fue expuesta a As⁺³ y As⁺⁵, aumentó significativamente a medida que aumentó la concentración de exposición (diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo de exposición). La acumulación más alta se obtiene luego de exponer a la planta a 2 mg.L⁻¹ de As, en todos los tiempos de ensayo. Los valores promedio y sus desviaciones estándar se encuentran en la Tabla 6 del ANEXO III.

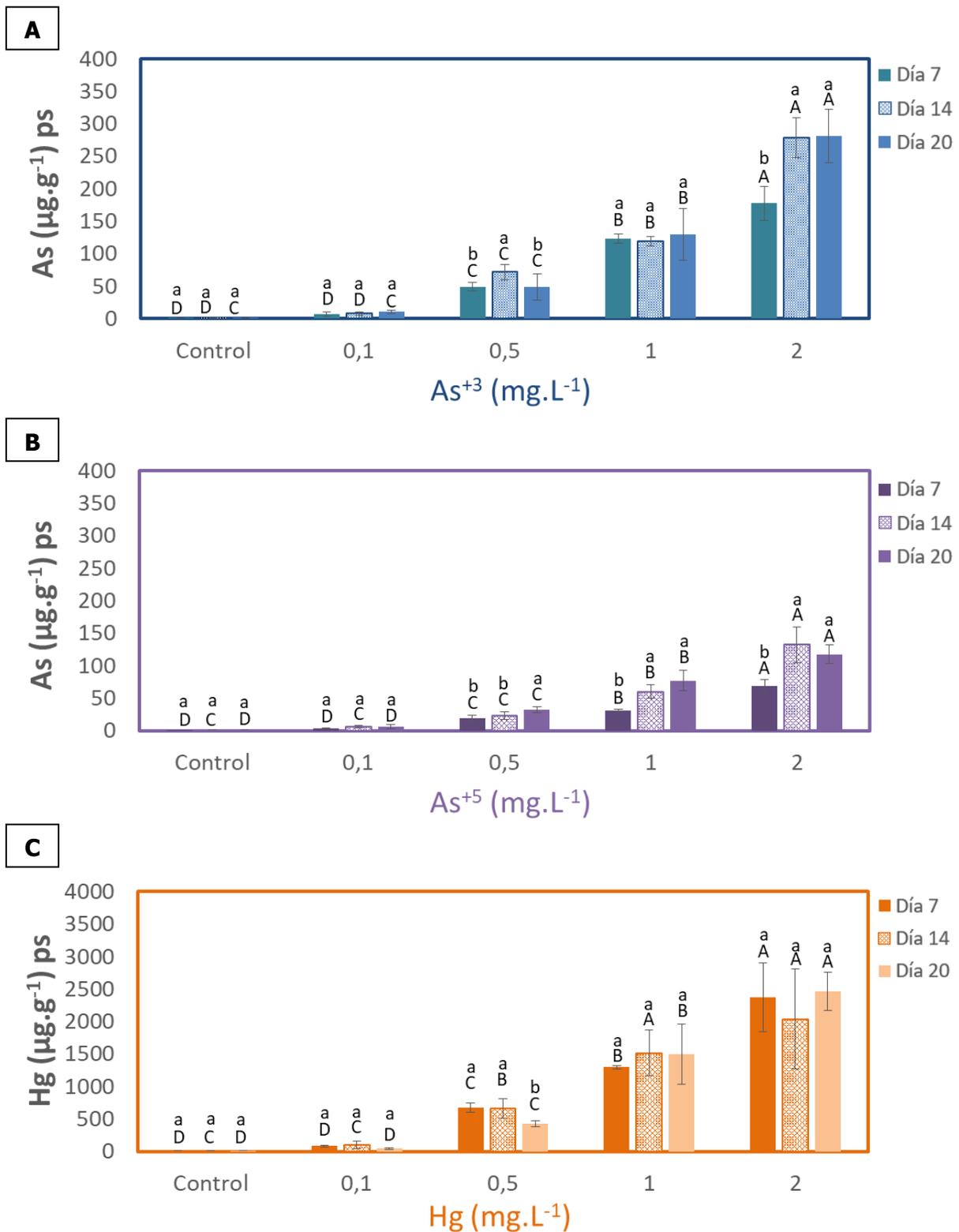


Figura 3.4: Acumulación de As y Hg por *P. pusillus* dependiente del tiempo y de la concentración, a partir de soluciones acuosas de A) As³⁺, B) As⁵⁺ y C) Hg. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo de exposición y letras minúsculas, diferencias entre tiempos de exposición para un mismo tratamiento.

En cuanto a los distintos tiempos evaluados, observamos que la concentración acumulada de As por *P. pusillus* no aumentó con el tiempo de exposición cuando fue expuesta a 0,1 mg.L⁻¹ de As⁺³ o As⁺⁵ (diferentes letras minúsculas indican diferencias estadísticamente significativas entre tiempos de exposición para un mismo tratamiento). Es decir que, la concentración de As acumulada durante 7 días de exposición a 0,1 mg.L⁻¹, no tuvo diferencias estadísticamente significativas que cuando estuvo expuesta durante 14 o 20 días a la misma concentración. Lo mismo ocurre cuando la planta es expuesta a 1 mg.L⁻¹ de As⁺³. Sin embargo, cuando analizamos la evolución en el tiempo de las concentraciones restantes, observamos que hay un aumento en la acumulación de As en el día 14 con respecto a lo acumulado en el día 7, cuando la planta es expuesta a 0,5 y 2 mg.L⁻¹ de As⁺³. Asimismo, la acumulación de As aumentó en el día 14 cuando la planta fue expuesta a 1 mg.L⁻¹ y 2 mg.L⁻¹ de As⁺⁵ y en el día 20 cuando fue expuesta a 0,5 mg.L⁻¹ de As⁺³.

Por otra parte, *P. pusillus* fue capaz de acumular mayores concentraciones de As cuando se la expuso a soluciones de As⁺³ que de As⁺⁵. Por ejemplo, la macrófita fue capaz de acumular 281 µg.g⁻¹ de As cuando se la expuso a 2 mg.L⁻¹ de As⁺³, pero acumuló 117 µg.g⁻¹ de As cuando se la enfrentó a la misma concentración de As⁺⁵. Se observaron similares comportamientos a los distintos tiempos, cuando la planta fue expuesta a concentraciones de 0,1, 0,5 o 1 mg.L⁻¹ de As⁺³ y de As⁺⁵. Además, el As⁺³ se absorbería más rápido que el As⁺⁵ en determinadas condiciones, como es el caso de las exposiciones a 0,5 mg.L⁻¹ durante 14 días. Estos resultados son de gran interés, debido a que la especie As⁺³ es más tóxica que As⁺⁵ para los seres vivos (Liu *et al.*, 2015).

Varios autores han reportado que algunas especies de macrófitas acumulan grandes cantidades de As a partir del agua (Robinson *et al.*, 2005; Alvarado *et al.*, 2008; Mishra *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2011), pero no encontramos ningún trabajo que compare la capacidad de acumulación de As⁺³ y As⁺⁵ por la misma especie de planta, como en nuestro estudio.

Alvarado *et al.* (2008) evaluaron la capacidad de acumulación de As por *E. crassipes* y *L. minor*, luego de ser expuestas durante 21 días a una concentración de 0,15 mg.L⁻¹ y obtuvieron un porcentaje de remoción similar al logrado por *P. pusillus*, 18 % y 5 % respectivamente. Otros autores han reportado valores mucho más altos. De hecho, Mishra *et al.* (2008) estudiaron y compararon la eficacia de remoción de As en *E. crassipes*, *L. minor* y *S. polyrrhiza*, encontrándose valores de 80 %, 60 % y 40 %, respectivamente, utilizando una solución de 0,05 mg. L⁻¹ de As. También se ha encontrado una alta eficacia de eliminación (90-100 %) para *Micranthemum umbrosum* cuando se la expuso a 0,2 y 0,5 mg.L⁻¹ de As⁺³ durante 7 días (Islam *et al.*, 2015).

La acumulación de Hg por *P. pusillus* después de 7, 14 y 20 días de tratamiento a diferentes concentraciones se muestra en la Fig. 3.4C. Se observa que aumentó la acumulación del metal a medida que aumentó la concentración del mismo en solución, pero no se observa un aumento a medida que transcurre el tiempo de exposición. Es decir, la concentración de Hg

acumulada por la planta a los 7 días de exposición fue similar o no tuvo diferencias estadísticamente significativas que cuando se la expuso durante 14 o 20 días a la misma concentración. Con lo cual podemos decir que la planta presenta una máxima acumulación al día 7, entre los tiempos ensayados.

Diversos estudios demuestran que este metal puede ser acumulado por plantas acuáticas. Samecka-Cymerman y Kempers (1996) utilizaron *Scapania undulata* para eliminar Hg de aguas residuales (0,005 mg.L⁻¹) de fábricas de plaguicidas luego de 14 días de exposición. Las concentraciones de Hg inicial y final en muestras de tejido vegetal fueron de 0,05 µg.g⁻¹ y 2,40 µg.g⁻¹, respectivamente. Skinner *et al.* (2007) evaluaron la eficacia de cuatro plantas acuáticas, incluyendo *E. crassipes*, *Pistia stratiotes*, *Scirpus tabernaemontani* y *Colocasia esculenta*, para eliminar Hg del agua. Estas se expusieron a 2 mg.L⁻¹ de Hg durante 30 días y se observó que acumulaban 26; 83; 3,9 y 7 µg.g⁻¹ de Hg, respectivamente. Regier *et al.* (2013) demostraron la acumulación de Hg en brotes de *Potamogeton pectinatus* y *Potamogeton nodosus*, colectadas en diferentes sitios del embalse de Babeni (Rumanía), obteniendo valores de 2,24 y 0,19 µg.g⁻¹ de Hg en las plantas mencionadas, respectivamente.

El presente trabajo plantea el uso de una macrófita acuática que demuestra mayor eficacia en la eliminación de Hg que los trabajos previamente reportados. Los resultados actuales indican que *P. pusillus* fue capaz de acumular mayores concentraciones de Hg que las especies de plantas utilizadas por Samecka-Cymerman y Kempers (1996), Regier *et al.* (2013), Qian *et al.* (1999), Moreno *et al.* (2008), Skinner *et al.* (2007), Benicelli *et al.* (2004) y Teles Gómes *et al.* (2014).

Finalmente, al comparar la acumulación de los distintos elementos ensayados es notable que ante la exposición de Hg, en todas las concentraciones evaluadas, la planta es capaz de acumular mayor cantidad de este elemento que de especies de As. A modo de ejemplo, cuando la macrófita fue expuesta durante 20 días a concentraciones singulares de 1 mg.L⁻¹ de As⁺³, As⁺⁵ y Hg, acumuló 130, 77 y 1498 µg.g⁻¹, respectivamente.

3.3.3 Factor de bioconcentración

La capacidad de extracción de una planta en estudios de remediación, se puede cuantificar mediante el cálculo del factor de bioconcentración (FBC), el cual indica la eficiencia de una especie de planta en la acumulación de un metal en sus tejidos desde el entorno (Ladislav *et al.*, 2012). Se determina mediante la siguiente fórmula (Zhuang *et al.*, 2007):

$$\text{FBC} = \text{C}_{ss} / \text{C}_w$$

Donde, C_{ss} es la concentración del elemento en la planta recolectada (µg.g⁻¹ ps), y C_w es la concentración del elemento en el agua de exposición (mg.L⁻¹).

Tabla 3.2: Factor de bioconcentración (FBC) para As⁺³, As⁺⁵ y Hg en la macrófita *P. pusillus*.

Elemento	Concentración inicial (mg.L ⁻¹)	Concentración del elemento en la planta (µg.g ⁻¹ ps)	FBC
As ⁺³	0,1	11 ± 2	106
	0,5	49 ± 20	99
	1	130 ± 40	130
	2	281 ± 41	140
As ⁺⁵	0,1	6 ± 3	62
	0,5	32 ± 5	64
	1	77 ± 15	77
	2	117 ± 14	58
Hg	0,1	46 ± 13	460
	0,5	523 ± 46	1046
	1	1498 ± 466	1498
	2	2465 ± 293	1232

El FBC es una medida muy importante cuando se considera el potencial de una especie dada para utilizar en fitorremediación (Sakakibara *et al.*, 2011). Según Yoon *et al.* (2006), sólo las especies de plantas con FBC mayor a 1 tienen el potencial para ser utilizadas en este tipo de estrategias de remediación.

A partir de los valores obtenidos de FBC (Tabla 3.2) podemos decir que *P. pusillus* es una macrófita con potencial para ser utilizada en la limpieza de ambientes acuáticos contaminados con Hg o As (FBC >1). Los valores de FBC para As⁺³ (99-140) fueron superiores a los correspondientes de As⁺⁵ (58-77). Para el Hg, el FBC de todas las concentraciones evaluadas fue mucho mayor (460-1498) que el de la exposición a especies de As. Estos resultados están de acuerdo con el patrón de acumulación obtenido en este estudio para los elementos evaluados (Sección 3.3.2).

3.3.4 Distribución de As y Hg en tejidos vegetales

La Tabla 3.3 muestra los resultados de acumulación de los elementos ensayados en raíz, tallo y hoja de *P. pusillus*. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre la concentración acumulada por la raíz, el tallo y la hoja expuestos a una misma concentración de un elemento determinado. A partir de ellos podemos decir que tanto As como Hg se distribuyen a lo largo de la planta. Los resultados actuales corroboran hallazgos anteriores, que mostraban que Cu y Cr son acumulados por hojas, tallos y raíces de la macrófita en estudio (Monferrán *et al.*, 2012). Las cantidades relativas de As y Hg aumentaron en todos los tejidos estudiados a medida que la concentración de los elementos en solución aumentó.

Tabla 3.3: Acumulación diferenciada de Hg y As ($\mu\text{g. g}^{-1}$ ps) en raíz, tallo y hojas de *P. pusillus*.

Tratamiento	Elemento	RAÍZ	TALLO	HOJA
Control	As ⁺³	<LD	<LD	<LD
0,1	As ⁺³	27,6 ± 0,2 ^a	3,84 ± 1,67 ^b	5 ± 1 ^b
0,5	As ⁺³	82 ± 5 ^a	48 ± 5 ^b	20 ± 1 ^c
1	As ⁺³	239 ± 58 ^a	78 ± 4 ^b	52 ± 3 ^b
2	As ⁺³	216 ± 2 ^a	109 ± 2 ^b	104 ± 2 ^b
Control	As ⁺⁵	<LD	<LD	<LD
0,1	As ⁺⁵	14 ± 1 ^a	5 ± 1 ^b	1,1 ± 0,2 ^c
0,5	As ⁺⁵	29 ± 5 ^b	72 ± 7 ^a	18,1 ± 0,4 ^b
1	As ⁺⁵	51 ± 3 ^a	90 ± 9 ^a	46 ± 20 ^a
2	As ⁺⁵	189 ± 85 ^a	218 ± 34 ^a	196 ± 23 ^a
Control	Hg	1,3 ± 0,4 ^a	1,09 ± 0,9 ^a	0,5 ± 0,2 ^a
0,1	Hg	44 ± 6 ^b	15 ± 3 ^c	61 ± 10 ^a
0,5	Hg	256 ± 58 ^b	78 ± 17 ^c	378 ± 56 ^a
1	Hg	455 ± 138 ^b	121 ± 10 ^c	740 ± 140 ^a
2	Hg	659 ± 240 ^b	401 ± 140 ^b	1246 ± 304 ^a

Se encontraron niveles significativamente más altos de As en la raíz con respecto a hojas y tallos, cuando la planta fue expuesta a As⁺³, en todas las concentraciones. Por otro lado, cuando *P. pusillus* fue expuesta a As⁺⁵ no hubo una marcada preferencia en la acumulación de As por un tejido vegetal en particular. Cuando la macrófita fue expuesta a la concentración más baja (0,1 mg.L⁻¹) la mayor acumulación se observó en la raíz, a 0,5 mg.L⁻¹ en los tallos y cuando se la expuso a 1 y 2 mg.L⁻¹, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la acumulación de las distintas partes de la planta. Finalmente, cuando *P. pusillus* fue expuesta a Hg, se observó que los niveles más altos de Hg se encontraron en las hojas que con respecto a las raíces o los tallos, en todas las concentraciones evaluadas.

Estudios anteriores han demostrado que las raíces son el principal tejido de plantas acuáticas para la acumulación de diversos metales (Lesage *et al.*, 2007; Fritioff y Greger, 2006; Miretzky *et al.*, 2004; Peng *et al.*, 2008), lo que está en acuerdo con los resultados obtenidos para *P. pusillus* expuesta a As⁺³ y a 0,1 mg.L⁻¹ de As⁺⁵. Se han propuesto tres mecanismos de ingreso del As en plantas acuáticas: (i) captación activa a través de transportadores de fosfato, (ii) captación pasiva a través de acuagliceroporinas, y (iii) adsorción fisicoquímica en superficies radiculares. Las plantas absorben principalmente As⁺⁵ a través de transportadores de captación de fosfato (Rahman y Hasegawa, 2011); sin embargo, también se supone que la adsorción fisicoquímica en las superficies de las raíces es una vía alternativa para el ingreso de esta especie de As (Robinson *et al.*, 2006). El As⁺³ ingresa en las plantas mediante un mecanismo pasivo a

través de los canales de acuagliceroporinas (Zhao *et al.*, 2009). Por lo tanto, al ser distintos los mecanismos de ingreso de As a la planta según la especie involucrada, es esperable tener distintos patrones de acumulación. A su vez, una menor acumulación de As en las hojas que en la raíz puede ser debido a la función protectora de la planta en la fotosíntesis ante niveles tóxicos de este elemento (Mishra *et al.*, 2008).

Por otra parte, la acumulación de metales en hojas puede atribuirse en gran medida al intercambio de iones dentro de este tejido y la solución circundante, y también a través de la penetración pasiva de iones en la región periférica (Denny, 1980). La captación por hojas se vuelve importante cuando la concentración del elemento en el entorno es alta (Demirezen y Aksoy, 2004). *P. pusillus* acumuló mayores concentraciones de Hg en hojas que en tallos o raíces, es posible que este proceso de retención de Hg fuera una reacción fisicoquímica potenciada por las condiciones hidropónicas. El compuesto cloruro de mercurio (HgCl_2) es relativamente apolar y por lo tanto bastante liposoluble (Moreno *et al.*, 2008), lo que indica que este complejo atraviesa fácilmente las bicapas lipídicas de la membrana plasmática.

En adición, el contenido de materia orgánica de las hojas puede influir en la capacidad de unión, ya que los metales tienen una alta afinidad a la materia orgánica. Las paredes celulares de las hojas son ricas en pectina, que posee sitios de ácido poligalacturónico cargado negativamente, permitiendo el intercambio catiónico de especies tales como Hg^{+2} y por lo tanto la absorción del metal (Rengel, 1989). Además, Fritioff y Greger (2006) indicaron que las hojas contienen más material seco al que pueden unirse los metales.

Los tallos fueron la parte de la planta que acumuló menor concentración de As y Hg, con respecto a hojas y raíz. Una posible explicación, podría ser su menor volumen en relación a una gran área de captación en las otras partes y que estos, representan aproximadamente el 10 % del total de la planta. Fritioff y Greger (2006) demostraron que la relación área superficial / volumen difiere significativamente entre hojas y tallos en *Potamogeton natans*, lo que conlleva a una menor acumulación de metales en tallos que en las hojas. Nuestros resultados coinciden con los publicados por Monferrán *et al.* (2012), donde se observó que las raíces y hojas acumulaban mayor cantidad de Cu y Cr en *P. pusillus* que en tallos.

3.3.5 Impacto de la exposición de Hg y As en parámetros bioquímicos de P. pusillus

La acumulación de metales y metaloides no esenciales en plantas a menudo se acompaña por la inducción de una variedad de cambios celulares, algunos de los cuales contribuyen directamente a la capacidad de tolerancia de las plantas. Entre la variedad de "blancos" reportados para los metales y As en plantas, el aparato fotosintético parece ser el más sensible (Huang y Wang, 2010).

Los valores promedio y la desviación estándar del contenido de Cl-a y proteínas, se encuentran en las Tablas 7 y 8 del ANEXO III. Las diferentes letras mayúsculas indican

diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo de exposición, y las letras minúsculas indican diferencias entre los tiempos de exposición para un mismo tratamiento.

En las Fig. 3.4A-C, se encuentran graficados los contenidos de Cl-a en *P. pusillus* ante la exposición de As^{+3} , As^{+5} y Hg. Se puede observar que el contenido de Cl-a en las plantas expuestas durante 5 días a $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de As^{+3} , resulta ser más bajo en comparación con los de las plantas expuestas a concentraciones menores a ese tiempo. A su vez, el contenido de este pigmento para una concentración de $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de As^{+3} , disminuye significativamente con respecto al control y a las restantes concentraciones, durante 10 y 15 días de exposición. En cuanto a las diferencias entre los tiempos de exposición, podemos decir que el contenido de Cl-a disminuye al día 10 cuando fue expuesta a $0,1$ y $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de As^{+3} y al día 15, cuando fue expuesta a $0,5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de As^{+3} .

Por otra parte, la remoción de As^{+5} mostró síntomas de toxicidad sobre la concentración de Cl-a en todas las concentraciones evaluadas, observándose una disminución estadísticamente significativa con respecto al grupo control, en todos los tiempos ensayados.

Además, se observa que el contenido de este pigmento es mayor a los 10 días de exposición en comparación con los demás tiempos evaluados, cuando la planta es expuesta a $0,1$, $0,5$ y $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de As^{+5} . No hubo diferencias significativas en el contenido de Cl-a entre los días 5, 10 y 15 de ensayo, cuando la planta fue expuesta a $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de este elemento.

Finalmente, ante la exposición de Hg el contenido de Cl-a mostró una disminución estadísticamente significativa con respecto al grupo control en las plantas expuestas a $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Hg en el día 5, en todas las concentraciones ensayadas en el día 10 y a $0,1$, 1 y $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Hg al día 15. No hubo disminución en su contenido con el transcurso del ensayo cuando la planta fue expuesta a $0,5$ y $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Hg, en cambio, disminuyó a los 10 días de exposición con concentraciones de $0,1$ y $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Estos cambios observados en el contenido de clorofila en *P. pusillus*, reflejan la intensidad y diversidad de los trastornos generados por estos elementos en el metabolismo celular. La pérdida de pigmentos fotosintéticos es una respuesta común en plantas debido al estrés que sufren, como por ejemplo ante el calor, enfermedades o contaminación.

En las plantas, el Hg puede sustituir a metales de pigmentos fotosintéticos, causando una disminución en la tasa de fotosíntesis (Xylander *et al.*, 1996). Varios estudios han demostrado que ante exposiciones prolongadas de Hg, disminuyen los niveles de pigmentos fotosintéticos en distintas especies de plantas (Mondal *et al.*, 2015; Smolinska y Leszczynska, 2017; Sahu *et al.*, 2012).

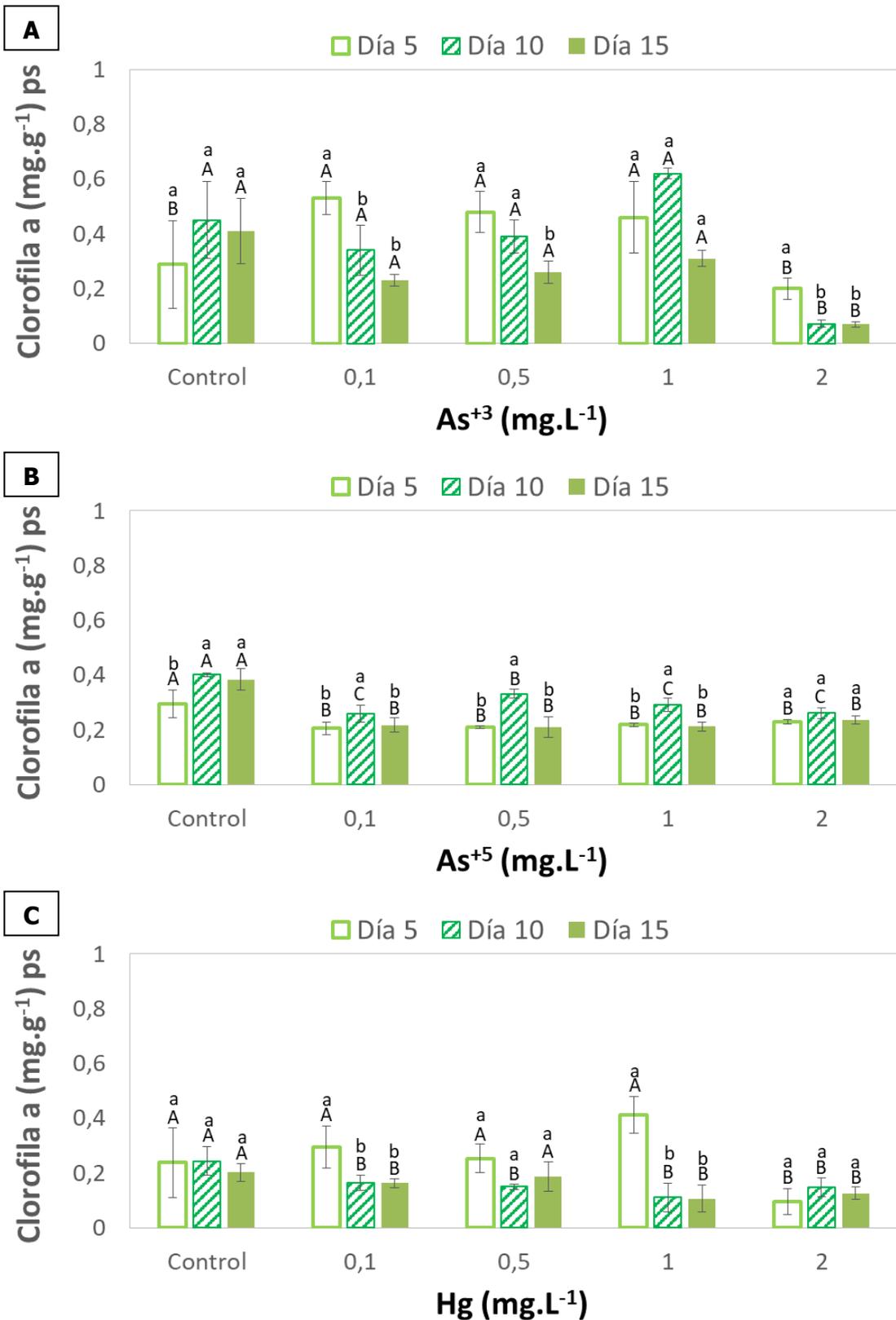


Figura 3.4: Contenido de Clorofila-a en *P. pusillus* ante la exposición de A) As⁺³, B) As⁺⁵ y C) Hg. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo de exposición y letras minúsculas, diferencias entre tiempos de exposición para un mismo tratamiento.

El As comparte muchas propiedades de los metales, por lo que sus efectos tóxicos en el aparato fotosintético son similares a los del Hg. La reducción del contenido de clorofila puede atribuirse a una absorción deficiente de elementos inorgánicos esenciales, al daño del aparato fotosintético o debido a la degradación de la clorofila por la actividad aumentada de la clorofilasa (Mishra *et al.*, 2008). Por otra parte, Ahsan *et al.* (2010) sugiere que la pérdida de clorofila inducida por la presencia de As podría ser el resultado de la baja regulación de la enzima ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCo) y otras proteínas del cloroplasto, elementos relacionados con la fotosíntesis. La RuBisCo tiene como función fijar CO₂ atmosférico para convertirlo en carbono orgánico, que será incorporado a los ciclos de obtención de energía y materia orgánica de la planta y a su vez, fija oxígeno participando en la fotorrespiración. Varios estudios expresan la disminución del contenido de clorofila ante la exposición a As (Mehmood *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2017) en concordancia con lo encontrado en este estudio.

En adición, se analizó el contenido de proteínas de *P. pusillus* como indicador de daño generado por la exposición a As y Hg (Fig. 3.5A-C). Generalmente, no hubo diferencias significativas en los niveles de proteínas cuando *P. pusillus* fue expuesta a soluciones individuales de As⁺³, As⁺⁵ o Hg durante 15 días. Los tratamientos que presentaron una disminución con respecto al control, fueron cuando la planta se expuso durante 5 días, a 1 y 2 mg.L⁻¹ de As⁺⁵ y durante 10 días a las distintas concentraciones de As⁺⁵ evaluadas. Por otra parte, al comparar el contenido de proteínas entre los días de exposición, observamos que disminuye al día 10 y 15 cuando fue expuesta a 2 mg.L⁻¹ de As⁺³. En el caso de todas las exposiciones realizadas con As⁺⁵, se observa que el contenido de proteínas disminuye al día 10, inclusive la planta control (sin metal), lo cual puede estar dado por efectos ajenos al metaloide. Finalmente, no hubo variación en el contenido de proteínas con el transcurso del ensayo cuando se expuso la planta a distintas concentraciones de Hg.

La exposición de As en plantas interrumpe con varios procesos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos. Su presencia causa daño oxidativo a biomoléculas tales como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Kanazawa *et al.*, 2000). Varios estudios han demostrado la disminución del contenido de proteínas en plantas expuestas a As (sin distinción de la especie utilizada) (Kumar *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2009). Nuestros resultados no están en total acuerdo con lo reportado por estos autores. Podemos decir que en las condiciones de ensayo planteadas en este estudio, el As⁺³ podría no estar ejerciendo daño particularmente a las proteínas de la planta o que la cantidad acumulada por *P. pusillus* no es suficiente para generar cambios en este parámetro, con respecto al grupo control. En cuanto a la exposición de Hg, podría estar sucediendo algo similar.

Finalmente, comparando los resultados obtenidos, podemos decir que As⁺³, As⁺⁵ y Hg producen un efecto más tóxico sobre el contenido de Cl-a que sobre el nivel de proteínas de *P. pusillus*.

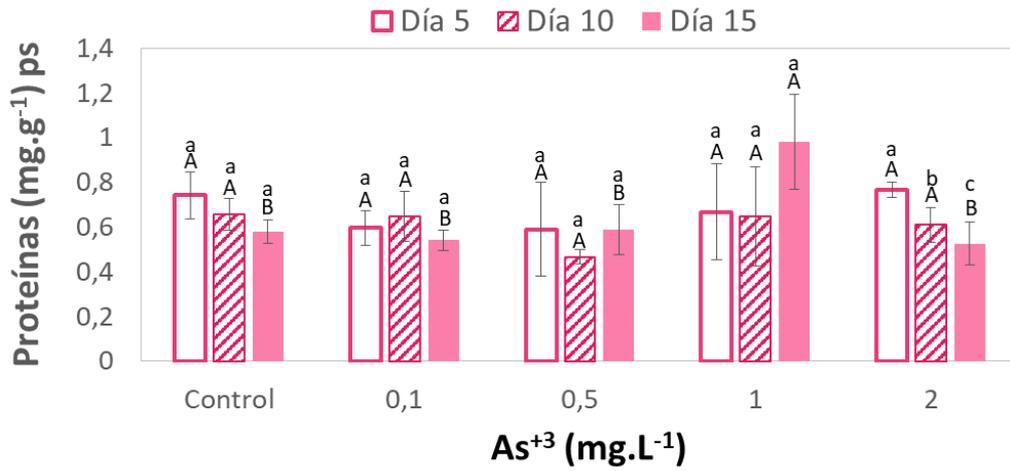
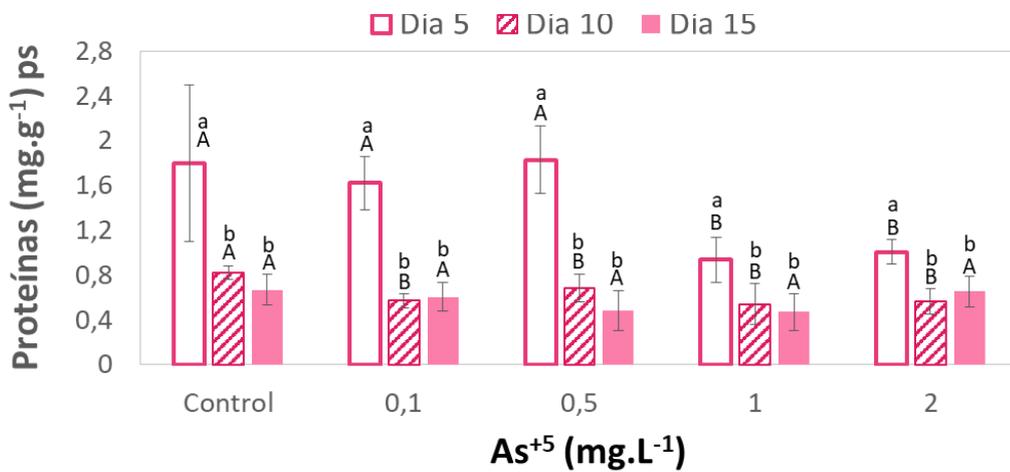
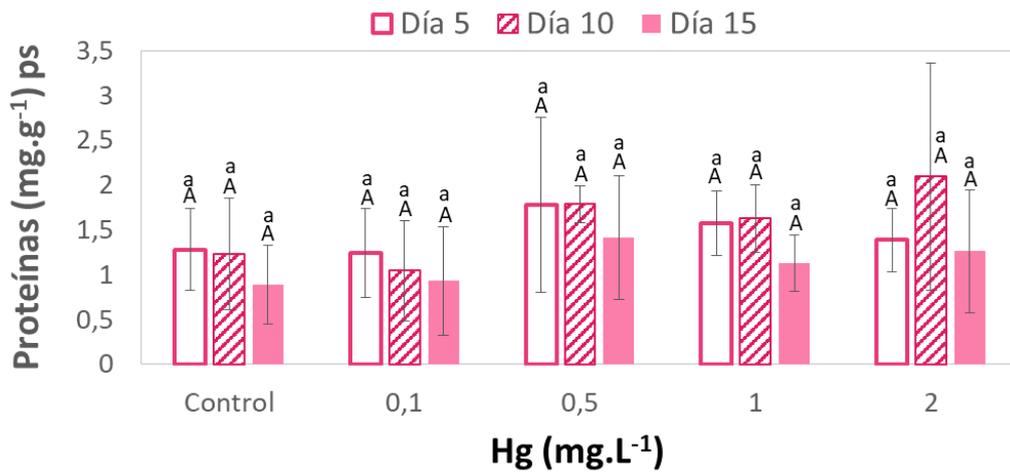
A**B****C**

Figura 3.5: Contenido de proteínas en *P. pusillus* ante la exposición de A) As³⁺, B) As⁵⁺ y C) Hg. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo de exposición y letras minúsculas, diferencias entre tiempos de exposición para un mismo tratamiento.

3.4 CONCLUSIONES

A nuestro conocimiento, este es el primer estudio que evalúa la capacidad de acumulación de As^{+3} , As^{+5} y Hg por *Potamogeton pusillus*. La alta correlación entre la concentración final de metal/metaloide en agua y la concentración en esta macrófita, indican que esta planta puede ser utilizada efectivamente para la eliminación de Hg y de bajas concentraciones de As^{+3} o As^{+5} ($0,1 \text{ mg.L}^{-1}$) de acuíferos contaminados.

Independientemente de la concentración utilizada, las raíces presentaron una acumulación de As más alta cuando la planta fue expuesta a As^{+3} , la raíz y hojas cuando fue expuesta a As^{+5} , y en hojas cuando fue expuesta a Hg. Esto sugiere que la parte de la planta donde el elemento se acumulará preferentemente depende del elemento al cual se la exponga.

Luego de 15 días de exposición a As^{+3} , As^{+5} o Hg, los niveles de clorofila-a se redujeron, evidenciando la toxicidad que ejercen estos elementos a la planta. Sin embargo, no se observó una disminución tan marcada en el contenido de proteínas ante las exposiciones realizadas, evidenciándose menor toxicidad en este parámetro.

Estos resultados son interesantes considerando que estudios previos reportaron una menor capacidad de acumulación de Hg para diferentes especies de plantas que los obtenidos por *P. pusillus*. Además, nuestro estudio aporta nuevos datos sobre el uso de plantas acuáticas para la fitorremediación de Hg y As, incluyendo la medición de parámetros químicos, que han demostrado ser un método fiable para evaluar el estrés fisiológico en macrófitas como consecuencia de la acumulación de compuestos inorgánicos. Teniendo en cuenta la capacidad de *P. pusillus* para acumular Hg y As, su distribución silvestre en América del Sur y su fácil recolección, esta especie puede considerarse un buen candidato para ser utilizado en la fitorremediación de cuerpos de agua contaminados y efluentes que contienen As^{+3} , As^{+5} o Hg.

A partir de estos resultados se pueden plantear futuros ensayos que involucren la remoción conjunta de As y Hg, evaluando la capacidad de la macrófita cuando es expuesta a una mezcla binaria de tóxicos. A su vez, aplicar estos ensayos a campo, optimizando las condiciones para trabajar con efluentes o aguas contaminadas. Finalmente, se puede incursionar en el estudio de la disposición final de *P. pusillus* expuesta a estos elementos, ya que la gestión y eliminación de las macrófitas utilizadas en fitorremediación, es una gran preocupación para la implementación exitosa de este tipo de tecnología. Esto resulta un gran desafío ya que se genera biomasa enriquecida en elementos tóxicos, con lo cual se deben buscar tratamientos para la reducción de su volumen (compostaje o compactación) y su posterior reutilización (generación de energía), controlando que estos elementos no ingresen nuevamente a los sistemas acuáticos o terrestres.

CONCLUSIONES FINALES



El presente trabajo de tesis doctoral encuentra su origen en la necesidad de avanzar en el estudio sobre la interrelación del ambiente, sus contaminantes y los alimentos que en él se producen, buscando indagar sobre marcadores químicos que permitan distinguir alimentos procedentes de áreas con distinto grado de contaminación. Además, se planteó como objetivo el desarrollo de estrategias de remoción (fitorremediación) de elementos inorgánicos potencialmente tóxicos, como As y Hg, en especial en ambientes acuáticos, como una contribución a disminuir la presencia de elementos tóxicos en estos ambientes y, por ende, en los productos alimenticios que allí se produzcan.

En este contexto, se propuso el análisis de elementos inorgánicos e isótopos estables de carbono y nitrógeno en diferentes matrices abióticas y bióticas, en sistemas acuáticos y terrestres de la Argentina. El estudio se centró fundamentalmente en la evaluación de la transferencia de metales y metaloides desde el ambiente hasta alimentos (pejerrey y leche), evaluando posibles efectos adversos para la salud humana a través de su consumo.

En cuanto al sistema terrestre, se evaluaron las concentraciones de Ag, Al, As, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Hg, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, V y Zn, en muestras de agua, suelo, forraje y leche, de tambos ubicados en las provincias de Córdoba, Santa Fe y Catamarca. De estos elementos, B, Mo, V y Zn superaban los niveles establecidos para calidad de agua de bebida animal, B superaba lo establecido para calidad de suelo de uso agrícola y en algunas muestras de forraje (maíz-alfalfa) el Hg superó el máximo establecido por legislación europea para alimentos destinados a consumo animal. A su vez, se compararon los niveles de As, Cd y Pb encontrados en las muestras de leche con lo establecido por el Reglamento Técnico MERCOSUR, y se obtuvo que ninguno de los elementos excedió los niveles permitidos para contaminantes inorgánicos en alimentos.

Mediante el análisis estadístico multivariado, podemos decir que la composición elemental de la leche se relaciona con el forraje que los animales consumen, y que éstos se relacionan con la composición del suelo del lugar donde crecen. Por otra parte, nuestro estudio indica que la composición multielemental de la leche está relacionada en menor medida con la correspondiente al agua de la región de producción. Estos resultados demuestran la necesidad de un mayor control en las áreas destinadas a la producción láctea, y también sobre los alimentos que consume el ganado, para asegurar la calidad e inocuidad de los alimentos producidos.

Asimismo, se identificaron diferencias significativas en el contenido de elementos inorgánicos y de las señales isotópicas de muestras de agua, suelo, forraje y leche, entre los tambos, lográndose diferenciar de manera eficiente las distintas zonas de origen de las muestras de agua, suelo y leche. Esto nos indica la gran influencia de la zona geográfica y de las diferentes condiciones ambientales, en el perfil químico e isotópico de los alimentos producidos. De acuerdo con los resultados, la determinación en conjunto de estos parámetros, resulta una herramienta poderosa para la caracterización, determinación y certificación del origen geográfico de los alimentos, como la leche.

En cuanto al sistema acuático, se evaluaron las concentraciones de Ag, Al, As, B, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Hg, Li, Mn, Mo, Ni, P, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, U, V y Zn en muestras de agua, sedimento, plancton, camarón y pejerrey de los tres lagos más importantes de la Ciudad de Córdoba. La concentración de la mayoría de estos elementos en las muestras de agua y sedimento, no demostraron potencial para ejercer efectos tóxicos sobre la biota acuática, excepto por el Pb, en aguas del Embalse de Río Tercero. Nuestros resultados indican diferencias significativas en la concentración de los elementos entre organismos, lagos y estaciones de muestreo. Al evaluar la bioacumulación y biomagnificación, se observó que ambas dependen de varios factores, como el elemento en particular, la especie evaluada y de su capacidad de asimilar/ eliminar el elemento según sus requerimientos fisiológicos. Se observó que la mayoría de los elementos cuantificados se bioacumulan en los organismos de estudio, especialmente en el plancton. En cuanto a la biomagnificación, Hg mostró este comportamiento en la cadena trófica del LLM (ES), mientras que Al, Cd, Co, Cr, Fe, Li, Mn, Ni, Se y V, mostraron un patrón general de biodilución en los tres lagos de estudio.

Además, el análisis de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ permitió diferenciar los tres lagos analizados y caracterizar las relaciones tróficas de estos sistemas acuáticos. Las variaciones encontradas entre los lagos podrían deberse al distinto grado y tipo de intervención antrópica que tienen cada uno de ellos. El Lago San Roque demostró los niveles más altos de $\delta^{15}\text{N}$ en todas las matrices analizadas, indicando la gran influencia de aguas residuales que recibe este lago, señalándolo como una fuente aparentemente no segura para la producción de alimentos (peces en este caso, u otros que puedan evaluarse en el futuro a partir del uso de sus aguas para riego).

Por otra parte, este estudio proporciona datos sobre el riesgo para la salud que podrían derivarse del consumo de pejerreyes provenientes de los lagos en estudio, indicando que para personas que consumen con frecuencia esta especie de pez, la exposición a As y Hg presenta un riesgo potencial. El pescado es una fuente importante de alimento, sin embargo los riesgos para la salud asociados con su consumo no deben ser ignorados. De acuerdo con estos resultados, el consumo de pejerrey de los principales lagos de la ciudad de Córdoba debe ser limitado para minimizar riesgos a la salud.

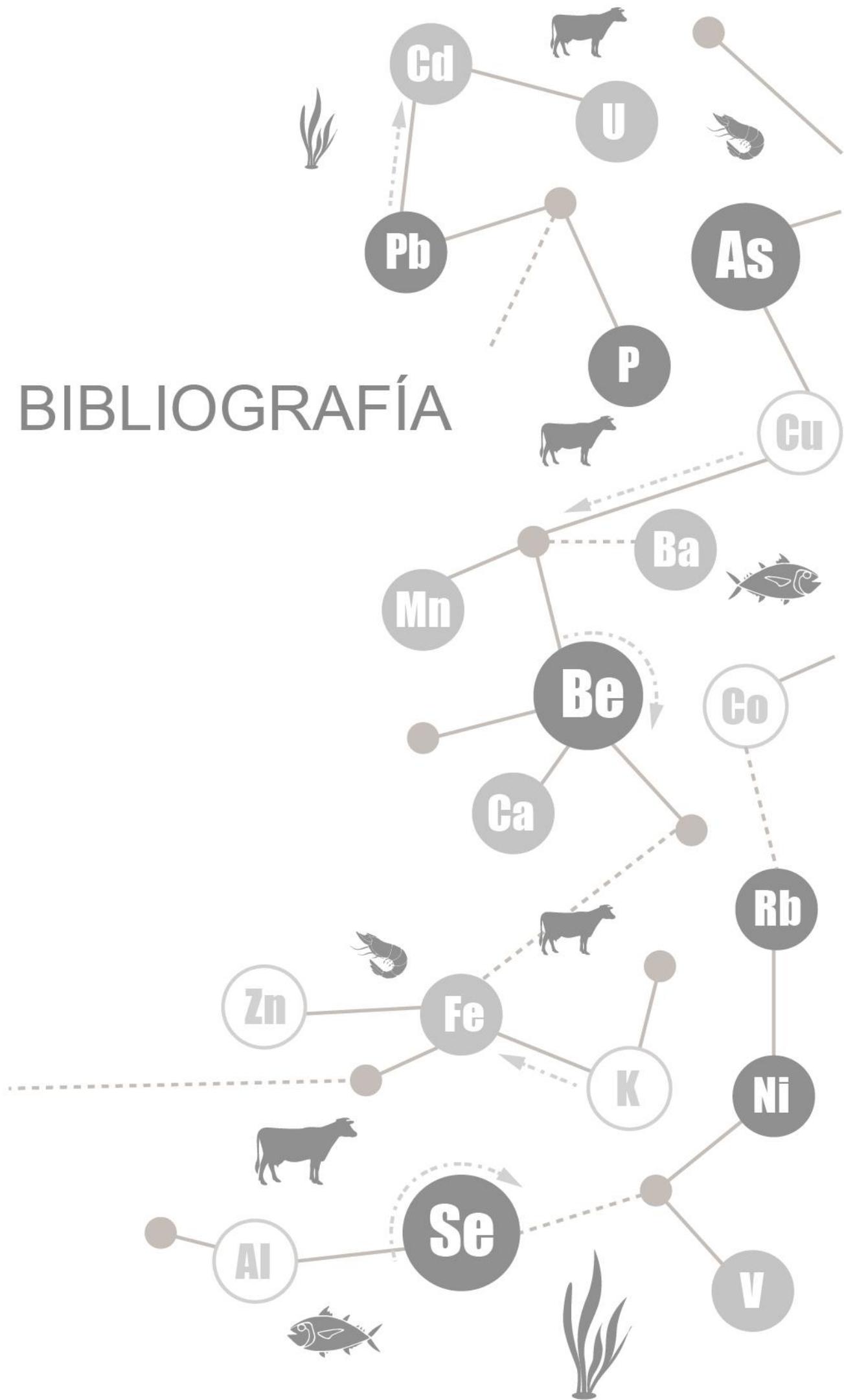
Los resultados obtenidos en este trabajo constituyen un aporte significativo en el estudio del contenido de elementos inorgánicos en los lagos San Roque, Los Molinos y Embalse de Río Tercero y de parte del sector productivo de leche de Argentina. Durante el desarrollo de esta tesis, se evidenció la escasa información disponible de la concentración de la mayoría de los elementos analizados para los sistemas y matrices evaluadas, por lo que estudios como el actual son importantes para evaluar la presencia y los efectos de los contaminantes en sistemas terrestres y acuáticos. Avanzar en ellos es necesario para monitorear su evolución y entender los diferentes escenarios encontrados, como así también obtener información para proteger a la población del contacto con alimentos que contienen elementos tóxicos.

Finalmente, se planteó realizar estudios para la remediación de As^{+3} , As^{+5} y Hg desde sistemas acuáticos, utilizando la macrófita acuática *Potamogeton pusillus*. La alta correlación entre la concentración final del metal/metaloide en agua y en la macrófita, indican que esta planta puede ser utilizada efectivamente para la eliminación de Hg y de bajas concentraciones de As^{+3} o As^{+5} ($0,1 \text{ mg.L}^{-1}$) de acuíferos contaminados.

Al analizar la distribución de As y Hg en los tejidos de la planta, se demostró que la parte de la planta donde se acumularán depende del elemento al que se expone la planta. Cuando la planta fue expuesta a As^{+3} , la raíz presentó mayor acumulación de As, la raíz y hojas cuando fue expuesta a As^{+5} , y las hojas cuando fue expuesta a Hg. A su vez, la remoción de estos elementos no mostró una considerable disminución en el contenido de proteínas ante las exposiciones realizadas, pero sí en los niveles de clorofila-a.

Nuestro estudio aporta nuevos datos sobre el uso de plantas acuáticas para la fitorremediación de Hg y As, incluyendo la medición de parámetros químicos. Teniendo en cuenta la capacidad de *P. pusillus* para acumular Hg y As, su distribución silvestre en América del Sur y su fácil recolección, esta especie puede considerarse un buen candidato para ser utilizado en la fitorremediación de cuerpos de agua contaminados y efluentes de que contienen As^{+3} , As^{+5} o Hg, aportando a la mejora de la calidad del agua donde puedan producirse alimentos.

BIBLIOGRAFÍA



A

- Abhilash, P. C., Pandey, V. C., Srivastava, P., Rakesh, P. S., Chandran, S., Singh, N., Thomas, A. P. (2009). Phytofiltration of cadmium from water by *Limncharis flava* (L.) Buchenau grown in free-floating culture system. *Journal of Hazardous Materials* 170(2–3), 791–797.
- Achary, M.S., Satpathy, K.K., Panigrahi, S., Mohanty, A.K., Padhi, R.K., Biswas, S., Prabhu, R.K., Vijayalakshmi, S., Panigrahy, R.C. (2017). Concentration of heavy metals in the food chain components of the nearshore coastal waters of Kalpakkam, southeast coast of India. *Food Control* 72, 232–243.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR), Lista Prioritaria de Sustancias Peligrosas. Disponible online: <http://www.atsdr.cdc.gov/SPL/index.html>.
- Ahmed, M.K., Baki, M.A., Kundu, G.K., Islam, M.S., Islam, M.M., Hossain, M.M. (2016). Human Health Risks From Heavy Metals in Fish of Buriganga River, Bangladesh. *SpringerPlus* 5(1), 1697.
- Ahsan, N., Lee, D. G., Kim, K. H., Alam, I., Lee, S. H., Lee, K. W., Lee, H., Lee, B. H. (2010). Analysis of arsenic stress-induced differentially expressed proteins in rice leaves by two-dimensional gel electrophoresis coupled with mass spectrometry. *Chemosphere* 78, 224–231.
- Ali, H., Khan, E., Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. *Chemosphere* 91(7), 869–881.
- Ali, M. M., Ali, M. L., Islam, M. S., Rahman, M. Z. (2016). Preliminary assessment of heavy metals in water and sediment of Karnaphuli River, Bangladesh. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management* 5, 27-35.
- Alscher, R.G., Erturk, N., Heath, L.S. (2002). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany* 53, 1331-1341.
- Alvarado, S., Guédez, M., Lué-Merú, M.P., Graterol, N., Anzalone, A., Arroyo, C.J., Gyula, Z. (2008). Arsenic removal from waters by bioremediation with the aquatic plants Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and Lesser Duckweed (*Lemna minor*). *Bioresource Technology* 99, 8436–8440.
- Amé, M.V., Díaz, M.P., Wunderlin, D.A. (2003). Occurrence of toxic cyanobacterial blooms in San Roque reservoir (Córdoba Argentina): a field and chemometric study. *Environmental Toxicology* 18, 192–201.
- Ancelet, T., Davy, P.K., Mitchell, T., Trompetter, W.J., Markwitz, A., Weatherburn, D.C. (2012). Identification of particulate matter sources on an hourly time-scale in a wood burning community. *Environmental Science & Technology* 46, 4767–4774.
- Andrade, F., Echeverría, H., González, N., Uhart, S. (2000). Requerimientos de nutrientes minerales. En: Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja. Pág. 207-233.
- Aprile, M. C., Fiorillo, D. (2017). Water conservation behavior and environmental concerns: Evidence from a representative sample of Italian individuals. *Journal of Cleaner Production* 159, 119–129.
- Aragay, G., Pons, J., Merkoci, A. (2011). Recent trends in macro-, micro-, and nanomaterial-based tools and strategies for heavy-metal detection. *Chemical Reviews* 111, 3433-3458.
- Arcagni, M., Campbell, L., Arribére, M.A., Marvin-Di Pasquale, M., Rizzo, A., Ribeiro Guevara, S. (2013). Differential mercury transfer in the aquatic food web of a double basined lake associated with selenium and habitat. *Science of the Total Environment* 454, 170–180.
- Arcagni, M., Rizzo, A., Juncos, R., Pavlin, M., Campbell, L. M., ..., Guevara, S. R. (2017). Mercury and selenium in the food web of Lake Nahuel Huapi, Patagonia, Argentina. *Chemosphere* 166, 163-173.
- Asaduzzaman, K., Khandaker, M. U., Binti Baharudin, N. A., Amin, Y. B. M., Farook, M. S., Bradley, D. A., Mahmoud, O. (2017). Heavy metals in human teeth dentine: A bio-indicator of metals exposure and environmental pollution. *Chemosphere* 176, 221–230.
- Asante, K.A., Agusa, T., Mochizuki, H., Ramu, K., Inoue, S., Kubodera, T., Takahashi, S., Subramanian, A., Tanabe, S. (2008). Trace elements and stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) in shallow and deep-water organisms from the East China Sea. *Environmental Pollution* 156, 862–873.

- Asante, K.A., Agusa, T., Kubota, R., Mochizuki, H., Ramu, K., Nishida, S., Ohta, S., Yeh, H. ming, Subramanian, A., Tanabe, S. (2010). Trace elements and stable isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) in fish from deep-waters of the Sulu Sea and the Celebes Sea. *Marine Pollution Bulletin* 60, 1560–1570.
- Asfaha, D. G., Quéstel, C. R., Thomas, F., Horacek, M., Wimmer, B., Heiss, G., ..., Brach-Papa, C. (2011). Combining isotopic signatures of n (^{87}Sr)/n (^{86}Sr) and light stable elements (C, N, O, S) with multi-elemental profiling for the authentication of provenance of European cereal samples. *Journal of cereal science* 53(2), 170-177.
- Ataro, A., McCrindle, R. I., Botha, B. M., McCrindle, C. M. E., Ndibewu, P. P. (2008). Quantification of trace elements in raw cow's milk by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *Food Chemistry* 111(1), 243–248.
- Altas Catamarca. (2017). Gobierno de la Provincia de Catamarca, ETISIG Catamarca. Disponible online: www.atlas.catamarca.gov.ar.
- Azizur Rahman, M., Hasegawa, H. (2011). Aquatic arsenic: Phytoremediation using floating macrophytes. *Chemosphere* 83, 633–646.

B

- Baeverfjord, G., Asgard, T., Shearer, K. D. (1998). Development and detection of phosphorus deficiency in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr and post-smolts. *Aquaculture Nutrition* 4(1), 1-12.
- Bahamondes, I., Soto, D., Vila, I. (1979). Hábitos alimentarios de los pejerreyes (Pisces: Atherinidae) del embalse Rapel, Chile. *Medio Ambiente* 4(1), 3–18.
- Barceló, J., Poschenrieder, C. (2003). Phytoremediation: principles and perspectives. *Contributions to Science* 2(3), 333–344.
- Bardach, A.E., Ciapponi, A., Soto, N., Chaparro, M.R., Calderon, M., Briatore, A., Cadoppi, N., Tassara, R., Litter, M.I. (2015). Epidemiology of chronic disease related to arsenic in Argentina: a systematic review. *Science of the Total Environment* 538, 802–816.
- Baroni, M.V., Podio, N.S., Badini, R.G., Inga, M., Ostera, H.A., Cagnoni, M., Gallegos, E., Gautier, E., Peral-García, P., Hoogewerff, J., Wunderlin, D.A. (2011). How Much Do Soil and Water Contribute to the Composition of Meat? A Case Study: Meat from Three Areas of Argentina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 11117–11128.
- Baroni, M. V., Podio, N. S., Badini, R. G., Inga, M., Ostera, H. A., Cagnoni, M., ..., Wunderlin, D. A. (2015). Linking soil, water, and honey composition to assess the geographical origin of Argentinean honey by multielemental and isotopic analyses. *Journal of agricultural and food chemistry* 63(18), 4638-4645.
- Bateman, A. S., Kelly, S. D., Jickells, T. D. (2005). Nitrogen isotope relationships between crops and fertilizer: implications for using nitrogen isotope analysis as an indicator of agricultural regime. *Journal of agricultural and food chemistry* 53(14), 5760-5765.
- Bateman, A. S., Kelly, S. D., Woolfe, M. (2007). Nitrogen isotope composition of organically and conventionally grown crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(7), 2664-2670.
- Bazán, G. I. (2010). Estudios ficológicos en el sistema léntico de La Arocena (Departamento Maracó), La Pampa, Argentina (Tesis de doctorado). Universidad Nacional del Río Cuarto: Río Cuarto, Argentina.
- Bazán, R., Oroná, C., Larrosa, N., Olmo, S. D., Cossavella, A., Corral, M., Rodríguez, A., Wunderlin, D. (2004). Monitoreo optimizado de la calidad del agua del embalse Los Molinos, Córdoba. Congreso Argentino de Saneamiento y Medio Ambiente 14, 1-4. AIDIS Argentina.

- Bazán, R., Wunderlin, D. A., Rodríguez, A., Parma, J., Solis, V. M. (2006). Evaluación de la calidad del agua, nivel de eutroficación y sus consecuencias en el embalse Los Molinos (Córdoba).
- Bazán, R., Larrosa, N., Bonansea, M., López, A., Busso, F., Cosavella, A. (2014). Programa de monitoreo de calidad de agua del Embalse Los Molinos, Córdoba - Argentina 1, 27–34.
- Belzile, N., Chen, Y. W. (2017). Thallium in the environment: A critical review focused on natural waters, soils, sediments and airborne particles. *Applied Geochemistry*.
- Bennicelli, R., Stepniewska, Z., Banach, A., Szajnocha, K., Ostrowski, J. (2004). The ability of *Azolla caroliniana* to remove heavy metals (Hg(II), Cr(III), Cr(VI)) from municipal waste water. *Chemosphere* 55, 141–146.
- Benson, R., Conerly, O. D., Sander, W., Batt, A. L., Boone, J. S., Furlong, E. T., ... Simmons, J. E. (2017). Human health screening and public health significance of contaminants of emerging concern detected in public water supplies. *Science of the Total Environment* 579, 1643–1648.
- Berg, L.R. (1963). Evidence of vanadium toxicity resulting from the use of certain commercial phosphorus supplements in chick rations. *Poultry Science* 42, 766–769.
- Bergqvist, C. (2011): Arsenic accumulation in various plant types. Licentiate of Philosophy Thesis. Stockholm University, Sweden. 29.
- Bertrand, L., Monferrán, M.V., Métais, I., Mouneyrac, C., Amé, M.V. (2014). MTs in *Palaemonetes argentinus* as potential biomarkers of zinc contamination in freshwaters. *Ecological Indicators* 48, 533–541.
- Billet, S., Garçon, G., Dagher, Z., Verdin, A., Ledoux, F., Cazier, F., Courcot, D. Aboukais, A., Pirouz, S.P. (2007). Ambient Particulate Matter (PM_{2.5}): Physicochemical characterization and metabolic activation of the organic fraction in human lung epithelial cells (A549). *Environmental Research* 105, 212-223.
- Bond, A. L. (2010). Relationships between stable isotopes and metal contaminants in feathers are spurious and biologically uninformative. *Environmental Pollution* 158, 1182-1184.
- Borgnino, L., Orona, C., Avena, M., Maine, M. A., Rodríguez, A., De Pauli, C. P. (2006). Phosphate concentration and association as revealed by sequential extraction and microprobe analysis: The case of sediments from two Argentinean reservoirs. *Water resources research* 42(1).
- Bortey-Sam, N., Nakayama, S.M.M., Ikenaka, Y., Akoto, O., Yohannes, Y.B., Baidoo, E., Mizukawa, H., Ishizuka, M. (2015). Human health risks from metals and metalloid via consumption of food animals near Gold Mines in Tarkwa, Ghana: estimation of the daily intakes and target hazard quotients (THQs). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 111, 160–167.
- Bosch, A.C., O'Neill, B., Sigge, G.O., Kerwath, S.E., Hoffman, L.C. (2016). Mercury accumulation in Yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) with regards to muscle type, muscle position and fish size. *Food Chemistry* 190, 351–356.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.
- Bradl, H. B. (2005). Sources and origins of heavy metals. *Interface Science and Technology* 6, 1-27.
- Branch, S., Burke, S., Evans, P., Fairman, B., Briche, C. S. W. (2003). A preliminary study in determining the geographical origin of wheat using isotope ratio inductively coupled plasma

mass spectrometry with ^{13}C , ^{15}N mass spectrometry. *Journal of analytical atomic spectrometry* 18(1), 17-22.

Brand, W.A. (1996). High precision isotope ratio monitoring techniques in mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry* 31, 225–235.

Brian, S., Dyer, H. (2006). Systematic revision of the South American silversides (Teleostei, Atheriniformes). *Biocell* 30, 69–88.

Bryan, G. W. (1976). Heavy metal contamination in the sea. In: Marine Pollution, ed. R. Johnsten. Academic Press, London, UK, 185-302.

Bundschuh, A., Pérez Carrera, M., Litter, M.I. (2008) Distribución del arsénico en la región Ibérica e Iberoamericana. Desarrollo EPIdeCyTpe, Litter, Argentina (Vol ISBN 978-84-96023-61-1).

Bundschuh, J., Litter, M.I., Parvez, F., Román-Ross, G., Nicolli, H.B., Jean, J., Liu, C., López, D., Armienta, M.A., Guilherme, L.R.G., Gomez Cuevas, A., Cornejo, L., Cumbal, L., Toujaguez, R. (2012). One century of arsenic exposure in Latin A. *Science of The Total Environment* 429, 2-35.

Burbidge, R., Carrasco, M., Brown, P. (1974). Age, growth, length-weight relationship, sex ratio and food habits of the Argentina pejerrey, *Basilichthys bonariensis* (Cuv. and Val.) from Lake Peñuelas, Valparaíso, Chile. *Journal of Fish Biology* 6, 299–305.

Burgess, R.M., Ho, K.T., Brack, W., Lamoree, M. (2013). Effects-directed analysis (EDA) and toxicity identification evaluation (TIE): complementary but different approaches for diagnosing causes of environmental toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry* 32, 1935-1945.

C

Cabrera A., Blarasin M., Cabrera S., Matteoda E., Gómez M.L., Villalba G., Hildman F., Bettera, A. (2005). Arsénico y flúor en el acuífero freático en el sur de Córdoba: línea de base hidroquímica y problemática ambiental vinculada. Arsénico en aguas: origen, movilidad y tratamiento. 41-52.

Caggiano, R., Sabia, S., D'Emilio, M., Macchiato, M., Anastasio, A., Ragosta, M., Paino, S. (2005). Metal levels in fodder, milk, dairy products, and tissues sampled in ovine farms of Southern Italy. *Environmental Research* 99, 48–57.

Calvo, J., Dadone, L. (1972). Fenómenos reproductivos en el Pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) I. Escala y tabla de madurez. *Revista del Museo de La Plata* XI, 153-163.

Campbell, L. M., Hecky, R. E., Wandera, S. B. (2003). Stable isotope analyses of food web structure and fish diet in Napoleon and Winam Gulfs, Lake Victoria, East Africa. *Journal of Great Lakes Research*, 29, 243-257.

Campbell, L.M., Norstrom, R.J., Hobson, K.A., Muir, D.C.G., Backus, S., Fisk, A.T. (2005). Mercury and other trace elements in a pelagic Arctic marine food web (Northwater Polynya, Baffin Bay). *Science of the Total Environment* 351–352, 247–263.

Canli, M., Kalay, M., Ay, Ö. (2001). Metal (Cd, Pb, Cu, Zn, Fe, Cr, Ni) concentrations in tissues of a fish *Sardina pilchardus* and a prawn *Peaenus japonicus* from three stations on the Mediterranean Sea. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 67, 75–82.

Cano Parrilla, M.A., Moreno García, A.M., González Parra, J. (1997), Evaluación de la contaminación por metales pesados en suelos de cultivo. *Ecología* 11, 83-89.

- Carreras, H.A., Pignata, M.L. (2001). Comparison among air pollutants, meteorological conditions and some chemical parameters in the transplanted lichen *Usnea amblyoclada*. *Environmental Pollution* 111, 45-52.
- Castro De Esparza, M. L. (2006). The presence of arsenic in drinking water in Latin America and its effect on public health. International Congress: Natural Arsenic in Groundwaters of Latin America. Mexico City. 12.
- Caut, S., Angulo, E., Courchamp, F. (2009). Variation in discrimination factors ($\Delta^{15}\text{N}$ and $\Delta^{13}\text{C}$): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *Journal of Applied Ecology* 46, 443–453.
- Cava-Montesinos, P., Cervera, M. L., Pastor, A., de la Guardia, M. (2003). Determination of arsenic and antimony in milk by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Talanta* 60(4), 787-799.
- Cerling, T. E., Harris, J. M., MacFadden, B. J., Leakey, M. G., Quade, J., Eisenmann, V., Ehleringer, J. R. (1997). Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature* 389(6647), 153-158.
- Chaves Palacio, J. (2004). Desarrollo tecnológico en la primera revolución industrial. *Revista de Historia* 17. ISSN 0213-375X.
- Chen, Y., Siyue, L., Yulong, Z., Quanfa, Z. (2011). Assessing soil heavy metal pollution in the water-level-fluctuation zone of the Three Gorges Reservoir, China. *Journal of Hazardous Materials* 191, 366-372.
- Chi, Q., Zhu, G., Langdon, A. (2007). Bioaccumulation of heavy metals in fishes from Taihu Lake, China. *Journal of Environmental Sciences* 19, 1500–1504.
- Chiba, K., Taki, Y., Sakai, K., Oozeki, Y. (1989). Present status of aquatic organisms introduced into Japan. In: De Silva SS, editor. Exotic aquatic organisms in Asia. Proceedings of the Workshop on Introduction of Exotic Aquatic Organisms in Asia. *Asian Fisheries Society*, 63–70.
- Choque, L. F. C., Ramos, O. E. R., Castro, S. N. V., Aspiazu, R. R. C., Mamani, R. G. C., Alcazar, S. G. F., ..., Bhattacharya, P. (2013). Fractionation of heavy metals and assessment of contamination of the sediments of Lake Titicaca. *Environmental Monitoring and Assessment* 185(12), 9979-9994.
- Choudhury, H., Harvey, T., Thayer, W.C., Lockwood, T.F., Stiteler W.M., Goodrum, P.E., Hassett, J.M., Diamond, G.L. (2001) Urinary cadmium elimination as a biomarker of exposure for evaluating a cadmium dietary exposure/biokinetics model. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 63, 101-130.
- Clarkson, T.W. (2002). The three modern faces of mercury. *Environmental Health Perspectives* 110, 11–23.
- Closa, S.J., Landeta De, M.C., Andérica, D., Pighín, A., Cufre, J.A. (2003). Contenidos de nutrientes minerales en leche de vaca y derivados de Argentina. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 53(3), 320-24.
- Çoğun, H., Yüzereroğlu, T. A., Kargin, F., Firat, Ö. (2005). Seasonal variation and tissue distribution of heavy metals in shrimp and fish species from the Yumurtalik coast of Iskenderun Gulf, Mediterranean. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 75(4), 707-715.

- Collins, P.A. (1999). Feeding of *Palaemonetes argentinus* (Decapoda: Palaemonidae) from an oxbow lake of the Paraná River, Argentina. *Journal of Crustacean Biology* 19(3), 485-492.
- Collins, P., Cappello, S. (2006). Cypermethrin toxicity to aquatic life: Bioassays for the freshwater prawn *Palaemonetes argentinus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 51, 79– 85.
- Concha, G., Nermall, B., Vather, M. (2006). Spatial and Temporal Variations in Arsenic Exposure via Drinking-water in Northern Argentina. *Journal of Health, Population and Nutrition* 24 (3), 314-326.
- Consejo Canadiense de Ministros de Medio Ambiente. (2001). Guías canadienses de calidad de los sedimentos para la protección de la vida acuática: Introducción. Winnipeg, Canada. Disponible online: http://www.ccme.ca/en/resources/canadian_environmental_quality_guidelines/
- Conti, G.O., Copat, C., Ledda, C., Fiore, M., Fallico, R., Sciacca, S., Ferrante, M. (2012). Evaluation of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in *Mullus barbatus* from Sicily Channel and risk-based consumption limits. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 88, 946–950.
- Cossavella, A. (2003). Influencia de efectos antrópicos y naturales en el proceso de eutroficación de las aguas del embalse Los Molinos. Universidad Tecnológica Nacional, Córdoba, Argentina.
- Cravotta, C.A. 1995. Use of Stable Isotopes of Carbon, Nitrogen, and Sulfur to Identify Sources of Nitrogen in Surface Waters in the Lower Susquehanna River Basin, Pennsylvania. U.S. Geological Survey, Earth Science Information Center, Open-File Reports Section.
- Crittenden, R. G., Andrew, A. S., LeFournour, M., Young, M. D., Middleton, H., Stockmann, R. (2007). Determining the geographic origin of milk in Australasia using multi-element stable isotope ratio analysis. *International Dairy Journal* 17, 421-428.
- Croteau, M.N., Luoma, S. N., Stewart, A. R. (2005). Trophic transfer of metals along freshwater food webs: Evidence of cadmium biomagnification in nature. *Limnology and Oceanography* 50(5), 1511–1519.
- Cui, B.S., Yang, Q.C., Yang, Z.F., Zhang, K.J. (2009). Evaluating the ecological performance of wetland restoration in the Yellow River Delta, China. *Ecological Engineering* 35, 1090-1103.
- Cui, B., Zhang, Q., Zhang, K., Liu, X., Zhang, H. (2011). Analyzing trophic transfer of heavy metals for food webs in the newly-formed wetlands of the Yellow River Delta, China. *Environmental Pollution* 159(5), 1297–1306.

D

- Daga, C., Pierotto, M., y Prósperi, C. (2009). Cianobacterias de la cuenca del embalse San Roque, Córdoba, Argentina. XXII Congreso Nacional del Agua. Trelew. Argentina.
- Dalipi, R., Borgese, L., Zacco, A., Tsuji, K., Sangiorgi, E., Piro, R., Bontempi, E., Depero, L.E. (2015). Determination of trace elements in Italian wines by means of total reflection X-ray fluorescence spectroscopy. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 95, 1208-1218.
- Da Riva, M., Meyer Paz, R., Serena, J., Stivala, P., Mina, R., Masia, F., ..., Pardini, C. R. (2016). Caracterización de los tambos de la cuenca lechera noreste de la provincia de Córdoba. Estructura Productiva y nivel tecnológico.

- Dehn, L. A., Follmann, E. H., Thomas, D. L., Sheffield, G. G., Rosa, C., Duffy, L. K., O'Hara, T. M. (2006). Trophic relationships in an Arctic food web and implications for trace metal transfer. *Science of the Total Environment* 362(1–3), 103–123.
- Dekov, K. M., Araújo, F., Van Grieken, R., Subramanian, V. (1998). Chemical composition of sediments and suspended matter from the Cauvery and Brahmaputra rivers (India). *Science of the Total Environment* 212, 89–105.
- De Marco, S. G., Botté, S. E., Marcovecchio, J. E. (2006). Mercury distribution in abiotic and biological compartments within several estuarine systems from Argentina: 1980–2005 period. *Chemosphere* 65(2), 213–223.
- Demirezen, D., Aksoy, A. (2004). Accumulation of heavy metals in *Typha angustifolia* (L.) and *Potamogeton pectinatus* (L.) living in Sultan Marsh (Kayseri, Turkey). *Chemosphere* 56, 685–696.
- DeNiro, M.J., Epstein, S. (1981). Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 45, 341–351.
- Denny, P. (1980). Solute movement in submerged angiosperms. *Biological Reviews* 55, 65–92. Fritioff, A., Greger, M., 2006. Uptake and distribution of Zn, Cu, Cd, and Pb in an aquatic plant *Potamogeton natans*. *Chemosphere* 63, 220–227.
- Di Paola Naranjo, R. D., Baroni, M. V., Podio, N. S., Rubinstein, H. R., Fabani, M. P., Badini, R. G., ..., Wunderlin, D. A. (2011). Fingerprints for main varieties of argentinean wines: Terroir differentiation by inorganic, organic, and stable isotopic analyses coupled to chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(14), 7854–7865.
- Dobrzanski, Z., Kolacz, R., Górecka, H., Chojnacka, K., Bartkowiak, A. (2005). The content of microelements and trace elements in raw milk from cows the Silesian region. *Polish Journal of Environmental Studies* 14(5), 685–689.

E

- EC. (2006). Regulation No. 1881/2006 of the European parliament and the council of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Communities, L364/5-24. Disponible online: <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:EN:PDF>.
- Evans, R. D. (2007). Soil nitrogen isotope composition. *Stable isotopes in ecology and environmental science*, 2, 83–98.

F

- Fabbrizzi, L. (2008). Communicating about Matter with Symbols: Evolving from Alchemy to Chemistry. *Journal of Chemical Education* 85(11), 1501.
- Farquhar, G. D., Ehleringer, J. R., Hubick, K. T. (1989). Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual review of plant biology* 40(1), 503–537.
- Faure, G., Mensing, T. (2005). *Isotopes. Principles and Applications* (Tercera edición). Editorial John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey, Estados Unidos.
- Fenech, C., Rock, L., Nolan, K., Tobin, J., Morrissey, A. (2012). The potential for a suite of isotope and chemical markers to differentiate sources of nitrate contamination: A review. *Water Research* 46, 2023–2041.

- Fernandes Azevedo, B., Barros Furieri, L., Pecanha, F.M., Wiggers, G.A., Frizera Vassallo, P., Ronacher Simoes, M., Fiorim, J., Rossi de Batista, P., Fioresi, M., Rossoni, L., Stefanon, L., Alonso, M.J., Salaices, M., Vassallo, D.V. (2012). Toxic effects of mercury on the cardiovascular and central nervous systems. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 1-11.
- Fitz, J., Wenzel, W. W. (2002). Arsenic transformations in the soil/rhizosphere/plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation. *Journal of Biotechnology* 99, 259-278.
- Fontanetto, H., Gambaudo, S., Keller, O., Sillón, M., Weder, E., Gianinetto, G., ..., Primario, C. P. H. A. C. (2011). Es necesaria una fertilización balanceada para lograr altas producciones de alfalfa. *Materia* 1200, 600.
- Fontúrbel, F., Molina, C., Richard, E. (2006). Evaluación rápida de la diversidad de fitoplancton en aguas eutróficas del lago Titikaka (Bolivia) y su uso como indicador del grado de contaminación. *Ciencia Abierta Internacional* 29(1), 1-12.
- France, R. L. (1995). Carbon-13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: foodweb implications. *Marine ecology progress series* 307-312.
- Francisca, F. M., Cebollada-Verdaguer, M. P., Carro-Pérez, M. E. (2006). Distribución espacial del Arsénico en las Aguas Subterráneas de la Provincia de Córdoba, Argentina. VIII Congreso de ALHSUD, Asociación Latinoamericana de Hidrología Subterránea para el Desarrollo. Paraguay.
- Fry, B. (2006). Isotope notation and measurement. In *Stable Isotope Ecology* (pp. 21-39). Springer, New York, NY.
- Freyre, L. R. (1976). Normas para la inspección y determinación del estado actual de ambientes pesqueros pampásicos. *ProBiota: Serie Documentos Relacionados*.
- Fritioff, A., Greger, M. (2006). Uptake and distribution of Zn, Cu, Cd, and Pb in an aquatic plant *Potamogeton natans*. *Chemosphere* 63, 220-227.

G

- Galanti, L.N., Amé, M.V., Wunderlin, D.A. (2013). Accumulation and detoxification dynamic of cyanotoxins in the freshwater shrimp *Palaemonetes argentinus*. *Harmful Algae* 27, 88-97.
- Gandolfi, G., Zerunian, S., Torricelli, P., Marconato, A. (1991). I pesci delle acque interne italiane, Ministero dell'Ambiente e Unione Zoologica Italiana. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato.
- García-Ruiz, S., Moldovan, M., Fortunato, G., Wunderli, S., Alonso, J. I. G. (2007). Evaluation of strontium isotope abundance ratios in combination with multi-elemental analysis as a possible tool to study the geographical origin of ciders. *Analytica chimica acta* 590(1), 55-66.
- Garzón, J. M., Torre, N. (2010). La cadena láctea en la provincia de Córdoba y en Argentina. Instituto de Estudios sobre la Realidad Argentina y Latinoamericana-IERAL. Fundación Mediterránea, 15.
- Gebbing, T., Schellberg, J., Kühbauch, W. (2004). Switching from grass to maize diet changes the C isotope signature of meat and fat during fattening of steers. In: *Land use systems in grassland dominated regions. Proceedings of the 20th General Meeting of the European Grassland Federation, Luzern, Switzerland, 1130-1132*.

- Giarratano, E., Gil, M. N., Marinho, C. H., Malanga, G. (2016). Metals from mine waste as potential cause of oxidative stress in burrowing crab *Neohelice granulata* from San Antonio bay. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 132, 68–76.
- Gioia, S. M. C. L., Babinski, M., Weiss, D. J., Spiro, B., Kerr, A. A. F. S., Veríssimo, T. G.,..., Prates, J. C. M. (2017). An isotopic study of atmospheric lead in a megacity after phasing out of leaded gasoline. *Atmospheric Environment* 149, 70-83.
- Giomi, F., Beltramini, M. (2007). The molecular heterogeneity of hemocyanin: its role in the adaptive plasticity of Crustacea. *Gene* 398(1), 192-201.
- Gladyshev, M.I., Sushchik, N.N., Anishchenko, O.V., Makhutova, O.N., Kalachova, G.S., Gribovskaya, I.V. (2009). Benefit-risk ratio of food fish intake as the source of essential fatty acids vs. heavy metals: A case study of Siberian grayling from the Yenisei River. *Food Chemistry* 115, 545-550.
- González Infante, A. (1988). El Plancton de las Aguas Continentales, Secretaría General de la O.E.A, U.S.A.
- González Sagrario, M., Aizpún de Moreno, J., Moreno, V., Escalante, A. (1998). Dynamics of organochlorine compounds in different trophic levels of Los Padres Pond in Argentina. I. Pesticides. *Environmental Science and Technology* 6(3), 153-170.
- Goyenola, G. (2007). Guía para la utilización de las Valijas Viajeras. Red de Monitoreo de Ambiental Participativo (RED MAPSA). Uruguay.
- Griboff, J., Morales, D., Bertrand, L., Bonansea, R.I., Monferrán, M.V., Asis, R., Wunderlin, D.A., Amé, M.V. (2014). Oxidative stress response induced by atrazine in *Palaemonetes argentinus*: The protective effect of vitamin E. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 108, 1–8.
- Guo, B., Jiao, D., Wang, J., Lei, K., Lin, C. (2016). Trophic transfer of toxic elements in the estuarine invertebrate and fish food web of Daliao River, Liaodong Bay, China. *Marine Pollution Bulletin* 113, 258–265.
- Gutiérrez-Chávez, A J. (2009). Concentración de metales pesados en leche cruda de vaca en la provincia de León, España. Tesis Doctoral. Universidad de León, 372.

H

- Hakanson, L. (1980). An ecological risk index for aquatic pollution control. A sedimentological approach. *Water Research* 14, 975–1001.
- Hallenbeck, W.H. (1993). Quantitative Risk Assessment for Environmental and Occupational Health. Lewis, Chelsea, MI.
- Han, F. X., Banin, A., Su, Y., Monts, D. L., Plodinec, M. J., Kingery, W. L., Triplett, G. E. (2002). Industrial age anthropogenic inputs of heavy metals into the pedosphere. *Naturwissenschaften* 89 (11), 497–504.
- Hargreaves, A.L., Whiteside, D.P., Gilchrist, G. (2011). Concentrations of 17 elements, including mercury, in the tissues, food and abiotic environment of arctic shorebirds. *Science of the Total Environment* 409, 3757–3770.
- Helmbrecht, J., López, F. (2000). Predictores físicos de la calidad del recurso en el Lago San Roque (Córdoba, Argentina). XIX Congreso Latinoamericano de Hidráulica, Córdoba.

- Hermansen, J., Baines, J., Kristensen, T., Gundersen, V. (2005). Major and trace elements in organically or conventionally produced milk. *Journal of Dairy Research* 72(3), 362.
- Heshmati, A., Karami-Momtaz, J., Nili-Ahmadabadi, A., Ghadimi, S. (2017). Dietary exposure to toxic and essential trace elements by consumption of wild and farmed carp (*Cyprinus carpio*) and Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*) in Iran. *Chemosphere* 173, 207-215.
- Hobson, K.A., Fisk, A., Karnovsky, N., Holst, M., Gagnon, J.M., Fortier, M. (2002). A stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) model for the North Water food web: implications for evaluating trophodynamics and the flow of energy and contaminants. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 49, 5131-5150.
- Hobson, K.A., Quirk, T.W. (2014). Effect of age and ration on diet-tissue isotopic ($\Delta^{13}\text{C}$, $\Delta^{15}\text{N}$) discrimination in striped skunks (*Mephitis mephitis*). *Isotopes in Environmental and Health Studies* 50, 1–7.
- Hoekstra, P.F., O'Hara, T.M., Fisk, A.T., Borga, K., Solomon, K.R., Muir, D.C. (2003). Trophic transfer of persistent organochlorine contaminants (OCs) within an Arctic marine food web from the southern Beauforte-Chukchi Seas. *Environmental Pollution* 124, 509-522.
- Holtan, H., Kamp-Nielsen, L., Stuanes, A. O. (1988). Phosphorus in soil, water and sediment: an overview. *Hydrobiologia* 170(1), 19-34.
- Hopenhayn-Rich, C., Browning, S.R., Hertz-Picciotto, I., Ferreccio, C., Peralta, C., Gibb, H. (2000). Chronic arsenic exposure and risk of infant mortality in two areas of Chile. *Environmental Health Perspectives* 108 (7), 667–673.
- Huang, X., Ke, C., Wang, W.X. (2008). Bioaccumulation of silver, cadmium and mercury in the abalone *Haliotis diversicolor* from water and food sources. *Aquaculture* 238, 194-202.
- Huang, G. Y., Wang, Y. S. (2010). Physiological and biochemical responses in the leaves of two mangrove plant seedlings (*Kandelia candel* and *Bruguiera gymnorrhiza*) exposed to multiple heavy metals. *Journal of Hazardous Materials* 182, 848–854.
- Huber, M. P. (2010). Distribución temporal del fitoplancton de una laguna del sur de la provincia de Córdoba y su relación con las variables ambientales (Tesis de licenciatura en Ciencias Biológicas). Universidad Nacional del Río Cuarto: Río Cuarto, Argentina.

I

- Ikemoto, T., Phuc Cam Tu, N., Watanabe, M, X., Okuda, N., Omori, K., Tanabe, S., Tuyen, B.C., Takeuchi, I. (2008). Analysis of biomagnification of persistent organic pollutants in the aquatic food web of the Mekong Delta, South Vietnam using stable carbon and nitrogen isotopes. *Chemosphere* 72, 104–114.
- Imperato, M., Adamo, P., Naimo, D., Arienzo, M., Stanzione, D., Violante, P. (2003). Spatial distribution of heavy metals in urban soils of Naples city (Italy). *Environmental Pollution* 124, 247–256.
- Islam, M.S., Ahmed, M.K., Al-Mamun, M.H. (2014). Determination of heavy metals in fish and vegetables in Bangladesh and health implications. *Human and Ecological Risk Assessment* 31(12), 1982–1992.
- Islam, M.S., Saito, T., Kurasaki, M. (2015). Phytofiltration of arsenic and cadmium by using an aquatic plant, *Micranthemum umbrosum*: Phytotoxicity, uptake kinetics, and mechanism. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 112, 193–200.

Iwegbue, C.M.A. (2014). A survey of metal contents in some popular brands of wines in the Nigerian market: estimation of dietary intake and target hazard quotients. *International Journal of Wine Research* 25, 144-157.

J

Jayaprakash, M., Senthil Kumar, R., Giridharan, L., Sujitha, S.B., Sarkar, S.K., Jonathan, M.P. (2015). Bioaccumulation of metals in fish species from water and sediments in macrotidal Ennore creek, Chennai, SE coast of India: A metropolitan city effect. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 120, 243–255.

Jara-Marini, M. E., Soto-Jiménez, M. F., Páez-Osuna, F. (2009). Trophic relationships and transference of cadmium, copper, lead and zinc in a subtropical coastal lagoon food web from SE Gulf of California. *Chemosphere* 77(10), 1366–1373.

JECFA, Evaluation of certain food additives and contaminants, Seventy-third Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additive. (2011). WHO Technical Report Series 960, Geneva, Switzerland.

Jiang, C.B., Yeh, C.Y., Lee, H.C., Chen, m.J., Hung, F.Y., Fang, S.S., (2010). Mercury concentration in meconium and risk assessment of fish consumption among pregnant women in Taiwan. *Science of the Total Environment* 408, 518–523.

Jiang, T.T., Pan, J.F., Pu, X.M., Wang, B., Pan, J.J. (2015). Current status of coastal wetlands in China: degradation, restoration, and future management. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 164, 265-275.

Joksimovic, D., Tomic, I., Stankovic, A. R., Jovic, M., Stankovic, S. (2011). Trace metal concentrations in Mediterranean blue mussel and surface sediments and evaluation of the mussels quality and possible risks of high human consumption. *Food Chemistry* 127(2), 632-637.

Jovic, M., Stankovic, S. (2014). Human exposure to trace metals and possible public health risks via consumption of mussels *Mytilus galloprovincialis* from the Adriatic coastal area. *Food and Chemical Toxicology* 70, 241–251.

Junk, W.J., Wantzen, K.M. (2006). Flood pulsing, and the development and maintenance of biodiversity in floodplains. In: Batzer, D.P., Sharitz, R.R. (Eds.), *Ecology of Freshwater and Estuarine Wetlands*. University of California Press, Berkeley, 407–435.

K

Kalay, M., Ay, Ö., Canli, M. (1999). Heavy Metal Concentrations in Fish Tissues from the Northeast Mediterranean Sea. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 63, 673–681.

Kamerman, L., Dasso, C. (2000). Caracterización Morfoclimática de la Cuenca del Río San Francisco (Provincia de Córdoba). XVIII Congreso Nacional del Agua, Termas de Río Hondo, Santiago del Estero.

Kanazawa, S., Sano, S., Koshiba, T., Ushimaru, T. (2000). Changes in antioxidants in cu- cumber cotyledons during natural senescence: comparison with those during dark induced senescence. *Physiologia Plantarum* 109, 211-216.

Kazantzis, G. (2000). Thallium in the environment and health effects. *Environmental Geochemistry and Health* 22, 275- 280.

Kelly, S., Heaton, K., Hoogewerff, J. (2005). Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis. *Trends in Food Science & Technology* 16(12), 555-567.

Kumar, D., Tripathi, D. K., Liu, S., Singh, V. K., Sharma, S., Dubey, N. K., ..., Chauhan, D. K. (2017). *Pongamia pinnata* (L.) pierre tree seedlings offer a model species for arsenic phytoremediation. *Plant Gene*. In press.

L

Ladislav, S., El-Mufleh, A., Gerente, C., Chazarenc, F., Andres, Y., Bechet, B. (2012). Potential of aquatic macrophytes as bioindicators of heavy metal pollution in urban stormwater runoff. *Water Air & Soil Pollution* 223, 877-888.

Lamaro, A.A., Mariñelarena, A., Torrusio, S.E., Sala, S.E. (2013). Water surface temperature estimation from Landsat 7 ETM+ thermal infrared data using the generalized single-channel method: Case study of Embalse del Río Tercero (Córdoba, Argentina). *Advances in Space Research* 51(3), 492-500.

Lante, A., Lomolino, G., Cagnin, M., Spettoli, P. (2006). Content and characterisation of minerals in milk and in Crescenza and Squacquerone Italian fresh cheeses by ICPOES. *Food Control* 17(3), 229-233.

Laurent, C., Feidt, C., Laurent, F. (2005). Contamination des sols: Transferts des sols vers les animaux. Les Ulis & Angers: EDP Sciences & ADEME Ed.

Laursen, K. H., Schjoerring, J. K., Olesen, J. E., Askegaard, M., Halekoh, U., Husted, S. (2011). Multielemental fingerprinting as a tool for authentication of organic wheat, barley, faba bean, and potato. *Journal of Agricultural and Food chemistry* 59(9), 4385-4396.

Ledesma, C., Bonansea, M., Rodriguez, C. M., Delgado, A. R. S. (2013). Determinación de indicadores de eutrofización en el embalse Río Tercero, Córdoba (Argentina). *Revista Ciencia Agronómica* 44(3), 419-425.

Lerda, D., Prospero, C. (1994). Consideraciones sobre la potabilización del agua para consumo humano en Río Tercero (Córdoba, Argentina). 1-42. Municipalidad de Marcos Juárez, Córdoba.

Lesage, E., Mundia, C., Rosseau, D.P.L., Van de Moortel, A.M.K., Du Laing, G., Meers, E., Tack, F.M.G., De Pauw, N., Verloo, M.G. (2007). Sorption of Co, Cu, Ni, and Zn from industrial effluents by the submerged aquatic macrophyte *Myriophyllum spicatum* L. *Ecological Engineering* 30, 320-325.

Lewis, M.A. (1995). Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. *Environmental Pollution* 87, 319-336.

Licata, P., Trombetta, D., Cristani, M., Giofre, F., Martino, D., Calo, M., Naccari, F. (2004). Levels of "toxic" and "essential" metals in samples of bovine milk from various dairy farms in Calabria, Italy. *Environment International* 30(1), 1-6.

Liu, J., Wu, H., Feng, J., Li, Z., Lin, G. (2014). Heavy metal contamination and ecological risk assessments in the sediments and zoobenthos of selected mangrove ecosystems, South China. *Catena* 119, 136-142.

Liu, Y., He, M., Chen, B., Hu, B. (2015). Simultaneous speciation of inorganic arsenic, selenium and tellurium in environmental water samples by dispersive liquid-liquid microextraction combined

with electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta* 142, 213-220.

Liu, Z., Wang, L. A., Xu, J., Ding, S., Feng, X., Xiao, H. (2017). Effects of different concentrations of mercury on accumulation of mercury by five plant species. *Ecological Engineering*, 106, 273-278.

López, A. M., Benedito, J. L., Miranda, M., Castillo, J. (2002). Interaction between Toxic and Essential Trace Totals in Cattle from a Region with Low Levels of pollution. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 42, 165-172.

López, H., Baigún, C., Iwaszkiw, J., Delfino, R., Padin, O. (2001). La cuenca del Salado: uso y posibilidades de sus recursos pesqueros. La Plata, Argentina: Ed. de la Universidad de La Plata.

López-Calderón, M. J., Figueroa-Viramontes, U., Fortis-Hernández, M., Núñez-Hernández, G., Ochoa-Martínez, E., Sanchez-Duarte, J. I. (2015). Evaluación de dosis equivalentes de fertilizante y estiércol en la producción de maíz forrajero (*Zea mays*). *Phyton* 84(1), 8-13.

Luchini, L., Quirós, R., Avendaño Salas, T. (1983). Cultivo del pejerrey (*Basilichthys bonariensis*) en estanques. *Memorias de la Asociación Latinoamericana de Acuicultura* 5(3), 581-587.

M

Maas, S., Lucot, E., Gimbert, F., Crini, N., Badot, P. M. (2011). Trace metals in raw cows' milk and assessment of transfer to Comté cheese. *Food Chemistry* 129, 7-12.

Maiz, I., Arambarri, I., Garcia, R., Millán, E. (2000). Evaluation of heavy metal availability in polluted soils by two sequential extraction procedures using factor analysis. *Environmental Pollution* 110, 3-9.

Malayeri, B.E., Chehregani, A., Yousefi, N., Lorestani, B. (2008). Identification of the hyper accumulator plants in copper and iron mine in Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11, 490-492.

Mancuso, W., Teran, J. C. (2008). El sector lácteo argentino. XXI Curso internacional de lechería para profesionales de América Latina, 13-26.

Marasinghe Wadige, C.P.M., Taylor, A.M., Maher, W.A., Ubrihien, R.P., Krikowa, F. (2014). Effects of lead-spiked sediments on freshwater bivalve, *Hyridella aus-tralis*: linking organism metal exposure-dose-response. *Aquatic Toxicology* 149 (0), 83-93.

Mariazzi, A. A., Donadelli, J. L., Arenas, P., Di Siervi, M. A., Bonetto, C. (1992). Impact of a nuclear power plant on water quality of Embalse del Río Tercero reservoir (Córdoba, Argentina). *Hydrobiologia* 246, 129-140.

Marín-Guirao, L., Lloret, J., Marin, A. (2008). Carbon and nitrogen stable isotopes and metal concentration in food webs from a mining-impacted coastal lagoon. *Science of the Total Environment* 393, 118-130.

Mariñelarena, A., Casco, M., Claps, M., Di Siervi, M., Donadelli, J., Colautti, D., ..., Dipolitto, A. (1998). Estudio Limnológico del Embalse del Río Tercero, Córdoba. Informe Final para Nucleoeléctrica Argentina SA.

- Mariñelarena, A., Donadelli, J., Hechem, M. (2014). Cambios en las características limnológicas del Embalse del Río Tercero por efecto de la invasión de *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae). *Biología Acuática* 30.
- Martínez, C. E., Motto, H. L. (2000). Solubility of lead, zinc and copper added to mineral soils. *Environmental Pollution* 107(1), 153–158.
- Martínez, R. J. G., Castellanos, R. J. Z., Rivera, G. M., Núñez, H. G., Faz, C. R. (2006). Contaminación por nitratos en acuíferos del norte de México y del Estado de Guanajuato. *Agrofaz* 6(3), 379-387.
- Martínez del Rio, C., Wolf, N., Carleton, S. A., Gannes, L. Z. (2009). Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. *Biological Reviews* 84(1), 91-111.
- Mazej, Z., Sayegh- Petkovsek S, A.L., Pokorny, B. (2010). Heavy metal concentrations in food chain of Lake Velenjsko jezero, Slovenia: an artificial lake from mining. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 58, 998–1007.
- McCarty, K.M., Hanh, H.T., Kim, K.W. (2011). Arsenic geochemistry and human health in South East Asia. *Reviews on Environmental Health* 26 (1), 71–78.
- McKean, C. J. P., Nagpal, N. K. (1991). Ambient water quality criteria for pH: technical appendix.
- Medina, F. N., Herranz, M. V. (2013). Uso de isótopos estables en investigaciones en ecología. *Ambiociencias*.
- Meharg, A. A., Hartley Whitaker, J. (2002). Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist* 154, 29- 43.
- Mehmood, T., Bibi, I., Shahid, M., Niazi, N. K., Murtaza, B., Wang, H.,..., Murtaza, G. (2017). Effect of compost addition on arsenic uptake, morphological and physiological attributes of maize plants grown in contrasting soils. *Journal of Geochemical Exploration*, 178, 83-91.
- Memon, A.R., Schroder, P. (2009). Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research* 16, 162–175.
- MERCOSUR/GMC. Res N°. 12/11: Reglamento técnico Mercosur sobre límites máximos de contaminantes inorgánicos en alimentos (derogación de la res. GMC 102/94 y N° 35/96). MERCOSUR; 2011.
- Micaroni, R.C.C.M., Bueno, M.I.M.S., Jardim, W.F. (2000). Compostos de mercurio. Revisao de metodos de determinacao, tratamento e descarte. *Química Nova* 23 (4), 487–495.
- Miglioranza, K., González Sagrario, M., Aizpún de Moreno, J., Moreno, V., Escalante, A., Osterrieth, M. (2002). Agricultural soil as a potential source of input of organochlorine pesticides into a nearby pond. *Environmental Science and Pollution Research* 9(4), 250- 256.
- Minagawa, M., Wada, E. (1984). Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: further evidence and the relation between d^{15}N and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48, 1135–1140.
- Minagri. (2014). Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación Argentina. Disponible online: [http:// www.minagri.gob.ar/site/pesca/index.php](http://www.minagri.gob.ar/site/pesca/index.php).

- Ministerio de Agroindustria. (2017). Subsecretaría de Lechería, Estadísticas, Producción primaria. Disponible online: http://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/ss_lecheria/estadisticas/_01_primaria/index.php.
- Miretzky, P., Saralegui, A., Cirelli, A.F. (2004). Aquatic macrophytes potential for the simultaneous removal of heavy metals (Buenos Aires, Argentina). *Chemosphere* 57, 997–1005.
- Mishra, V.K., Upadhyay, A.R., Pathak, V., Tripathi, B. D. (2008). Phytoremediation of Mercury and Arsenic from Tropical Opencast Coalmine Effluent Through Naturally Occurring. *Water Air & Soil Pollution* 192, 303–314.
- Molkentin, J. (2013). Applicability of organic milk indicators to the authentication of processed products. *Food Chemistry* 137, 25–30.
- Mondal, N. K., Das, C., Datta, J. K. (2015). Effect of mercury on seedling growth, nodulation and ultrastructural deformation of *Vigna radiata* (L) Wilczek. *Environmental Monitoring and Assessment* 187–241
- Monferrán, M.V., Agudo, J.A., Pignata, M.L., Wunderlin, D.A. (2009). Copper-induced response of physiological parameters and antioxidant enzymes in the aquatic macrophyte *Potamogeton pusillus*. *Environmental Pollution* 157, 2570–2576.
- Monferrán, M.V., Galanti, L.N., Bonansea, R.I., Amé, M. V., Wunderlin, D.A. (2011). Integrated survey of water pollution in the Suquía River basin (Córdoba, Argentina). *Journal of Environmental Monitoring* 13, 398–409.
- Monferrán, M.V., Pignata, M.L., Wunderlin, D.A. (2012). Enhanced phytoextraction of chromium by the aquatic macrophyte *Potamogeton pusillus* in presence of copper. *Environmental Pollution* 161, 15–22.
- Monferrán, M. V., Garnero, P., De Los Angeles Bistoni, M., Anbar, A. A., Gordon, G. W., Wunderlin, D. A. (2016). From water to edible fish. Transfer of metals and metalloids in the San Roque Reservoir (Córdoba, Argentina). Implications associated with fish consumption. *Ecological Indicators* 63, 48–60.
- Monferrán, M. V., Garnero, P.L., Wunderlin, D.A., de los Angeles Bistoni, M. (2016). Potential human health risks from metals and As via *Odontesthes bonariensis* consumption and ecological risk assessments in a eutrophic lake. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 129, 302–310.
- Monroy, M., Maceda-Veiga, A., de Sostoa, A. (2014). Metal concentration in water, sediment and four fish species from Lake Titicaca reveals a large-scale environmental concern. *Science of the Total Environment* 487, 233-244.
- Monteiro, M. T., Oliveira, R., Vale, C. (1995). Metal stress on the plankton communities of Sado River (Portugal). *Water Research*, 29(2), 695-701.
- Moreno, F.N., Anderson, C. W.N., Stewart, R. B., Robinson, B. H. (2008). Phytofiltration of mercury-contaminated water: Volatilization and plant-accumulation aspects. *Environmental and Experimental Botany* 62, 78–85.
- Morrone, J., Lopreto, E. (1995). Parsimony analysis of endemicity of freshwater Decapoda (Crustacea: Malacostraca) from Southern South America. *Neotropica* 41, 3-8.
- Municipalidad de Balnearia. (2017). Provincia de Córdoba. Disponible online: <http://www.balnearia.gob.ar/>

Muñoz, I., Romani, A., Rodrigues-Capítulo, A., González, J., García-Berthou, E. (2009). Relaciones tróficas en el ecosistema fluvial. Conceptos y técnicas en ecología fluvial. Fundación BBVA. España.

Murcott, S. (2012). Arsenic Contamination in the World —an International Sourcebook. IWAPublishing, London, UK.

Mutter, J., Naumann, J., Sadaghiani, C., Walach, H., Drasch, G. (2004). Amalgam studies: disregarding basic principles of mercury toxicity. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 207, 391–397.

N

Nakano, A., Uehara, Y., Yamauchi, A. (2003). Effect of organic and inorganic fertigation on yields, $\delta^{15}\text{N}$ values, and $\delta^{13}\text{C}$ values of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Saturn). In *Roots: The Dynamic Interface between Plants and the Earth* (343-349). Springer Netherlands.

Naranjo, J. A., Stern, C. R. (2004). Holocene tephrochronology of the southernmost part (42°30'–45°S) of the Andean Southern Volcanic Zone. *Revista geológica de Chile* 31(2), 224-240.

Navoni, J. A., De Pietri, D., Olmos, V., Gimenez, C., Bovi Mitre, G., de Titto, E., Villaamil Lepori, E.C. (2014). Human health risk assessment with spatial analysis: study of a population chronically exposed to arsenic through drinking water from Argentina. *Science of the Total Environment* 499, 166–174.

Nfon, E., Cousins, I.T., Järvinen, O., Mukherjee, A.B., Verta, M., Broman, D. (2009). Trophodynamics of mercury and other trace elements in a pelagic food chain from the Baltic Sea. *Science of the Total Environment* 407, 6267–6274.

Nicolli, H., Suriano, J., Gomez Peral, M., Ferpozzi, L. and Baleani, O. (1989). Groundwater contamination with arsenic and other trace elements in an area of the Pampa, Province of Córdoba, Argentina. *Environmental, Geology and Water Sciences* 14, 3–16.

Nikinmaa, M. (2014). Factors Affecting the Bioavailability of Chemicals. An Introduction to Aquatic Toxicology, Chapter 6. 65-72.

Nordberg, G. (2001). Metales: Propiedades químicas y toxicidad. Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. Tercera edición, Organización Internacional del trabajo (OIT), Ginebra.

Novara, N.J. (2003). Potamogetonaceae Dumort. In: Flora del valle de Lerma. Aportes Botánicos de Salta. *Serie Flora* 7, 1-4.

O

Ofukany, A.F.A., Wassenaar, L.I., Bond, A.L., Hobson, K.A. (2014). Defining fish community structure in Lake Winnipeg using stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{34}\text{S}$): Implications for monitoring ecological responses and trophodynamics of mercury & other trace elements. *Science of the Total Environment* 497–498, 239–249.

O'Leary, M.H. (1995). Environmental effects on carbon fractionation in terrestrial plants. In: Wada, E., Yoneyama, T., Minigawa, M., Ando, T., Fry, B.D. (Eds.), *Stable Isotopes in the Biosphere*. Kyoto University Press, Kyoto, 78-91.

Olguín, E. J-, Sánchez-Galván, G. (2012). Heavy metal removal in phytofiltration and phycoremediation: the need to differentiate between bioadsorption and bioaccumulation. *New Biotechnology* 30(1), 3–8.

Organización Mundial de la Salud (2011). Guidelines for drinking- water quality. Fourth edition. Disponible online: http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/dwqguidelines-4/en/

P

Pagnanelli, F., Moscardini, E., Giuliano, V., Toro, L. (2004). Sequential Extraction of Heavy Metals in River Sediments of an Abandoned Pyrite Mining Area: Pollution Detection and Affinity Series. *Environmental Pollution* 132,189-201.

Patra, R. C., Swarup, D., Kumar, P., Nandi, D., Naresh, R., Ali, S. L. (2008). Milk trace elements in lactating cows environmentally exposed to higher level of lead and cadmium around different industrial units. *Science of the Total Environment* 404(1), 36-43.

Peijnenburg, W. J., Teasdale, P. R., Reible, D., Mondon, J., Bennett, W. W., Campbell, P. G. (2014). Passive sampling methods for contaminated sediments: State of the science for metals. *Integrated environmental assessment and management* 10(2), 179-196.

Pekey, H., Karakas, D., Ayberk, S., Tolun, L., Bakoglu, M. (2004). Ecological risk assessment using trace elements from surface sediments of Izmit Bay (North- eastern Marmara Sea) Turkey. *Marine Pollution Bulletin* 48, 946-953.

Peng, K., Luo, CH., Lou, L., Li, X., Shen, Z. (2008). Bioaccumulation of heavy metals by the aquatic plants *Potamogeton pectinatus* L. and *Potamogeton malainus* Miq. and their potential use for contamination indicators and in wastewater treatment. *Science of the Total Environment* 392, 22-29.

Peng, X., Fan, Y., Jin, J., Xiong, S., Liu, J., Tang, C. (2017). Bioaccumulation and biomagnification of ultraviolet absorbents in marine wildlife of the Pearl River Estuarine, South China Sea. *Environmental Pollution* 225, 55–65.

Pérez-Carrera, A.L., Fernández-Cirelli, A. (2005). Arsenic concentration in water and bovine milk in Cordoba, Argentina. Preliminary results. *Journal of Dairy Research* 72(1), 122-124.

Pérez-Carrera, A. L., Arellano, F. E., Fernández-Cirelli, A. (2016). Concentration of trace elements in raw milk from cows in the southeast of Córdoba province, Argentina. *Dairy Science and Technology* 96(5), 591–602.

Peterson, B.J., Fry, B. (1987). Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 18, 293–320.

Pilon-Smits, E. (2005). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology* 56, 15–39.

Podio N.S., Baroni M.V., Badini R.G., Inga C.M., Ostera H.A., Cagnoni M., Gautier E.A., García P.P., Hoogewerff J., Wunderlin D.A. (2013). Elemental and Isotopic Fingerprint of Argentinean Wheat. Matching Soil, Water and Crop Composition to Differentiate Provenance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61, 3763-3773.

Potocnik, D., Necemer, M., Mazej, D., Jacimovic, R., Ogrinc, N. (2016). Multi-elemental composition of Slovenian milk: analytical approach and geographical origin determination. *Acta Imeko* 5(1), 15-21.

Prache, S., Cornu, A., Berdagué, J. L., Priolo, A. (2005). Traceability of animal feeding diet in the meat and milk of small ruminants. *Small Ruminant Research* 59(2), 157-168.

Prosi, F. (1989). Factors controlling biological availability and toxic effects of lead in aquatic organisms. *Science of the Total Environment* 79(2), 157-169.

Prosperi, C. H. (2002). Composición del fitoplancton del Embalse San Roque. *Revista Tecnológica de Ciencias* 13 (6), 8-10.

Q

Qian, J.H., Zayed, A., Zhu, M.L., Yu, M., Terry, N. (1999). Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: III. Uptake and accumulation of ten trace elements by twelve plant species. *Journal of Environmental Quality* 28 (5), 1448–1455.

Quirós, R., Drago, E. (1999). Environmental states of Argentinean lakes: an overview. *Lakes and Reservoirs, Research and Management* 4, 55–64.

Quirós, R. (2000). La eutrofización de las aguas continentales de Argentina. El agua en Iberoamérica: acuíferos, lagos y embalses. Fernández, A. (editor). Buenos Aires: CYTED, Subprograma XVII, Aprovechamiento y Gestión de Recursos Hídricos, 43-47.

R

Rahimi, E. (2013). Lead and cadmium concentrations in goat, cow, sheep, and buffalo milks from different regions of Iran. *Food Chemistry* 136(2), 389-391.

Rahman, M.A., Hasegawa, H. (2011). Aquatic arsenic: phytoremediation using floating macrophytes. *Chemosphere* 83, 633–646.

Rainbow, P. S. (2002). Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: Why and so what?. *Environmental Pollution* 120, 497–507.

Rajeshkumar, S., Liu, Y., Zhang, X., Ravikumar, B., Bai, G., Li, X. (2017). Studies on seasonal pollution of heavy metals in water, sediment, fish and oyster from the Meiliang Bay of Taihu Lake in China. *Chemosphere*.

Rastegari Mehr, M., Keshavarzi, B., Moore, F., Sharifi, R., Lahijanzadeh, A., Kermani, M. (2017). Distribution, source identification and health risk assessment of soil heavy metals in urban areas of Isfahan province, Iran. *Journal of African Earth Sciences* 132, 16–26.

Regier, N., Larras, F., Garcia Bravo, A., Ungureanu, V.G., Amouroux, D., Cosio, C. (2013). Mercury bioaccumulation in the aquatic plant *Elodea nuttallii* in the field and in microcosm: Accumulation in shoots from the water might involve copper transporters. *Chemosphere* 90, 595–602.

Reilly, C. (2004). *The Nutritional Trace Metals*. Blackwell Publishing Ltd. ISBN: 1-4051-1040-6.

Reinfelder, J.R., Fisher, N.S., Luoma, S.N., Nichols, J.W., Wang, W.X. (1998). Trace element trophic transfer in aquatic organisms: A critique of the kinetic model approach. *Science of the Total Environment* 219, 117–135.

Rengel, Z. (1989). Uptake of cations by annual ryegrass as related to cations adsorbed onto root exchange sites. *Journal of Plant Nutrition* 12, 839–858.

Ren-ju, S., Hui-li, T., Jian-guo, H., Xue-jun, G. (2015). Contents of Trace Metal Elements in Cow Milk Impacted by Different Feedstuffs. *Journal of Northeast Agricultural University* (English Edition) 22(3), 54–61.

Renou, J.P., Deponge, C., Gachon, P., Bonnefoy, J.C., Coulon, J.B., Garel, J.P., Vérité, R., Ritz, P. (2004). Characterization of animal products according to geographic origin and feeding diet

using nuclear magnetic resonance and isotope ratio mass spectrometry: cow milk. *Food Chemistry* 85, 63–66.

- Revenga, J.E., Campbell, L.M., Kyser, K., Klassen, K., Arribere, M.A., Ribeiro Guevara, S. (2011). Trophodynamics and distribution of silver in a Patagonia Montane Lake. *Chemosphere* 83, 265–270.
- Revenga, J. E., Campbell, L. M., Arribére, M. A., Guevara, S. R. (2012). Arsenic, cobalt and chromium food web biodilution in a Patagonia mountain lake. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 81, 1–10.
- Rezania, S., Taib, S.M., Din, M. F.M., Dahalan, F.A., Kamyaba, H. (2016). Comprehensive review on phytotechnology: Heavy metals removal by diverse aquatic plants species from wastewater. *Journal of Hazardous Materials* 318, 587–599.
- Ringuelet, R. A. (1942). Ecología alimenticia del pejerrey (*Odonthestes bonariensis*) con notas limnológicas sobre la laguna Chascomús. *Revista del Museo de La Plata II, Sec. Zool.* (17), 427–461.
- Robbins, C.T., Felicetti, L.A., Sponheimer, M. (2005). The effect of dietary protein quality on nitrogen isotope discrimination in mammals and birds. *Oecologia* 144, 534–540
- Robinson, D. (2001). $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle. *Trends in Ecology and Evolution* 16, 153–162.
- Robinson, B., Marchetti, M., Moni, C., Schroeter, L., van den Dijssel, C., Milne, G., Bolan, N., Mahimairaja, S. (2005). Arsenic accumulation by aquatic and terrestrial plants. In: Naidu, R., Smith, E., Owens, G., Bhattacharya, P., Nadebaum, P. (Eds.), *Managing Arsenic in the Environment: From Soil to Human Health*. CSIRO, Collingwood, Victoria, 235–247.
- Robinson, B., Kim, N., Marchetti, M., Moni, C., Schroeter, L., van den Dijssel, C., Milne, G., Clothier, B. (2006). Arsenic hyperaccumulation by aquatic macrophytes in the Taupo Volcanic Zone, New Zealand. *Environmental and Experimental Botany* 58, 206–215.
- Rodrigues, F.L., Bemvenuti, M. de A. (2011). Diet and feeding strategy of the silverside *Odonthestes bonariensis* (Valenciennes 1835) Atheriniformes: Atherinopsidae) from the Mirim Lagoon, Rio Grande do Sul, Brazil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 6, 161–169.
- Rodríguez Fuentes, H., Alejo, E. S., Sánchez, M. R., Vidales, J. A., Contreras, K. A. A., Turanzas, G. M., ..., de Nuevo León, A. (2005). Metales pesados en leche cruda de bovino. *Revista Salud Pública y Nutrición* 6(4).
- Rodríguez, M. I., Cossavella, A., Oroná, C., del Olmo, S., Larrosa, N., Rodríguez, A., ..., Pagot, M. (2000). Estudios preliminares de la calidad de agua y sedimentos del embalse San Roque relacionados al proceso de eutroficación. In XVIII Congreso Nacional del Agua. Santiago del Estero, Argentina.
- Rodríguez, M.I., Ruiz, M., Nadal, F., Halac, S., Olivera, P., Busso, F., Bonfanti, E. (2013). Monitoreo y calidad de agua del embalse San Roque (Cba, Argentina). Congreso Nacional del Agua.
- Rodriguez Reartes, S.B., Estrada, V., Bazán, R., Larrosa, N., Cossavella, A., López, A., Busso, F., Diaz, M.S. (2016). Evaluation of ecological effects of anthropogenic nutrient loading scenarios in Los Molinos reservoir through a mathematical model. *Ecological Modelling* 320, 393–406.

Romero-Aguilar, M., Colin-Cruz, A., Sánchez-Salinas, E., Ortiz-Hernández, M. A. (2009). Tratamiento de aguas residuales por un sistema piloto de humedales artificiales: evaluación de la remoción de la carga orgánica. *Revista internacional de contaminación ambiental* 25(3), 157-167.

Ruiz, M., Rodríguez, M., Ruibal Conti, A., Bustamante, A., Busso, F., Lerda, D., Halac, S., Nadal, F., Olivera, P., Sada, C. (2011). Aspectos de gestión ambiental y salud en el embalse San Roque (Córdoba). Congreso Nacional del Agua, Resistencia, Argentina.

S

Sabir, S. M., Khan, S. W., Hayat, I. (2003). Effect of environmental pollution on quality of meat in district Bagh, Azad Kashmir. *Pakistan journal of nutrition* 2(2), 98-101.

Sager, R.L. (2000). Agua para consumo de ruminates. EEA INTA San Luis. Serie Técnica N° 126.

Sahu, G. K., Upadhyay, S., Saho, B. B. (2012). Mercury induced phytotoxicity and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. *Physiology and Molecular Biology of Plant* 18, 21–31.

Sakakibara, M., Ohmori, Y., Ha, N.T.H., Sano, S., Sera, K. (2011). Phytoremediation of heavy metal contaminated water and sediment by *Eleocharis acicularis*. *Clean: Soil, Air, Water* 39, 735–741.

Sakata, M., Miwa, A., Mitsunobu, S., Senga, Y. (2014). Relationships between trace element concentrations and the stable nitrogen isotope ratio in biota from Suruga Bay, Japan. *Journal of Oceanography* 71, 141–149.

Samecka-Cymerman, R.B., Kempers, A.J. (1996). Bioaccumulation of heavy metals by aquatic macrophytes around Wroclaw, Poland. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 35, 242–247.

Sanchez, C., Suero, M., Castignani, H., Terán, J., Marino, M. (2012). La lechería argentina: estado actual y su evolución (2008 a 2011). Trabajo de investigación presentado en XLIII Reunión Anual de Economía Agraria. Corrientes, Argentina.

Schiff, K. C. (2000). Sediment chemistry on the mainland shelf of the Southern California Bight. *Marine Pollution Bulletin* 40(3), 268–270.

Seebaugh, D.R., Wallace, W.G. (2009). Assimilation and subcellular partitioning of elements by grass shrimp collected along an impact gradient. *Aquatic Toxicology* 93, 107–115.

Seiler, R.L. (2007). Synthesis of data from studies by the National Irrigation Water-Quality Program. *Journal of the American Water Resources Association* 32, 1233-1245.

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. (2017). Bovinos y Bubalinos, Informes y estadísticas, Tambos. Disponible online: <http://www.senasa.gov.ar/cadena-animal/bovinos-y-bubalinos/informacion/informes-y-estadisticas>.

Shahbazi, Y., Ahmadi, F., Fakhari, F. (2016). Voltammetric determination of Pb, Cd, Zn, Cu and Se in milk and dairy products collected from Iran: An emphasis on permissible limits and risk assessment of exposure to heavy metals. *Food Chemistry* 192, 1060–1067.

Sigee, D. (2005). Freshwater microbiology: biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the aquatic environment. John Wiley & Sons.

Silvers, K. M., Scott, K.M. (2002). Fish consumption and self-reported physical and mental health status. *Public Health Nutrition* 5, 427–431.

- Simsek, O., Gültekin, R., Öksüz, O., Kurultay, S. (2000). The effect of environmental pollution on the heavy metal content of raw milk. *Nahrung- Food* 44, 360–371.
- Singh, N., Ma, L. Q., Vu, J. C., Raj, A. (2009). Effects of arsenic on nitrate metabolism in arsenic hyperaccumulating and non-hyperaccumulating ferns. *Environmental Pollution* 157, 2300–2305.
- Singh, S., Parihar, P., Singh, R., Singh, V. P., Prasad, S. M. (2016). Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics. *Frontiers in Plant Science* 6, 1143.
- Singh, S., Sounderajan, S., Kumar, K., Fulzelea, D.P. (2017). Investigation of arsenic accumulation and biochemical response of in vitro developed *Vetiveria zizanioides* plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 145, 50-56.
- Sinha, D., Dey, S., Bhattacharya, R.K., Roy, M. (2007). In vitro mitigation of arsenic toxicity by tea polyphenols in human lymphocytes. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* 26, 207–220.
- Skinner, K., Wright, N., Porter-Goff, E. (2007). Mercury uptake and accumulation by four species of aquatic plants. *Environmental Pollution* 145, 234-237.
- Smedley P.L., Kinniburgh D.G., (2002). A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry* 17(5), 517-568.
- Smedley, P.L., Kinniburgh, D.G., Macdonald, D.M.J., Nicolli, H.B., Barros, A.J., Tullio, J.O., Pearce, J.M., Alonso, M.S. (2005). Arsenic associations in sediments from the loess aquifer of La Pampa, Argentina. *Applied Geochemistry* 20, 989–1016.
- Smedley, P., Kinniburgh, D. G. (2013). Arsenic in groundwater and the environment. In O. Selinus (Ed.). *Essentials of medical geology*, 279–310.
- Smith, A.H., Marshall, G., Liaw, J., Yuan, Y., Ferreccio, C., Steinmaus, C. (2012). Mortality in young adults following in utero and childhood exposure to arsenic in drinking water. *Environmental Health Perspectives* 120 (11), 1527–1531.
- Smolinska, B., Leszczynska, J. (2017). Photosynthetic pigments and peroxidase activity of *Lepidium sativum* L. during assisted Hg phytoextraction. *Environmental Science and Pollution Research* 1-10.
- Soares, V. A., Kus, M. M., Peixoto, A. L. C., Carrocci, J. S., Salazar, R. F., Izário Filho, H. J. (2010). Determination of nutritional and toxic elements in pasteurized bovine milk from Vale do Paraíba region (Brazil). *Food Control* 21(1), 45-49.
- Solan, T.D., Lindow, S.W. (2014). Mercury exposure in pregnancy: a review. *Journal of Perinatal Medicine* 42, 725–729.
- Solis, C., Isaac-Olive, K., Mireles, A., Vidal-Hernandez, M. (2009). Determination of trace metals in cow's milk from waste water irrigated areas in Central Mexico by chemical treatment coupled to PIXE. *Microchemical Journal* 91(1), 9-12.
- Spivak, E.D. (1997). Life history of a brackish-water population of *Palaemonetes argentinus* (Decapoda: Caridea) in Argentina. *Annales de Limnologie* 33, 179-190.

Sracek, O., Bhattacharya, P., Jacks, G., Gustafsson, J.P., von Brömssen, M. (2004). Behavior of arsenic and geochemical modeling of arsenic enrichment in aqueous environments. *Applied Geochemistry* 19(2), 169–180.

SSRHN. (2003). Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación, República Argentina. Niveles Guía Nacionales de Calidad de Agua Ambiente. Disponible online: http://www2.medioambiente.gov.ar/mlegal/residuos/dec831/dec831_93.htm.

Steinmaus, C. M., Ferreccio, C., Romo, J. A., Yuan, Y., Cortes, S., Marshall, G., ..., Smith, A. H. (2013). Drinking water arsenic in northern Chile: high cancer risks 40 years after exposure cessation. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 22 (4), 623–630.

Storelli, M.M., Barone, G., Storelli, A., Marcotrigiano, G.O. (2006). Trace metals in tissues of Mugilids (*Mugil auratus*, *Mugil capito*, and *Mugil labrosus*) from the Mediterranean Sea. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 77, 43-50.

Streets, D. G., Devane, M. K., Lu, Z., Bond, T. C., Sunderland, E. M., Jacob, D. J. (2011). All-time releases of mercury to the atmosphere from human activities. *Environmental science & technology* 45(24), 10485.

T

Tajkarimi, M., Faghih, M. A., Poursoltani, H., Nejad, A. S., Motallebi, A. A., Mahdavi, H. (2008). Lead residue levels in raw milk from different regions of Iran. *Food Control* 19(5), 495-498.

Taub, F. B. (2004). Fish 430 lectures (Biological Impacts of Pollutants on Aquatic Organisms), University of Washington College of Ocean and Fishery Sciences, Seattle, WA.

Teles Gomes, M.V., Rodrigues de Souza, R., Silva Teles, V., Araújo Mendes, E. (2014). Phytoremediation of water contaminated with mercury using *Typha domingensis* in constructed wetland. *Chemosphere* 103, 228–233.

Turismo Córdoba. (2017). La Localidad de Vicuña Mackenna, Córdoba. Disponible online: <http://www.turismocordoba.com.ar/vicunamackenna/laciudad.php>.

U

Ullrich, S.M., Tanton, T.W., Abdrashitova, S.A. (2001). Mercury in the aquatic environment: a review of factors affecting methylation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 31, 241–293.

Urrutia, R., Yevenes, M., Barra, R. (2002). Determinación de los niveles basales de metales traza en sedimentos de tres lagos andinos de Chile: Lagos Chungará, Laja y Castor. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química* 47(4), 457-467.

USEPA (US Environmental Protection Agency). (1989). Risk assessment guidance for superfund. In: Human Health Evaluation Manual Part A, Interim Final, vol. I. United States Environmental Protection Agency. Washington DC. EPA/540/1-89/002.

USEPA (US Environmental Protection Agency). (1991). Technical Support Document For Water Quality-based Toxics Control. Washington DC. EPA/505/2-90-001.

USEPA (US Environmental Protection Agency). (2000). Risk-based Concentration Table. United States Environmental Protection Agency. Philadelphia PA, Washington DC.

USEPA (US Environmental Protection Agency). (2010). Risk-Based Concentration Table. Disponible online: <http://www.epa.gov/reg3hwmd/risk/human/index.htm>.

USEPA (US Environmental Protection Agency). (2017). Human health risk assessment. Regional Screening Level (RSL) Summary Table. Disponible online: <https://www.epa.gov/risk/regional-screening-levels-rsls-generic-tables-june-2017>.

V

van de Merwe, J., Lee, S., Connolly, R., Pitt, K., Steven, A. (2016). Assessing temporal and spatial trends in estuarine nutrient dynamics using a multi-species stable isotope approach. *Ecological Indicators* 67, 338–345.

Vanderklift, M.A., Ponsard, S. (2003). Sources of variation in consumer-diet delta 15N enrichment: a meta-analysis. *Oecologia* 136, 169–182.

van Zinderen Bakker, E.M., J.F. Jaworski. (1980). Effects of vanadium in the Canadian environment. National Research Council of Canada, Associate Committee on Scientific Criteria for Environmental Quality, Subcommittee on Heavy Metals and Certain Other Compounds. NRCC No. 18132.

Velázquez, M., Pimentel, J., Ortega, M. (2011). Estudio de la distribución de boro en fuentes de agua de la cuenca del río Duero, México, utilizando análisis estadístico multivariado. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 27(1), 9-30.

Virtanen, J.K., Rissanen, T.H., Voutilainen, S., Tuomainen, S.P. (2007). Mercury as a risk factor for cardiovascular diseases. *Journal of Nutritional Biochemistry* 18, 75–85.

Vitoria, L., Otero, N., Soler, A., Canals, A. (2004). Fertilizer characterization: isotopic data (N, S, O, C, and Sr). *Environmental Science & Technology* 38(12), 3254-3262.

W

Walton, R. C., McCrohan, C. R., Livens, F., White, K. N. (2010). Trophic transfer of aluminium through an aquatic grazer–omnivore food chain. *Aquatic toxicology* 99(1), 93-99.

Wang, J., Feng, X., Anderson, C. W.N., Xing, Y., Shang, L. (2012). Remediation of mercury contaminated sites. *Journal of Hazardous Materials* 221–222, 1–18.

Weber, P., Behr, E.R., Knorr, C.D.L., Vendruscolo, D.S., Flores, E.M.M., Dressler, V.L., Baldisserotto, B. (2013). Metals in the water, sediment, and tissues of two fish species from different trophic levels in a subtropical Brazilian river. *Microchemical Journal* 106, 61–66.

Wetzel, R. G., Likens, G. E. (1991). *Limnological Analysis*. 2nd ed. Springer-Verlag, New York, 391.

Wuana, R. A., Okieimen, F. E. (2011). Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. *International Scholarly Research Notices Ecology* 1–20.

X

Xie, L.T., Funk, D.H., Buchwalter, D.B. (2010). Trophic transfer of Cd from natural periphyton to the grazing mayfly *Centroptilum triangulifer* in a life cycle test. *Environmental Pollution* 158, 272-277.

Xue, D., Botte, J., De Baets, B., Accoe, F., Nestler, A., Taylor, P., Van Cleemput, O., Berglund, M., Boeckx, P. (2009). Present limitations and future prospects of stable isotope methods for nitrate source identification in surface- and groundwater. *Water Research* 43 (5), 1159-1170.

Xylander, M., Hagen, C., Braune, W. (1996). Mercury increases light susceptibility in the green alga *Haematococcus lacustris*. *Botanica Acta* 109, 222–228.

Y

Yang, X.E., Long, X.X., Ni, W.Z., Ye, Z.Q., He, Z.L., Stoffella, P.J., Calvert, D.V. (2002). Assessing copper threshold for phytotoxic and potential dietary toxicity in selected vegetable crops. *Journal of Environmental Science and Health B37*, 625-635.

Yi, Y., Yang, Z., Zhang, S. (2011). Ecological risk assessment of heavy metals in sediment and human health risk assessment of heavy metals in fishes in the middle and lower reaches of the Yangtze River basin. *Environmental Pollution* 159, 2575–2585.

Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q., Ma, L.Q. (2006). Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the Total Environment* 368, 456–464.

Yoshioka, T., Wada, E., Hayashi, H. (1994). A stable isotope study on seasonal food web dynamics in a eutrophic lake. *Ecology* 75, 835-846.

Z

Zain, S. M., Behkami, S., Bakirdere, S., Koki, I. B. (2016). Milk authentication and discrimination via metal content clustering - A case of comparing milk from Malaysia and selected countries of the world. *Food Control* 66, 306–314.

Zhang, X., Hu, Y., Liu, Y., Chen, B. (2011). Arsenic uptake, accumulation and phytofiltration by duckweed (*Spirodela polyrhiza* L.). *Journal of Environmental Sciences* 23(4) 601–606.

Zhang, X., Yang, X., Wang, H., Li, Q., Wang, H., Li, Y. (2017). A significant positive correlation between endogenous trans-zeatin content and total arsenic in arsenic hyperaccumulator *Pteris cretica* var. *nervosa*. *Ecotoxicology and environmental safety* 138, 199-205.

Zhang, Z., Wang, J. J., Ali, A., DeLaune, R. D. (2016). Heavy metals and metalloid contamination in Louisiana Lake Pontchartrain Estuary along I-10 Bridge. *Transportation Research Part D: Transport and Environment* 44, 66-77.

Zhao, F.J., Ma, J.F., Meharg, A.A., McGrath, S.P. (2009). Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist* 181, 777–794.

Zhuang, P., Yang, Q., Wang, H., Shu, W. (2007). Phytoextraction of heavy metals by eight plant species in the field. *Water Air & Soil Pollution* 184, 235–242.

ANEXO I

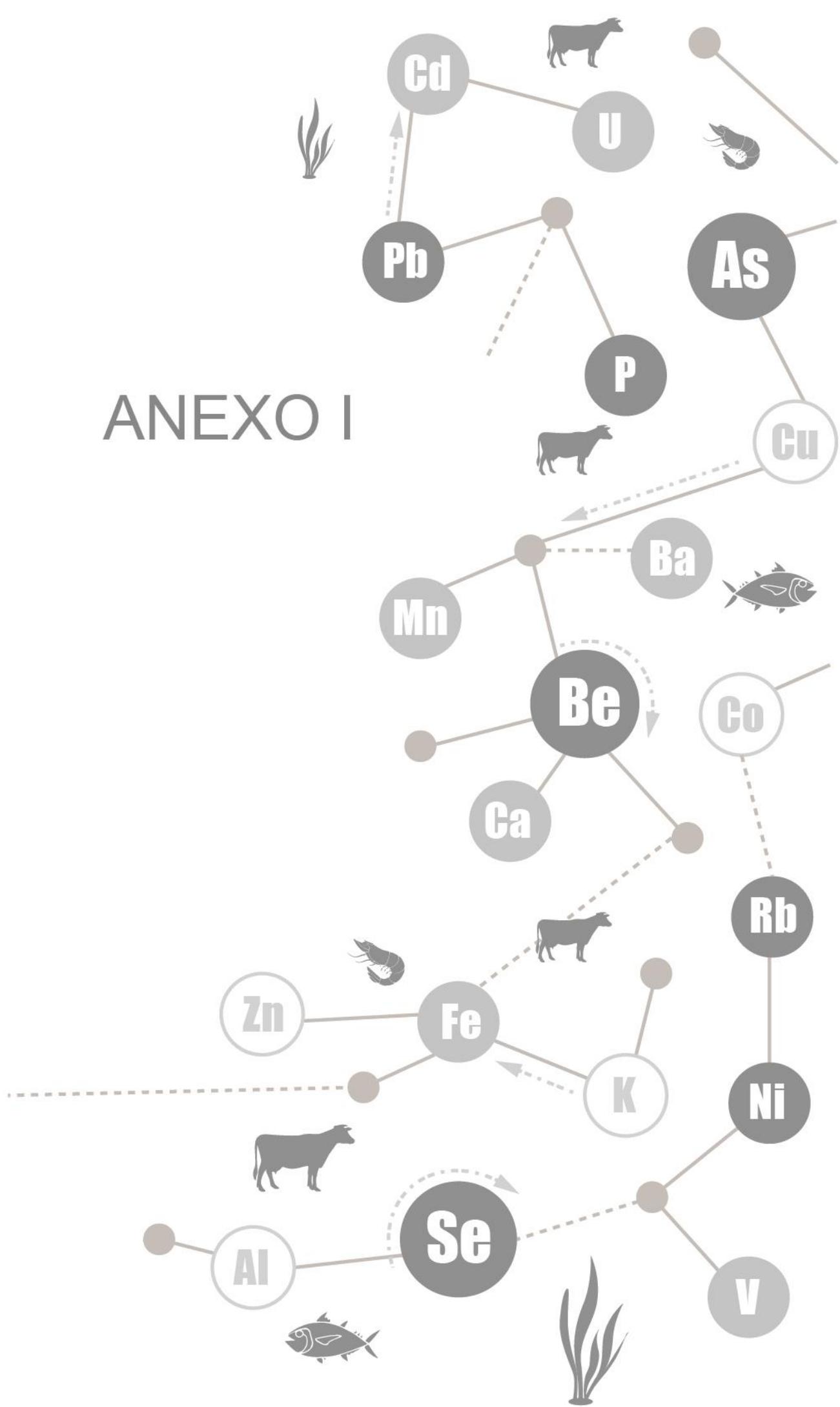


Tabla 1.

Concentraciones de elementos en muestras de agua de bebida animal ($\mu\text{g.L}^{-1}$) – ESTACIÓN HÚMEDA. Valores indicados como Media \pm DE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas en la concentración de un elemento entre los distintos tambos.

Elemento	TAMBO 1	TAMBO 2	TAMBO 3	TAMBO 4	TAMBO 5	TAMBO 6	TAMBO 7	TAMBO 8
Ag	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Al	9,0 \pm 0,3 ^{DE}	16 \pm 2 ^{CD}	249 \pm 9 ^A	22 \pm 5 ^C	57 \pm 6 ^B	11 \pm 1 ^{DE}	8,0 \pm 0,2 ^{DE}	5,5 \pm 0,1 ^E
As	74 \pm 1 ^C	62 \pm 1 ^E	119 \pm 3 ^B	65,1 \pm 0,5 ^D	2,4 \pm 0,1 ^H	32 \pm 1 ^F	13,5 \pm 0,2 ^G	350 \pm 2 ^A
B	983 \pm 5 ^F	1213 \pm 4 ^E	3332 \pm 6 ^B	(267 \pm 3) $\times 10^1$ ^C	60 \pm 6 ^G	181 \pm 1 ^G	(194 \pm 2) $\times 10^1$ ^D	(119 \pm 2) $\times 10^2$ ^A
Ba	17,2 \pm 0,2 ^E	15,2 \pm 0,2 ^F	72,8 \pm 0,5 ^A	64 \pm 1 ^B	10,9 \pm 0,1 ^H	43,3 \pm 0,4 ^C	14,1 \pm 0,2 ^G	26,6 \pm 0,4 ^D
Be	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Ca	(2748 \pm 3) $\times 10^1$ ^F	(41 \pm 1) $\times 10^3$ ^D	(92 \pm 3) $\times 10^3$ ^B	(101 \pm 1) $\times 10^3$ ^A	(1532 \pm 8) $\times 10^1$ ^G	(291 \pm 7) $\times 10^2$ ^F	(325 \pm 7) $\times 10^2$ ^E	(620 \pm 5) $\times 10^2$ ^C
Cd	<LD	<LQ	0,16 \pm 0,01 ^B	0,11 \pm 0,01 ^{BC}	<LD	<LQ	0,062 \pm 0,002 ^C	1,09 \pm 0,05 ^A
Co	<LQ	<LD	1,09 \pm 0,05 ^A	0,88 \pm 0,02 ^B	<LD	<LD	<LD	0,100 \pm 0,004 ^C
Cr	0,12 \pm 0,03 ^D	0,18 \pm 0,01 ^D	5,4 \pm 0,2 ^B	5,5 \pm 0,1 ^B	0,17 \pm 0,01 ^{CD}	0,38 \pm 0,01 ^D	0,5 \pm 0,03 ^C	33,1 \pm 0,4 ^A
Cu	0,9 \pm 0,2 ^C	1,7 \pm 0,2 ^C	2,7 \pm 0,3 ^{BC}	320 \pm 4 ^A	5,2 \pm 0,8 ^B	0,8 \pm 0,2 ^C	0,8 \pm 0,1 ^C	1,6 \pm 0,1 ^C
Fe	65 \pm 3 ^D	252 \pm 7 ^A	133 \pm 4 ^B	70 \pm 5 ^D	42 \pm 4 ^F	<LQ	52 \pm 3 ^E	83 \pm 2 ^C
Hg	<LD	<LQ	<LQ	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LQ
K	(967 \pm 2) $\times 10^1$ ^F	(128 \pm 3) $\times 10^2$ ^D	(38 \pm 1) $\times 10^3$ ^C	(543 \pm 5) $\times 10^2$ ^B	(304 \pm 5) $\times 10^1$ ^H	(68 \pm 2) $\times 10^2$ ^G	(111 \pm 3) $\times 10^2$ ^E	(744 \pm 8) $\times 10^2$ ^A
Li	72 \pm 1 ^F	85 \pm 2 ^E	165 \pm 4 ^B	277 \pm 3 ^A	11,1 \pm 0,2 ^H	29,7 \pm 0,2 ^G	99 \pm 2 ^D	112 \pm 1 ^C
Mg	(846 \pm 5) $\times 10^1$ ^G	(130 \pm 2) $\times 10^2$ ^E	(39 \pm 1) $\times 10^3$ ^C	(515 \pm 8) $\times 10^2$ ^B	2446 \pm 5 ^H	(99 \pm 2) $\times 10^2$ ^F	(1572 \pm 3) $\times 10^2$ ^D	(835 \pm 5) $\times 10^2$ ^A
Mn	58,3 \pm 0,5 ^C	103 \pm 2 ^B	147 \pm 4 ^A	47,6 \pm 0,4 ^E	<LD	12,6 \pm 0,3 ^F	49 \pm 1 ^{DE}	52,2 \pm 0,4 ^D
Mo	40 \pm 1 ^D	44,6 \pm 0,5 ^C	82,7 \pm 0,5 ^B	27 \pm 1 ^F	<LQ	19,1 \pm 0,3 ^G	34,1 \pm 0,3 ^E	958 \pm 6 ^A
Na	(381 \pm 3) $\times 10^3$ ^E	(393 \pm 6) $\times 10^3$ ^E	(146 \pm 4) $\times 10^4$ ^B	(119 \pm 2) $\times 10^4$ ^C	(118 \pm 2) $\times 10^2$ ^G	(54 \pm 1) $\times 10^3$ ^F	(106 \pm 2) $\times 10^4$ ^D	(316 \pm 2) $\times 10^4$ ^A
Ni	<LQ	0,51 \pm 0,03 ^B	1,4 \pm 0,1 ^A	1,4 \pm 0,5 ^A	0,96 \pm 0,06 ^{AB}	<LQ	1,15 \pm 0,04 ^{AB}	1,05 \pm 0,07 ^{AB}
Pb	0,16 \pm 0,03 ^D	0,20 \pm 0,03 ^D	1,01 \pm 0,02 ^B	0,64 \pm 0,04 ^C	1,97 \pm 0,09 ^A	0,21 \pm 0,01 ^D	0,26 \pm 0,03 ^D	<LD
Rb	2,28 \pm 0,01 ^F	2,99 \pm 0,06 ^E	10,2 \pm 0,3 ^C	13,7 \pm 0,2 ^B	0,96 \pm 0,03 ^H	1,64 \pm 0,04 ^G	3,39 \pm 0,05 ^D	19,4 \pm 0,3 ^A
Se	<LD	<LD	4,5 \pm 0,4 ^B	2,26 \pm 0,01 ^B	<LD	<LD	<LD	38 \pm 2 ^A
Sr	643 \pm 2 ^E	(94 \pm 2) $\times 10^1$ ^D	(214 \pm 6) $\times 10^1$ ^C	(285 \pm 4) $\times 10^1$ ^B	67 \pm 1 ^G	337 \pm 8 ^F	(61 \pm 1) $\times 10^1$ ^E	(305 \pm 3) $\times 10^1$ ^A
Tl	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
V	2,7 \pm 0,2 ^{EF}	0,15 \pm 0,01 ^F	173 \pm 5 ^B	136 \pm 1 ^C	6,6 \pm 0,1 ^E	52 \pm 1 ^D	0,18 \pm 0,01 ^F	515 \pm 5 ^A
Zn	7,6 \pm 0,8 ^E	11 \pm 3 ^D	20,8 \pm 0,6 ^C	67,1 \pm 0,4 ^A	25 \pm 4 ^B	6,6 \pm 0,7 ^E	15 \pm 1 ^D	6,13 \pm 0,05 ^E

Tabla 2.

Concentraciones de elementos en muestras de agua de bebida animal ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) - ESTACIÓN SECA. Valores indicados como Media \pm DE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas en la concentración de un elemento entre los distintos tambos.

Elemento	TAMBO 1	TAMBO 3	TAMBO 4	TAMBO 5	TAMBO 7	TAMBO 8
Ag	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Al	<LQ	20 \pm 3 ^B	7 \pm 1 ^C	23 \pm 4 ^B	24 \pm 2 ^B	37 \pm 3 ^A
As	71 \pm 2 ^C	65 \pm 2 ^D	118 \pm 3 ^B	2,5 \pm 0,3 ^F	5,4 \pm 0,5 ^E	213 \pm 4 ^A
B	(101 \pm 2) $\times 10^{1D}$	(275 \pm 5) $\times 10^{1C}$	(35 \pm 1) $\times 10^{2B}$	98 \pm 12 ^F	(84 \pm 5) $\times 10^{1E}$	(131 \pm 2) $\times 10^{2A}$
Ba	14,4 \pm 0,2 ^C	64 \pm 1 ^A	36 \pm 1 ^B	12,0 \pm 0,3 ^D	5,4 \pm 0,3 ^F	7,8 \pm 0,1 ^E
Be	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Ca	(262 \pm 4) $\times 10^{2D}$	(103 \pm 3) $\times 10^{3A}$	(54 \pm 1) $\times 10^{3C}$	(204 \pm 8) $\times 10^{2E}$	(117 \pm 6) $\times 10^{2F}$	(84 \pm 2) $\times 10^{3B}$
Cd	<LD	<LD	0,05 \pm 0,01 ^B	<LD	<LD	1,0 \pm 0,1 ^A
Co	<LQ	1,38 \pm 0,04 ^A	0,19 \pm 0,01 ^B	<LQ	<LD	<LQ
Cr	0,03 \pm 0,01 ^C	6,2 \pm 0,1 ^B	6,3 \pm 0,1 ^B	0,032 \pm 0,005 ^C	<LQ	32 \pm 1 ^A
Cu	<LD	4,0 \pm 0,3 ^B	3,8 \pm 0,3 ^B	1,4 \pm 0,3 ^C	0,6 \pm 0,1 ^D	5,4 \pm 0,2 ^A
Fe	<LQ	75 \pm 3 ^A	42 \pm 3 ^C	<LQ	<LQ	55 \pm 2 ^B
Hg	<LQ	<LQ	<LD	<LQ	<LD	<LQ
K	(97 \pm 1) $\times 10^{2D}$	(59 \pm 2) $\times 10^{3B}$	(357 \pm 7) $\times 10^{2C}$	(30 \pm 1) $\times 10^{2F}$	(44 \pm 2) $\times 10^{2E}$	(67 \pm 1) $\times 10^{3A}$
Li	76 \pm 1 ^D	325 \pm 7 ^A	176 \pm 5 ^C	17,7 \pm 0,5 ^F	44 \pm 2 ^E	220 \pm 3 ^B
Mg	(84 \pm 1) $\times 10^{2D}$	(58 \pm 2) $\times 10^{3B}$	(315 \pm 7) $\times 10^{2C}$	(38 \pm 1) $\times 10^{2F}$	(54 \pm 3) $\times 10^{2E}$	(133 \pm 2) $\times 10^{3A}$
Mn	22,7 \pm 0,3 ^A	23 \pm 1 ^A	0,48 \pm 0,04 ^C	<LD	19 \pm 1 ^B	0,8 \pm 0,1 ^C
Mo	20,9 \pm 0,5 ^C	16,4 \pm 0,4 ^D	69 \pm 1 ^B	<LQ	6,3 \pm 0,3 ^E	566 \pm 10 ^A
Na	(366 \pm 5) $\times 10^{3C}$	(121 \pm 3) $\times 10^{4B}$	(121 \pm 2) $\times 10^{4B}$	(198 \pm 9) $\times 10^{2D}$	(39 \pm 2) $\times 10^{4C}$	(362 \pm 5) $\times 10^{4A}$
Ni	0,20 \pm 0,02 ^E	1,47 \pm 0,04 ^A	0,4 \pm 0,1 ^C	0,31 \pm 0,03 ^D	0,19 \pm 0,03 ^E	0,80 \pm 0,05 ^B
Pb	<LD	0,59 \pm 0,05 ^A	0,20 \pm 0,04 ^C	0,07 \pm 0,01 ^D	0,25 \pm 0,02 ^B	0,07 \pm 0,02 ^D
Rb	2,3 \pm 0,1 ^D	14,2 \pm 0,2 ^B	9,5 \pm 0,1 ^C	0,99 \pm 0,05 ^F	1,4 \pm 0,1 ^E	20,5 \pm 0,4 ^A
Se	<LD	3,2 \pm 0,6 ^B	5 \pm 1 ^B	<LQ	<LQ	42 \pm 3 ^A
Sr	615 \pm 6 ^D	(297 \pm 6) $\times 10^{1B}$	(173 \pm 3) $\times 10^{1C}$	93 \pm 3 ^F	(22 \pm 1) $\times 10^{1E}$	(485 \pm 7) $\times 10^{1A}$
Tl	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
V	2,40 \pm 0,05 ^{DE}	134 \pm 3 ^C	178 \pm 4 ^B	6,2 \pm 0,2 ^D	0,22 \pm 0,03 ^E	531 \pm 9 ^A
Zn	<LD	9,4 \pm 2,1 ^B	6 \pm 1 ^C	<LD	9,4 \pm 0,9 ^B	44 \pm 3 ^A

Tabla 3. Análisis de componentes principales en muestras de agua, suelo, leche y forraje, durante estación húmeda y seca.

Componente	Agua (EH)							Agua (ES)					Suelo (EH)							Suelo (ES)				
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5
Autovalor	9,21	6,56	3,34	1,59	1,21	0,75	0,33	15,38	5,63	1,86	0,94	0,2	12,33	7,03	3,2	1,11	0,65	0,39	0,29	11,64	6,88	3,35	1,77	0,36
Proporción de varianza total	0,4	0,29	0,15	0,07	0,05	0,03	0,01	0,64	0,23	0,08	0,04	0,01	0,49	0,28	0,13	0,04	0,03	0,02	0,01	0,48	0,29	0,14	0,07	0,02
Proporción de variación acumulada	0,4	0,69	0,83	0,9	0,95	0,99	1	0,64	0,88	0,95	0,99	1	0,49	0,77	0,9	0,95	0,97	0,99	1	0,48	0,77	0,91	0,98	1

Componente	Forraje (EH)							Forraje (ES)					Leche (EH)							Leche (ES)				
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5
Autovalor	9,21	6,56	3,34	1,59	1,21	0,75	0,33	12,3	5,4	2,91	1,37	1,02	9,56	4,11	2,93	2,06	1,38	0,81	0,16	8,9	7,71	2,75	1,6	1,04
Proporción de varianza total	0,4	0,29	0,15	0,07	0,05	0,03	0,01	0,53	0,23	0,13	0,06	0,04	0,46	0,2	0,14	0,1	0,07	0,04	0,01	0,4	0,35	0,13	0,07	0,05
Proporción de variación acumulada	0,4	0,69	0,83	0,9	0,95	0,99	1	0,53	0,77	0,9	0,96	1	0,46	0,65	0,79	0,89	0,95	0,99	1	0,4	0,76	0,88	0,95	1

Tabla 4.

Valores de los autovectores obtenidos por el análisis de componentes principales de muestras de agua, suelo, forraje y leche, en estación húmeda y seca.

Elemento	Agua (EH)		Agua (ES)		Suelo (EH)		Suelo (ES)		Forraje (EH)		Forraje (ES)		Leche (EH)		Leche (ES)	
	e1	e2	e1	e2	e1	e2	e1	e2	e1	e2	e1	e2	e1	e2	e1	e2
Ag					0,26	-0,2	0,22	-0,23								
Al	0,05	0,23	0,15	-0,1	0,2	0,25	0,15	0,3	0,24	-0,17	0,26	-0,19	0,17	-0,37	0,31	-0,15
As	0,26	-0,17	0,23	-0,1	0,18	0,18	0,09	0,34	0,25	0	0,25	-0,16			0,15	-0,32
B	0,27	-0,15	0,24	-0,13	0,14	0,33	0,14	0,25	0,25	-0,08	0,07	0,42	0,08	0,42	0,08	-0,24
Ba	0,12	0,3	0,05	0,39	0,15	0,09	0,26	-0,13	0,27	-0,17	0,24	0,11	0,21	0,14	0,33	-0,04
Be					0,22	0,05	0,24	0,07								
Ca	0,2	0,28	0,21	0,22	0,1	0,33	0,21	0,21	0,28	-0,14	0,1	0,35	0,26	0,12	0,18	0,3
Cd	0,25	-0,2	0,22	-0,2	0,28	-0,11	0,22	-0,23	0,19	0,34	0,19	-0,04				
Co	0,13	0,35	0,06	0,4	0,23	-0,25	0,22	-0,23	0,25	0,27	0,27	-0,15	0,19	-0,32	0,15	-0,32
Cr	0,26	-0,17	0,24	-0,13	0,19	0,08	0,24	0,2	0,14	0,35	0,26	-0,19	-0,23	0,05	-0,07	0,15
Cu	0,08	0,28	0,24	0,08	0,3	-0,07	0,29	0,06	0,12	0,22	0,17	0,24	-0,26	0,05	-0,14	0,22
Fe	0,03	0,06	0,21	0,24	0,17	-0,12	-0,17	0,19	0,28	0,09	0,26	-0,19	0,27	-0,04	0	-0,21
Hg					0,09	-0,15			0,04	-0,11	0	-0,06	-0,12	0,15		
K	0,28	0,04	0,24	0,13	0,11	0,15	0,14	-0,11	0,24	0,02	0,2	0,28	0,16	0,24	0,14	0,34
Li	0,17	0,3	0,19	0,27	0,11	0,32	0,08	0,32	0,23	-0,23	0,21	0,11	0,24	-0,31	0,34	-0,01
Mg	0,29	0	0,25	-0,04	0,1	0,36	0,21	0,17	0,03	0,26	0,16	0,23	0,24	0,25	0,13	0,32
Mn	0,09	0,16	-0,08	0,22	0,23	-0,18	0,24	-0,2	0,22	0,1	0,28	-0,11	0,2	-0,33	0,34	0,01
Mo	0,24	-0,24	0,23	-0,2					0,19	0,27	0,06	0,23	-0,14	0,03	-0,02	-0,26
Na	0,27	-0,07	0,25	-0,08	0,03	0,28	0,1	0,35	0,22	-0,23	0,12	0,26	0,3	-0,12	0,26	0,24
Ni	0,16	0,22	0,16	0,3	0,31	-0,03	0,28	-0,09	0,14	0,37	0,25	0,03	-0,28	-0,03	0,2	0,12
Pb	-0,07	0,2	0,04	0,37	0,25	-0,2	0,26	-0,13	0,13	0,06	0,26	-0,19	-0,21	-0,02	0,25	-0,08
Rb	0,28	0,04	0,25	0,07	-0,06	-0,05	0,05	0,09	0,2	-0,1	0,27	0,04	0,19	0,32	0,28	0,13
Se	0,25	-0,21	0,23	-0,17	0,3	-0,11	0,26	-0,01					-0,03	-0,11	-0,11	0,12
Sr	0,27	0,11	0,25	0,04	0,28	-0,03	0,25	-0,17	0,27	-0,21	0,11	0,32	0,23	-0,03	0,29	0,07
V	0,27	-0,11	0,25	-0,1	0,21	0,06	0,11	0,2	0,24	-0,11	0,26	-0,19	0,24	0,13	0,25	-0,24
Zn	0,06	0,34	0,23	-0,14	0,08	0,3	0,18	0,15	-0,07	0,28	0,14	0,14	0,23	0,25	0,08	0,2

Tabla 5.

Valores guía para elementos inorgánicos presentes en distintas matrices

Elemento	Agua de bebida animal (µg.L⁻¹) *	Calidad de suelo para uso agrícola (µg.g⁻¹) *	Alimentación animal (µg.g⁻¹) **	Leche fluida (µg.g⁻¹) ***
Ag		20		
Al	5000			
As	500	20	2	0,05
B	5000	2		
Ba		750		
Be		4		
Cd	20		1	0,05
Co	1000	40		
Cr	1000	750		
Cu	1000	150		
Hg	3	0,8	0,1	
Mo	500	5		
Ni	1000	150		
Pb	100	375	5	0,02
Se	50	2		
Tl		1		
V	100	200		
Zn	50	600		

* : Ley 24.051 (Decreto 831/93)

** : Reglamentación Unión Europea (RES. N° 1275/2013)

*** : Reglamentación MERCOSUR (RES. N° 12/11)

Tabla 6.

Concentraciones de elementos en muestras de suelo ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) - ESTACIÓN HUMEDA. Valores indicados como Media \pm DE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas en la concentración de un elemento entre los distintos tambos.

Elemento	TAMBO 1	TAMBO 2	TAMBO 3	TAMBO 4	TAMBO 5	TAMBO 6	TAMBO 7	TAMBO 8
Ag	0,06 \pm 0,01 ^B	0,12 \pm 0,03 ^A	0,10 \pm 0,01 ^A	0,10 \pm 0,01 ^A	0,024 \pm 0,005 ^{CD}	0,037 \pm 0,006 ^C	0,093 \pm 0,001 ^A	0,005 \pm 0,002 ^D
Al	(223 \pm 5) $\times 10^1$ ^A	(23 \pm 3) $\times 10^2$ ^A	(17 \pm 1) $\times 10^2$ ^B	(162 \pm 6) $\times 10^1$ ^{BC}	(25 \pm 2) $\times 10^2$ ^A	(18 \pm 3) $\times 10^2$ ^B	(234 \pm 5) $\times 10^1$ ^A	(143 \pm 2) $\times 10^1$ ^C
As	0,45 \pm 0,07 ^{CD}	0,61 \pm 0,07 ^B	0,50 \pm 0,03 ^C	0,49 \pm 0,04 ^{CD}	0,72 \pm 0,09 ^A	0,44 \pm 0,06 ^{DE}	0,35 \pm 0,01 ^{EF}	0,35 \pm 0,04 ^F
B	2,1 \pm 0,1 ^B	3,3 \pm 0,2 ^A	<LQ	1,4 \pm 0,3 ^B	3,9 \pm 0,3 ^A	3 \pm 2 ^A	1,61 \pm 0,04 ^B	<LQ
Ba	55 \pm 5 ^{BC}	52 \pm 8 ^C	60 \pm 1 ^{BC}	56 \pm 9 ^{BC}	64 \pm 4 ^B	65 \pm 16 ^B	85,4 \pm 0,6 ^A	41 \pm 3 ^D
Be	0,28 \pm 0,02 ^C	0,39 \pm 0,06 ^B	0,41 \pm 0,02 ^{AB}	0,42 \pm 0,03 ^{AB}	0,41 \pm 0,04 ^B	0,46 \pm 0,04 ^A	0,41 \pm 0,01 ^{AB}	0,19 \pm 0,02 ^D
Ca	(26 \pm 5) $\times 10^2$ ^D	(31 \pm 5) $\times 10^2$ ^C	(23 \pm 2) $\times 10^2$ ^D	(22 \pm 1) $\times 10^2$ ^D	(60 \pm 5) $\times 10^2$ ^A	(43 \pm 8) $\times 10^2$ ^B	(308 \pm 9) $\times 10^1$ ^C	(13 \pm 1) $\times 10^2$ ^E
Cd	0,09 \pm 0,01 ^B	0,17 \pm 0,04 ^A	0,16 \pm 0,02 ^A	0,141 \pm 0,007 ^A	0,108 \pm 0,009 ^B	0,11 \pm 0,02 ^B	0,174 \pm 0,001 ^A	0,05 \pm 0,01 ^C
Co	2,9 \pm 0,2 ^C	3,6 \pm 0,5 ^B	4,7 \pm 0,2 ^A	3,9 \pm 0,3 ^B	2,2 \pm 0,4 ^D	2,0 \pm 0,1 ^D	2,87 \pm 0,05 ^C	1,40 \pm 0,06 ^E
Cr	0,5 \pm 0,1 ^B	0,8 \pm 0,1 ^A	0,32 \pm 0,03 ^D	0,30 \pm 0,03 ^D	0,43 \pm 0,09 ^C	0,21 \pm 0,03 ^E	0,483 \pm 0,003 ^{BC}	0,30 \pm 0,06 ^D
Cu	3,2 \pm 0,8 ^D	6 \pm 1 ^A	5,1 \pm 0,6 ^B	4,6 \pm 0,2 ^{BC}	4,1 \pm 0,4 ^C	3,2 \pm 0,7 ^D	4,9 \pm 0,3 ^{BC}	2,1 \pm 0,3 ^E
Fe	(9 \pm 2) $\times 10^2$ ^C	(17 \pm 2) $\times 10^2$ ^A	(109 \pm 4) $\times 10^1$ ^B	(89 \pm 4) $\times 10^1$ ^C	(7 \pm 1) $\times 10^2$ ^D	(38 \pm 4) $\times 10^1$ ^E	853 \pm 9 ^{CD}	(89 \pm 6) $\times 10^1$ ^C
Hg	0,26 \pm 0,05 ^B	0,12 \pm 0,06 ^C	0,47 \pm 0,08 ^A	0,03 \pm 0,01 ^C	0,07 \pm 0,01 ^C	0,11 \pm 0,04 ^C	<LD	<LD
K	(113 \pm 1) $\times 10^1$ ^C	(9 \pm 1) $\times 10^2$ ^C	(11 \pm 2) $\times 10^2$ ^C	(11 \pm 3) $\times 10^2$ ^C	(18 \pm 2) $\times 10^2$ ^B	(11 \pm 1) $\times 10^2$ ^C	(218 \pm 5) $\times 10^1$ ^A	(92 \pm 4) $\times 10^1$ ^C
Li	1,3 \pm 0,2 ^B	1,21 \pm 0,07 ^B	0,59 \pm 0,05 ^{CD}	0,61 \pm 0,08 ^{CD}	2,0 \pm 0,3 ^A	0,8 \pm 0,2 ^C	0,86 \pm 0,01 ^C	0,52 \pm 0,03 ^D
Mg	(7 \pm 1) $\times 10^2$ ^B	(7 \pm 1) $\times 10^2$ ^B	(37 \pm 7) $\times 10^1$ ^{CD}	(42 \pm 4) $\times 10^1$ ^{CD}	(94 \pm 2) $\times 10^1$ ^A	(10 \pm 2) $\times 10^2$ ^B	(60 \pm 1) $\times 10^1$ ^{BC}	(35 \pm 4) $\times 10^1$ ^D
Mn	(28 \pm 3) $\times 10^1$ ^{CD}	(31 \pm 4) $\times 10^1$ ^C	(48 \pm 2) $\times 10^1$ ^A	(39 \pm 1) $\times 10^1$ ^B	(30 \pm 5) $\times 10^1$ ^C	(26 \pm 1) $\times 10^1$ ^D	281 \pm 5 ^{CD}	133 \pm 4 ^E
Mo	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Na	(16 \pm 6) $\times 10^1$ ^A	(13 \pm 3) $\times 10^1$ ^A	26 \pm 5 ^B	39 \pm 2 ^B	(12 \pm 1) $\times 10^1$ ^A	(15 \pm 7) $\times 10^1$ ^A	52 \pm 1 ^B	34 \pm 4 ^B
Ni	2,3 \pm 0,2 ^{CD}	3,3 \pm 0,4 ^A	2,6 \pm 0,1 ^B	2,5 \pm 0,2 ^{BC}	2,2 \pm 0,4 ^D	1,8 \pm 0,3 ^E	2,95 \pm 0,06 ^{AB}	0,66 \pm 0,05 ^F
Pb	5,4 \pm 0,1 ^D	6,01 \pm 0,69 ^C	7,74 \pm 0,06 ^A	7,0 \pm 0,5 ^B	5,0 \pm 0,6 ^D	4,3 \pm 0,2 ^E	6,08 \pm 0,02 ^C	2,9 \pm 0,2 ^F
Rb	1,2 \pm 0,2 ^A	0,9 \pm 0,1 ^B	0,92 \pm 0,03 ^B	0,91 \pm 0,08 ^B	0,74 \pm 0,08 ^C	1,1 \pm 0,2 ^B	1,06 \pm 0,02 ^B	0,93 \pm 0,02 ^B
Se	0,59 \pm 0,07 ^C	0,77 \pm 0,05 ^A	0,70 \pm 0,08 ^{AB}	0,68 \pm 0,04 ^B	0,59 \pm 0,06 ^C	0,48 \pm 0,05 ^D	0,70 \pm 0,02 ^{AB}	0,44 \pm 0,02 ^D
Sr	(4 \pm 1) $\times 10^1$ ^B	43 \pm 9 ^B	38 \pm 2 ^B	43 \pm 3 ^B	34 \pm 1 ^C	31 \pm 7 ^C	49 \pm 1 ^A	13 \pm 2 ^D
Tl	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
V	3,3 \pm 0,4 ^{CD}	5,6 \pm 0,5 ^A	4,1 \pm 0,1 ^B	3,8 \pm 0,2 ^{BC}	5,1 \pm 0,8 ^A	1,9 \pm 0,2 ^E	3,10 \pm 0,06 ^{CD}	3,0 \pm 0,2 ^D
Zn	6,9 \pm 0,6 ^B	14 \pm 5 ^A	6,4 \pm 0,5 ^B	6 \pm 1 ^B	14 \pm 2 ^A	14,1 \pm 0,8 ^A	11,6 \pm 0,3 ^A	7,4 \pm 0,7 ^B

Tabla 7.

Concentraciones de elementos en muestras de suelo ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) - ESTACIÓN SECA. Valores indicados como Media \pm DE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas en la concentración de un elemento entre los distintos tambos.

Elemento	TAMBO 1	TAMBO 3	TAMBO 4	TAMBO 5	TAMBO 7	TAMBO 8
Ag	0,05 \pm 0,01 ^C	0,08 \pm 0,001 ^B	0,09 \pm 0,01 ^A	0,03 \pm 0,01 ^D	0,07 \pm 0,01 ^B	0,010 \pm 0,001 ^E
Al	(169 \pm 7) $\times 10^1$ ^A	(138 \pm 5) $\times 10^1$ ^C	(143 \pm 7) $\times 10^1$ ^C	(167 \pm 5) $\times 10^1$ ^{AB}	(16 \pm 1) $\times 10^2$ ^B	(136 \pm 4) $\times 10^1$ ^C
As	0,44 \pm 0,03 ^B	0,32 \pm 0,04 ^{CD}	0,35 \pm 0,03 ^C	0,53 \pm 0,04 ^A	0,30 \pm 0,03 ^D	0,30 \pm 0,03 ^D
B	5,3 \pm 0,6 ^A	1,7 \pm 0,4 ^C	<LD	2,9 \pm 0,4 ^B	2,09 \pm 0,04 ^{BC}	<LQ
Ba	50 \pm 3 ^B	67 \pm 2 ^A	54 \pm 5 ^B	51 \pm 4 ^B	67 \pm 5 ^A	32 \pm 2 ^C
Be	0,24 \pm 0,01 ^D	0,28 \pm 0,01 ^C	0,31 \pm 0,02 ^B	0,36 \pm 0,02 ^A	0,29 \pm 0,02 ^C	0,15 \pm 0,01 ^E
Ca	(25 \pm 2) $\times 10^2$ ^C	(23 \pm 2) $\times 10^2$ ^{CD}	(21 \pm 1) $\times 10^2$ ^D	(40 \pm 3) $\times 10^2$ ^A	(29 \pm 3) $\times 10^2$ ^B	(113 \pm 2) $\times 10^1$ ^E
Cd	0,08 \pm 0,01 ^C	0,15 \pm 0,01 ^A	0,12 \pm 0,02 ^B	0,08 \pm 0,01 ^C	0,15 \pm 0,01 ^A	0,04 \pm 0,01 ^D
Co	2,2 \pm 0,2 ^C	3,1 \pm 0,1 ^B	3,4 \pm 0,1 ^A	1,8 \pm 0,1 ^D	2,9 \pm 0,3 ^B	1,1 \pm 0,1 ^E
Cr	0,54 \pm 0,05 ^A	0,45 \pm 0,05 ^B	0,45 \pm 0,05 ^B	0,53 \pm 0,04 ^A	0,44 \pm 0,02 ^B	0,30 \pm 0,02 ^C
Cu	4,6 \pm 0,7 ^A	4,2 \pm 0,3 ^{AB}	4,0 \pm 0,3 ^B	4,5 \pm 0,7 ^{AB}	4,9 \pm 0,3 ^A	1,41 \pm 0,07 ^C
Fe	(85 \pm 6) $\times 10^1$ ^A	(79 \pm 3) $\times 10^1$ ^B	(78 \pm 3) $\times 10^1$ ^B	(80 \pm 6) $\times 10^1$ ^{AB}	(76 \pm 5) $\times 10^1$ ^B	(84 \pm 1) $\times 10^1$ ^{AB}
Hg	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
K	(18 \pm 2) $\times 10^2$ ^A	(15 \pm 1) $\times 10^2$ ^B	(10 \pm 1) $\times 10^2$ ^C	(49 \pm 4) $\times 10^1$ ^E	(17 \pm 1) $\times 10^2$ ^{AB}	(72 \pm 3) $\times 10^1$ ^D
Li	0,85 \pm 0,04 ^B	0,52 \pm 0,02 ^{DE}	0,57 \pm 0,03 ^{CD}	1,7 \pm 0,1 ^A	0,65 \pm 0,04 ^C	0,47 \pm 0,02 ^E
Mg	(68 \pm 9) $\times 10^1$ ^{AB}	(45 \pm 3) $\times 10^1$ ^C	(40 \pm 3) $\times 10^1$ ^C	(73 \pm 3) $\times 10^1$ ^A	(63 \pm 5) $\times 10^1$ ^B	295 \pm 6 ^D
Mn	(21 \pm 1) $\times 10^1$ ^B	(32 \pm 4) $\times 10^1$ ^A	(32 \pm 2) $\times 10^1$ ^A	(22 \pm 3) $\times 10^1$ ^B	(30 \pm 3) $\times 10^1$ ^A	112 \pm 2 ^C
Mo	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Na	(10 \pm 1) $\times 10^1$ ^A	35 \pm 3 ^B	25 \pm 4 ^{BC}	110 \pm 3 ^A	37 \pm 4 ^B	23 \pm 1 ^C
Ni	1,7 \pm 0,1 ^C	2,0 \pm 0,1 ^B	2,0 \pm 0,2 ^B	1,7 \pm 0,1 ^C	2,3 \pm 0,2 ^A	0,46 \pm 0,04 ^D
Pb	5,0 \pm 0,3 ^B	6,2 \pm 0,2 ^A	6,5 \pm 0,2 ^A	5,1 \pm 0,8 ^B	5,9 \pm 0,4 ^A	2,7 \pm 0,2 ^C
Rb	1,3 \pm 0,2 ^A	1,02 \pm 0,06 ^B	0,91 \pm 0,06 ^{BC}	0,9 \pm 0,1 ^C	0,9 \pm 0,1 ^{BC}	0,93 \pm 0,04 ^{BC}
Se	0,38 \pm 0,06 ^A	0,33 \pm 0,04 ^{AB}	0,34 \pm 0,03 ^A	0,25 \pm 0,03 ^C	0,26 \pm 0,03 ^{BC}	<LQ
Sr	37 \pm 4 ^B	42 \pm 3 ^A	38 \pm 2 ^B	22 \pm 2 ^C	45 \pm 4 ^A	10,9 \pm 0,2 ^D
Tl	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
V	2,8 \pm 0,1 ^D	3,2 \pm 0,1 ^C	3,6 \pm 0,1 ^B	4,8 \pm 0,2 ^A	2,8 \pm 0,2 ^{DE}	2,5 \pm 0,2 ^E
Zn	9 \pm 2 ^B	9 \pm 3 ^{AB}	3,9 \pm 0,5 ^C	11 \pm 1 ^A	11 \pm 1 ^A	4,6 \pm 0,4 ^C

Tabla 8.

Concentración de elementos en muestras de forraje de los tambos de la provincia de Córdoba ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) - ESTACIÓN HÚMEDA. Valores indicados como Media \pm DE.

Elemento	TAMBO 1		TAMBO 2			TAMBO 7	TAMBO 8		
	Maíz picado + pellet de trigo	Maíz picado + pellet de trigo + aditivos	Maíz picado + expeller de soja	Sorgo	Alfalfa	Alfalfa	Alfalfa	Maíz picado	Trigo
Ag	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,004 \pm 0,002	<LD	<LD	<LD
Al	(4 \pm 1) $\times 10^1$	(6 \pm 1) $\times 10^1$	(35 \pm 5) $\times 10^1$	137 \pm 2	39 \pm 6	(37 \pm 1) $\times 10^1$	(27 \pm 1) $\times 10^1$	63 \pm 4	9,5 \pm 0,3
As	<LQ	<LQ	0,39 \pm 0,01	0,38 \pm 0,01	0,37 \pm 0,04	0,28 \pm 0,02	0,22 \pm 0,01	<LD	<LD
B	6,0 \pm 0,8	5,9 \pm 0,2	16,1 \pm 0,8	9,1 \pm 0,4	46,1 \pm 0,5	25 \pm 2	26 \pm 3	9,2 \pm 0,4	<LQ
Ba	3,6 \pm 0,6	4,77 \pm 0,03	7,6 \pm 0,4	12,2 \pm 0,2	7,2 \pm 1,1	26 \pm 2	29 \pm 4	5,6 \pm 0,5	10,4 \pm 0,5
Be	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Ca	(31 \pm 6) $\times 10^2$	(48 \pm 3) $\times 10^2$	(20 \pm 2) $\times 10^2$	(27 \pm 1) $\times 10^2$	(53 \pm 6) $\times 10^2$	(71 \pm 7) $\times 10^2$	(43 \pm 3) $\times 10^2$	(81 \pm 9) $\times 10^1$	444 \pm 5
Cd	0,07 \pm 0,01	0,066 \pm 0,004	0,106 \pm 0,0003	0,40 \pm 0,04	0,10 \pm 0,01	0,109 \pm 0,001	0,063 \pm 0,006	<LQ	0,050 \pm 0,003
Co	0,12 \pm 0,02	0,081 \pm 0,002	0,25 \pm 0,02	0,7 \pm 0,1	0,19 \pm 0,03	0,223 \pm 0,003	0,29 \pm 0,02	0,024 \pm 0,001	0,01957 \pm 0,00002
Cr	3,1 \pm 0,8	1,1 \pm 0,2	3,0 \pm 0,3	24 \pm 6	3,0 \pm 0,5	0,37 \pm 0,03	0,7 \pm 0,1	0,24 \pm 0,06	0,157 \pm 0,002
Cu	4 \pm 1	6,3 \pm 0,8	4,3 \pm 0,3	6,7 \pm 0,1	5,9 \pm 0,6	4,4 \pm 0,1	3,5 \pm 0,3	2,3 \pm 0,2	4,07 \pm 0,01
Fe	(15 \pm 3) $\times 10^1$	120 \pm 1	(23 \pm 2) $\times 10^1$	(54 \pm 3) $\times 10^1$	(20 \pm 3) $\times 10^1$	(26 \pm 1) $\times 10^1$	237 \pm 2	58 \pm 4	(6 \pm 1) $\times 10^1$
Hg	0,13 \pm 0,05	<LD	<LD	<LD	<LD	0,4 \pm 0,1	<LQ	<LQ	<LD
K	(9 \pm 3) $\times 10^3$	(103 \pm 2) $\times 10^2$	(95 \pm 8) $\times 10^2$	(21 \pm 2) $\times 10^3$	(391 \pm 3) $\times 10^2$	(32 \pm 3) $\times 10^3$	(42 \pm 5) $\times 10^3$	(88 \pm 8) $\times 10^2$	(48 \pm 2) $\times 10^2$
Li	0,10 \pm 0,02	0,35 \pm 0,04	0,66 \pm 0,05	0,3 \pm 0,1	1,5 \pm 0,1	2,1 \pm 0,1	0,43 \pm 0,02	0,19 \pm 0,01	0,08 \pm 0,03
Mg	(12 \pm 2) $\times 10^2$	(159 \pm 8) $\times 10^1$	(15 \pm 1) $\times 10^2$	(22 \pm 2) $\times 10^2$	(18 \pm 3) $\times 10^2$	(155 \pm 2) $\times 10^1$	(17 \pm 2) $\times 10^2$	(12 \pm 1) $\times 10^2$	(129 \pm 3) $\times 10^1$
Mn	43 \pm 9	44 \pm 3	31 \pm 4	51 \pm 2	46,6 \pm 0,5	35 \pm 1	28 \pm 2	22 \pm 2	44 \pm 3
Mo	3,8 \pm 0,7	2,84 \pm 0,04	4,9 \pm 0,1	23 \pm 5	24 \pm 4	3,5 \pm 0,4	14 \pm 2	2,5 \pm 0,2	1,75 \pm 0,04
Na	85 \pm 7	89,1 \pm 0,7	(11 \pm 6) $\times 10^1$	(15 \pm 4) $\times 10^1$	(40 \pm 3) $\times 10^1$	(54 \pm 1) $\times 10^1$	(17 \pm 2) $\times 10^1$	(18 \pm 5) $\times 10^1$	172 \pm 4
Ni	4,1 \pm 0,7	1,5 \pm 0,1	3,7 \pm 0,2	35 \pm 7	3,7 \pm 0,4	2,3 \pm 0,2	1,4 \pm 0,1	0,26 \pm 0,04	0,38 \pm 0,07
Pb	0,17 \pm 0,03	0,8 \pm 0,2	0,31 \pm 0,04	0,4 \pm 0,1	0,18 \pm 0,01	<LD	0,24 \pm 0,02	<LQ	0,11 \pm 0,01
Rb	3,6 \pm 0,6	3,63 \pm 0,06	2,7 \pm 0,2	3,4 \pm 0,3	7,4 \pm 0,2	7,6 \pm 0,3	15 \pm 2	3,5 \pm 0,3	2,8 \pm 0,1
Se	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Sr	18,8 \pm 0,5	23 \pm 1	21 \pm 1	31 \pm 1	(11 \pm 2) $\times 10^1$	(17 \pm 1) $\times 10^1$	67 \pm 8	7,1 \pm 0,8	4,5 \pm 0,3
Tl	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
V	0,14 \pm 0,03	0,17 \pm 0,01	0,7 \pm 0,1	0,39 \pm 0,02	0,130 \pm 0,004	0,51 \pm 0,01	0,54 \pm 0,03	0,11 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01
Zn	20 \pm 4	27 \pm 1	24 \pm 2	21 \pm 2	22 \pm 3	17 \pm 1	18 \pm 1	17 \pm 1	24 \pm 1

Tabla 9.

Concentración de elementos en muestras de forraje de los tambos de la provincia de Santa Fe ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) - ESTACIÓN HÚMEDA. Valores indicados como Media \pm DE.

Elemento	TAMBO 3		TAMBO 4			
	Alfalfa	Maíz	Maíz picado	Expeller de soja	Alfalfa	Maíz
Ag	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Al	$(14 \pm 1) \times 10^1$	24 ± 4	16 ± 1	121 ± 8	$(29 \pm 2) \times 10^1$	141 ± 9
As	<LQ	<LD	<LD	<LQ	$0,21 \pm 0,01$	<LQ
B	31 ± 3	<LQ	<LQ	34 ± 2	32 ± 2	$5,3 \pm 0,6$
Ba	28 ± 3	$0,44 \pm 0,09$	$0,54 \pm 0,08$	7 ± 1	$24,7 \pm 0,3$	$4,1 \pm 0,2$
Be	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ	<LD
Ca	$(73 \pm 5) \times 10^2$	$(13 \pm 2) \times 10^1$	59 ± 5	$(21 \pm 2) \times 10^2$	$(39 \pm 3) \times 10^2$	$(83 \pm 9) \times 10^1$
Cd	$0,099 \pm 0,002$	$0,03 \pm 0,01$	<LQ	$0,10 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,01$	$0,057 \pm 0,004$
Co	$0,15 \pm 0,01$	$0,023 \pm 0,002$	$0,017 \pm 0,003$	$0,209 \pm 0,003$	$0,24 \pm 0,02$	$0,10 \pm 0,01$
Cr	$0,42 \pm 0,01$	$0,159 \pm 0,001$	$0,14 \pm 0,01$	$0,36 \pm 0,05$	$1,3 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,1$
Cu	$6,8 \pm 0,2$	$2,37 \pm 0,03$	$1,4 \pm 0,4$	11 ± 1	$3,7 \pm 0,4$	$2,6 \pm 0,2$
Fe	$(13 \pm 1) \times 10^1$	58 ± 9	24 ± 4	96 ± 6	254 ± 5	$(19 \pm 1) \times 10^1$
Hg	<LD	<LD	<LQ	<LQ	<LQ	$0,38 \pm 0,03$
K	$(240 \pm 8) \times 10^2$	$(44 \pm 1) \times 10^2$	$(40 \pm 7) \times 10^2$	$(19 \pm 2) \times 10^3$	$(15 \pm 3) \times 10^3$	$(78 \pm 8) \times 10^2$
Li	$2,6 \pm 0,1$	$0,11 \pm 0,03$	$0,5 \pm 0,2$	$0,38 \pm 0,01$	$2,4 \pm 0,3$	$0,7 \pm 0,1$
Mg	$(14 \pm 1) \times 10^2$	$(129 \pm 4) \times 10^1$	$(10 \pm 1) \times 10^2$	$(24 \pm 2) \times 10^2$	$(87 \pm 7) \times 10^2$	$(87 \pm 6) \times 10^1$
Mn	58 ± 3	$8,6 \pm 0,2$	$6,9 \pm 0,5$	39 ± 4	37 ± 2	25 ± 2
Mo	$1,3 \pm 0,1$	<LQ	<LQ	$12,3 \pm 0,6$	$3,2 \pm 0,2$	$1,825 \pm 0,001$
Na	$(81 \pm 6) \times 10^2$	57 ± 7	46 ± 2	71 ± 6	$(6 \pm 1) \times 10^2$	$(15 \pm 2) \times 10^1$
Ni	$1,1 \pm 0,1$	$0,49 \pm 0,03$	$0,34 \pm 0,02$	$5,2 \pm 0,5$	$1,9 \pm 0,4$	$2,3 \pm 0,2$
Pb	$0,20 \pm 0,02$	$0,09 \pm 0,01$	$0,16 \pm 0,02$	$0,210 \pm 0,003$	$0,4 \pm 0,1$	$0,18 \pm 0,02$
Rb	$7,9 \pm 0,3$	$2,2 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,3$	$5,7 \pm 0,6$	$5,0 \pm 0,7$	$3,1 \pm 0,2$
Se	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Sr	$(13 \pm 1) \times 10^1$	$0,8 \pm 0,1$	$0,44 \pm 0,08$	20 ± 2	148 ± 3	$12,5 \pm 0,6$
Tl	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
V	$0,20 \pm 0,01$	$0,06 \pm 0,02$	$0,050 \pm 0,001$	$0,20 \pm 0,01$	$0,45 \pm 0,02$	$0,28 \pm 0,03$
Zn	14 ± 1	23 ± 2	15 ± 3	31 ± 3	$7,3 \pm 0,7$	15 ± 2

Tabla 10.

Concentración de elementos en muestras de forraje de los tambos de la provincia de Catamarca ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) - ESTACIÓN HÚMEDA. Valores indicados como Media \pm DE.

Elemento	TAMBO 5		TAMBO 6				
	Maíz	Alfalfa y sorgo	Maíz picado	Alfalfa	Maíz	Expeller de soja	Semilla de algodón
Ag	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Al	4 \pm 2	(46 \pm 4) $\times 10^1$	40 \pm 5	(36 \pm 4) $\times 10^1$	10 \pm 1	16 \pm 3	(5 \pm 1) $\times 10^1$
As	<LD	0,408 \pm 0,001	<LQ	0,59 \pm 0,02	<LD	<LQ	<LQ
B	1,4 \pm 0,1	32 \pm 0,8	6,5 \pm 0,4	21 \pm 2	<LQ	26,0 \pm 0,8	9 \pm 3
Ba	0,36 \pm 0,03	20 \pm 2	2,7 \pm 0,4	21 \pm 1	0,41 \pm 0,04	7,2 \pm 0,9	3,2 \pm 0,7
Be	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Ca	(6 \pm 1) $\times 10^1$	(81 \pm 9) $\times 10^2$	(15 \pm 2) $\times 10^2$	(55 \pm 6) $\times 10^2$	(9 \pm 1) $\times 10^1$	(24 \pm 2) $\times 10^2$	(17 \pm 3) $\times 10^2$
Cd	<LQ	0,05 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,067 \pm 0,009	<LD	0,070 \pm 0,003	0,08 \pm 0,01
Co	<LQ	0,21 \pm 0,02	0,031 \pm 0,002	0,15 \pm 0,02	<LQ	0,15 \pm 0,01	0,20 \pm 0,04
Cr	0,034 \pm 0,004	1,05 \pm 0,03	0,14 \pm 0,01	0,8 \pm 0,1	0,18 \pm 0,04	0,11 \pm 0,03	0,16 \pm 0,01
Cu	1,83 \pm 0,08	4,6 \pm 0,6	4,0 \pm 0,4	4,6 \pm 0,4	2,9 \pm 0,5	9,2 \pm 0,4	7 \pm 1
Fe	16 \pm 2	(46 \pm 5) $\times 10^1$	58 \pm 6	(32 \pm 4) $\times 10^1$	26 \pm 3	68 \pm 6	(5 \pm 1) $\times 10^1$
Hg	<LQ	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
K	(24 \pm 3) $\times 10^2$	(13 \pm 2) $\times 10^3$	(12 \pm 1) $\times 10^3$	(9 \pm 1) $\times 10^3$	(415 \pm 4) $\times 10^1$	(162 \pm 9) $\times 10^2$	(13 \pm 2) $\times 10^3$
Li	0,24 \pm 0,03	1,6 \pm 0,2	0,28 \pm 0,02	0,7 \pm 0,1	0,040 \pm 0,006	0,057 \pm 0,004	0,54 \pm 0,05
Mg	(67 \pm 4) $\times 10^1$	(12 \pm 1) $\times 10^2$	(12 \pm 1) $\times 10^2$	(10 \pm 1) $\times 10^2$	(137 \pm 3) $\times 10^1$	(24 \pm 1) $\times 10^2$	(43 \pm 8) $\times 10^2$
Mn	3,5 \pm 0,5	28 \pm 3	34 \pm 4	30 \pm 4	5,1 \pm 0,9	34 \pm 1	15 \pm 3
Mo	<LQ	2,8 \pm 0,2	2,4 \pm 0,3	6,2 \pm 0,2	<LQ	11 \pm 1	1,2 \pm 0,3
Na	(4 \pm 1) $\times 10^1$	(21 \pm 4) $\times 10^1$	(5 \pm 2) $\times 10^1$	(47 \pm 3) $\times 10^1$	(9 \pm 5) $\times 10^1$	(4 \pm 1) $\times 10^1$	104 \pm 8
Ni	0,112 \pm 0,004	1,050 \pm 0,001	0,25 \pm 0,02	1,07 \pm 0,04	0,20 \pm 0,01	2,2 \pm 0,1	1,8 \pm 0,4
Pb	<LQ	0,35 \pm 0,03	0,102 \pm 0,003	0,30 \pm 0,03	<LQ	<LQ	<LQ
Rb	1,9 \pm 0,2	9 \pm 1	5,9 \pm 0,7	2,9 \pm 0,3	3,3 \pm 0,1	4,8 \pm 0,2	4,8 \pm 0,9
Se	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LQ	1,0 \pm 0,2	<LD
Sr	0,27 \pm 0,03	63 \pm 7	9,5 \pm 0,8	109 \pm 6	0,25 \pm 0,01	22 \pm 3	11 \pm 3
Tl	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
V	0,066 \pm 0,001	1,0 \pm 0,1	0,10 \pm 0,01	0,6 \pm 0,1	0,04 \pm 0,01	0,040 \pm 0,003	0,12 \pm 0,02
Zn	11,6 \pm 0,8	11,4 \pm 0,1	18 \pm 2	15,3 \pm 0,7	17 \pm 2	32 \pm 1	40 \pm 7

Tabla 11.

Concentración de elementos en muestras de forraje de los tambos de la provincia de Córdoba ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) - ESTACIÓN SECA. Valores indicados como Media \pm DE.

Elemento	TAMBO 1	TAMBO 7		TAMBO 8			
	Alfalfa+ sorgo+ maíz+ semilla de algodón+expeller de soja + sales minerales	Maíz picado	Alfalfa	Alfalfa	Pellet de soja	Maíz picado	Maíz
Ag	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Al	$(32 \pm 4) \times 10^1$	$(18 \pm 2) \times 10^1$	$(8 \pm 1) \times 10^1$	$(17 \pm 2) \times 10^1$	20 ± 3	$(8 \pm 1) \times 10^1$	33 ± 4
As	$0,21 \pm 0,03$	<LQ	<LQ	<LQ	<LD	<LQ	<LD
B	15 ± 1	$2,8 \pm 0,2$	27 ± 6	49 ± 6	20 ± 5	$11,3 \pm 0,2$	$2,4 \pm 0,3$
Ba	8 ± 1	10 ± 1	24 ± 4	43 ± 6	7 ± 1	$11,0 \pm 0,2$	$0,80 \pm 0,03$
Be	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Ca	$(35 \pm 6) \times 10^2$	$(18 \pm 2) \times 10^2$	$(12 \pm 2) \times 10^3$	$(8 \pm 1) \times 10^3$	$(19 \pm 4) \times 10^2$	$(157 \pm 7) \times 10^1$	$(19 \pm 3) \times 10^1$
Cd	$0,041 \pm 0,002$	$0,10 \pm 0,01$	$0,040 \pm 0,003$	$0,028 \pm 0,003$	$0,03 \pm 0,01$	$0,027 \pm 0,002$	<LD
Co	$0,22 \pm 0,03$	$0,10 \pm 0,01$	$0,11 \pm 0,02$	$0,09 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,02$	$0,029 \pm 0,003$	$0,009 \pm 0,002$
Cr	$0,5 \pm 0,1$	$0,56 \pm 0,08$	$0,26 \pm 0,03$	$0,22 \pm 0,03$	$0,08 \pm 0,01$	$0,165 \pm 0,001$	$0,11 \pm 0,04$
Cu	9 ± 1	$4,1 \pm 0,5$	$3,7 \pm 0,4$	7 ± 1	9 ± 2	$3,1 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,3$
Fe	$(13 \pm 2) \times 10^1$	$(13 \pm 1) \times 10^2$	$(12 \pm 3) \times 10^1$	$(17 \pm 3) \times 10^1$	$(9 \pm 2) \times 10^1$	89 ± 6	18 ± 6
Hg	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
K	$(13 \pm 1) \times 10^3$	$(17 \pm 2) \times 10^3$	$(27 \pm 6) \times 10^3$	$(29 \pm 3) \times 10^3$	$(13 \pm 3) \times 10^3$	$(1425 \pm 5) \times 10^1$	$(46 \pm 7) \times 10^2$
Li	$0,54 \pm 0,02$	$0,169 \pm 0,001$	$1,2 \pm 0,2$	$0,69 \pm 0,09$	$0,07 \pm 0,03$	$0,46 \pm 0,09$	$0,14 \pm 0,07$
Mg	$(23 \pm 2) \times 10^2$	$(12 \pm 1) \times 10^2$	$(19 \pm 4) \times 10^2$	$(19 \pm 2) \times 10^2$	$(17 \pm 4) \times 10^2$	$(156 \pm 2) \times 10^1$	$(14 \pm 3) \times 10^2$
Mn	45 ± 5	32 ± 4	38 ± 7	30 ± 4	18 ± 4	32 ± 1	$3,5 \pm 0,8$
Mo	$3,9 \pm 0,3$	$0,4 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,3$	$2,3 \pm 0,3$	$3,3 \pm 0,7$	$1,79 \pm 0,01$	$0,5 \pm 0,1$
Na	$(11 \pm 1) \times 10^2$	53 ± 4	$(21 \pm 4) \times 10^1$	$(73 \pm 5) \times 10^1$	$(9 \pm 2) \times 10^1$	$(21 \pm 3) \times 10^1$	119 ± 1
Ni	$1,1 \pm 0,2$	$0,6 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,2$	$0,7 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,2$	$0,28 \pm 0,05$	$0,19 \pm 0,02$
Pb	$0,23 \pm 0,03$	$0,12 \pm 0,01$	$0,08 \pm 0,02$	$0,102 \pm 0,001$	<LD	$0,09 \pm 0,01$	$0,07 \pm 0,01$
Rb	$4,6 \pm 0,5$	$4,4 \pm 0,6$	5 ± 1	12 ± 1	7 ± 2	$4,45 \pm 0,04$	$2,0 \pm 0,3$
Se	<LD	<LD	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD
Sr	33 ± 4	20 ± 2	$(14 \pm 3) \times 10^1$	$(8 \pm 1) \times 10^1$	8 ± 2	14 ± 1	$0,8 \pm 0,1$
Tl	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
V	$0,5 \pm 0,1$	$0,32 \pm 0,04$	$0,11 \pm 0,02$	$0,35 \pm 0,07$	$0,056 \pm 0,001$	$0,21 \pm 0,04$	$0,036 \pm 0,002$
Zn	36 ± 1	16 ± 2	13 ± 2	17 ± 1	28 ± 5	20 ± 3	13 ± 4

Tabla 12.

Concentración de elementos en muestras de forraje de los tambos de la provincia de Santa Fe ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) - ESTACIÓN SECA. Valores indicados como Media \pm DE.

Elemento	TAMBO 3			TAMBO 4					
	Maíz picado	Alfalfa	Maíz	Maíz	Expeller de soja	Sorgo	Alfalfa	Avena	Maíz picado
Ag	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,06 \pm 0,01	<LD
Al	57 \pm 5	(23 \pm 5) $\times 10^1$	9 \pm 1	7 \pm 1	67 \pm 3	208 \pm 4	(20 \pm 4) $\times 10^1$	(10 \pm 1) $\times 10^3$	(7 \pm 1) $\times 10^1$
As	<LD	0,4 \pm 0,1	<LD	<LD	<LQ	<LQ	0,25 \pm 0,04	1,7 \pm 0,2	<LD
B	6 \pm 1	29 \pm 4	1,5 \pm 0,1	2,3 \pm 0,1	44 \pm 8	4,2 \pm 0,4	30 \pm 5	7,7 \pm 0,8	5 \pm 2
Ba	4,6 \pm 0,3	27 \pm 5	0,08 \pm 0,02	0,04 \pm 0,02	11 \pm 2	12 \pm 1	47 \pm 7	67 \pm 8	2,5 \pm 0,8
Be	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Ca	(108 \pm 6) $\times 10^1$	(11 \pm 2) $\times 10^3$	50 \pm 1	61 \pm 1	(34 \pm 5) $\times 10^2$	(21 \pm 2) $\times 10^2$	(16 \pm 2) $\times 10^3$	(47 \pm 6) $\times 10^2$	(7 \pm 2) $\times 10^2$
Cd	0,040 \pm 0,004	0,066 \pm 0,003	<LD	<LD	0,11 \pm 0,02	0,12 \pm 0,01	0,027 \pm 0,004	0,15 \pm 0,02	0,026 \pm 0,004
Co	0,028 \pm 0,002	0,21 \pm 0,04	0,007 \pm 0,001	0,010 \pm 0,002	0,55 \pm 0,08	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,02	4,0 \pm 0,5	0,019 \pm 0,003
Cr	0,36 \pm 0,02	0,4 \pm 0,1	0,08 \pm 0,01	0,10 \pm 0,02	0,29 \pm 0,01	0,64 \pm 0,05	0,30 \pm 0,03	10 \pm 1	0,23 \pm 0,04
Cu	2,5 \pm 0,3	4,2 \pm 0,5	1,29 \pm 0,02	1,0 \pm 0,3	18 \pm 3	3,3 \pm 0,1	7 \pm 1	11 \pm 2	1,9 \pm 0,6
Fe	68 \pm 4	(22 \pm 3) $\times 10^1$	13 \pm 2	14,2 \pm 0,2	(14 \pm 2) $\times 10^1$	222 \pm 1	(18 \pm 4) $\times 10^1$	(8 \pm 1) $\times 10^3$	43 \pm 9
Hg	<LD	0,17 \pm 0,08	<LD	<LD	0,03 \pm 0,01	<LD	<LD	0,029 \pm 0,007	<LD
K	(102 \pm 7) $\times 10^2$	(33 \pm 6) $\times 10^3$	(27 \pm 3) $\times 10^2$	(336 \pm 8) $\times 10^1$	(26 \pm 4) $\times 10^3$	(24 \pm 3) $\times 10^3$	(27 \pm 4) $\times 10^3$	(32 \pm 1) $\times 10^3$	(9 \pm 2) $\times 10^3$
Li	0,30 \pm 0,04	5,6 \pm 0,7	0,14 \pm 0,01	0,22 \pm 0,01	0,12 \pm 0,03	0,5 \pm 0,1	6 \pm 1	6,4 \pm 0,7	0,18 \pm 0,02
Mg	(89 \pm 7) $\times 10^1$	(160 \pm 3) $\times 10^1$	(75 \pm 7) $\times 10^1$	(83 \pm 1) $\times 10^1$	(32 \pm 5) $\times 10^2$	(13 \pm 2) $\times 10^2$	(28 \pm 4) $\times 10^2$	(27 \pm 3) $\times 10^2$	(9 \pm 3) $\times 10^2$
Mn	24 \pm 2	46 \pm 5	2,7 \pm 0,1	4,2 \pm 0,8	63 \pm 8	39 \pm 6	48 \pm 7	(32 \pm 4) $\times 10^1$	13 \pm 4
Mo	0,45 \pm 0,05	1,4 \pm 0,2	<LQ	<LQ	26 \pm 2	0,48 \pm 0,04	0,52 \pm 0,08	1,4 \pm 0,2	1,1 \pm 0,3
Na	(11 \pm 6) $\times 10^1$	(13 \pm 2) $\times 10^2$	59 \pm 1	73 \pm 3	(39 \pm 7) $\times 10^1$	(17 \pm 6) $\times 10^1$	(76 \pm 6) $\times 10^1$	(8 \pm 1) $\times 10^2$	68 \pm 5
Ni	0,35 \pm 0,02	1,1 \pm 0,2	0,293 \pm 0,003	0,33 \pm 0,01	7 \pm 1	0,713 \pm 0,001	1,8 \pm 0,2	8 \pm 1	0,3 \pm 0,1
Pb	0,11 \pm 0,01	0,19 \pm 0,03	<LQ	<LQ	0,11 \pm 0,02	0,220 \pm 0,001	0,205 \pm 0,002	5,4 \pm 0,6	0,05 \pm 0,01
Rb	2,7 \pm 0,2	8 \pm 1	1,0 \pm 0,1	0,98 \pm 0,03	8 \pm 1	8 \pm 1	9 \pm 1	23 \pm 3	1,7 \pm 0,5
Se	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,7 \pm 0,1	<LD
Sr	15 \pm 1	(23 \pm 4) $\times 10^1$	0,6 \pm 0,1	0,42 \pm 0,01	41 \pm 5	29 \pm 3	(24 \pm 4) $\times 10^1$	(8 \pm 1) $\times 10^1$	12 \pm 4
Tl	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
V	0,13 \pm 0,01	0,37 \pm 0,04	0,024 \pm 0,002	0,038 \pm 0,005	0,13 \pm 0,04	0,41 \pm 0,02	0,28 \pm 0,06	16 \pm 2	0,08 \pm 0,01
Zn	13 \pm 2	19 \pm 3	13 \pm 1	14,2 \pm 0,6	46 \pm 8	13 \pm 1	19 \pm 2	31 \pm 4	22 \pm 5

Tabla 13.

Concentración de elementos en muestras de forraje de los tambos de la provincia de Catamarca ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) - ESTACIÓN SECA.
Valores indicados como Media \pm DE.

Elemento	TAMBO 5			
	Sorgo	Maíz	Semilla de algodón	Alfalfa
Ag	<LD	<LD	<LD	<LD
Al	51 \pm 2	13 \pm 2	35 \pm 3	319 \pm 3
As	0,31 \pm 0,06	<LD	<LD	0,201 \pm 0,003
B	27 \pm 2	1,7 \pm 0,2	8,1 \pm 0,4	4,1 \pm 0,8
Ba	6,6 \pm 0,6	<LD	0,7 \pm 0,2	8,2 \pm 0,2
Be	<LD	<LD	<LD	<LD
Ca	(101 \pm 9) $\times 10^2$	54 \pm 9	(10 \pm 1) $\times 10^2$	(532 \pm 5) $\times 10^1$
Cd	0,021 \pm 0,003	<LD	0,021 \pm 0,003	0,020 \pm 0,001
Co	0,051 \pm 0,004	0,007 \pm 0,001	0,089 \pm 0,002	0,24 \pm 0,01
Cr	0,12 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02	0,11 \pm 0,02	1,46 \pm 0,06
Cu	7,9 \pm 0,7	1,8 \pm 0,3	3,7 \pm 0,2	5 \pm 1
Fe	73 \pm 5	25 \pm 2	43 \pm 7	386 \pm 5
Hg	<LD	<LD	<LD	<LQ
K	(26 \pm 3) $\times 10^3$	(36 \pm 6) $\times 10^2$	(79 \pm 5) $\times 10^2$	(22 \pm 3) $\times 10^3$
Li	1,3 \pm 0,1	0,031 \pm 0,004	0,13 \pm 0,03	0,8 \pm 0,2
Mg	(15 \pm 1) $\times 10^2$	(10 \pm 2) $\times 10^2$	(230 \pm 5) $\times 10^1$	(32 \pm 6) $\times 10^2$
Mn	19 \pm 1	4,3 \pm 0,8	8,7 \pm 0,7	43,2 \pm 0,4
Mo	2,1 \pm 0,1	<LQ	0,70 \pm 0,03	2,0 \pm 0,4
Na	(15 \pm 2) $\times 10^2$	24 \pm 9	120 \pm 9	79 \pm 9
Ni	0,20 \pm 0,03	0,197 \pm 0,002	0,36 \pm 0,02	1,00 \pm 0,03
Pb	<LD	<LQ	0,03 \pm 0,01	1,4 \pm 0,3
Rb	4,0 \pm 0,4	1,8 \pm 0,3	2,5 \pm 0,1	9 \pm 1
Se	<LD	0,56 \pm 0,01	<LD	<LD
Sr	93 \pm 8	0,3 \pm 0,1	7,4 \pm 0,6	20 \pm 4
Tl	<LD	<LD	<LD	<LD
V	0,16 \pm 0,01	0,025 \pm 0,003	0,07 \pm 0,01	0,78 \pm 0,01
Zn	15 \pm 1	16 \pm 2	18,5 \pm 0,8	19 \pm 2

Tabla 14.

Concentraciones de elementos en muestras de leche ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) - ESTACIÓN HUMEDA. Valores indicados como Media \pm DE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas en la concentración de un elemento entre los distintos tambos.

Elemento	TAMBO 1	TAMBO 2	TAMBO 3	TAMBO 4	TAMBO 5	TAMBO 6	TAMBO 7	TAMBO 8
Ag	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Al	3,5 \pm 0,5 ^{CD}	3,7 \pm 0,1 ^{CD}	10 \pm 2 ^A	6,6 \pm 0,3 ^B	6,9 \pm 0,5 ^B	3,1 \pm 0,4 ^{CD}	4,80 \pm 0,03 ^C	2,8 \pm 0,3 ^D
As	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
B	<LD	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	13,4 \pm 0,1 ^A	<LQ	12,9 \pm 0,4 ^A
Ba	1,0 \pm 0,1 ^C	1,05 \pm 0,03 ^C	1,9 \pm 0,1 ^A	0,99 \pm 0,03 ^C	1,0 \pm 0,1 ^C	1,5 \pm 0,1 ^B	1,0 \pm 0,1 ^C	1,5 \pm 0,1 ^B
Be	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Ca	(99 \pm 2) $\times 10^2$ ^A	(94 \pm 2) $\times 10^2$ ^B	(109 \pm 5) $\times 10^2$ ^A	(102 \pm 2) $\times 10^2$ ^A	(1051 \pm 7) $\times 10^1$ ^A	(106 \pm 2) $\times 10^2$ ^A	(75 \pm 5) $\times 10^2$ ^C	(104 \pm 1) $\times 10^2$ ^A
Cd	<LQ	<LQ	<LD	<LD	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Co	0,0046 \pm 0,0001 ^E	0,006 \pm 0,001 ^{DE}	0,010 \pm 0,001 ^A	0,007 \pm 0,001 ^{BC}	0,0079 \pm 0,0004 ^B	0,006 \pm 0,001 ^{DE}	0,0061 \pm 0,0004 ^{CD}	0,005 \pm 0,001 ^{DE}
Cr	0,10 \pm 0,01 ^{CD}	0,13 \pm 0,01 ^{BC}	0,021 \pm 0,002 ^F	0,0257 \pm 0,0004 ^{EF}	0,21 \pm 0,03 ^A	0,06 \pm 0,04 ^{DE}	0,14 \pm 0,01 ^B	0,13 \pm 0,02 ^{BC}
Cu	0,433 \pm 0,005 ^A	0,48 \pm 0,06 ^A	0,24 \pm 0,01 ^C	0,12 \pm 0,01 ^D	0,3 \pm 0,1 ^B	0,27 \pm 0,04 ^C	0,387 \pm 0,004 ^B	0,3 \pm 0,1 ^B
Fe	11,5 \pm 0,4 ^B	12 \pm 2 ^B	17 \pm 3 ^A	13,8 \pm 0,6 ^B	15 \pm 1 ^A	16 \pm 2 ^A	11,0 \pm 0,1 ^B	13 \pm 1 ^B
Hg	<LQ	<LD	<LQ	<LD	<LQ	<LQ	0,8 \pm 0,1 ^A	0,9 \pm 0,2 ^A
K	(132 \pm 4) $\times 10^2$ ^B	(138 \pm 4) $\times 10^2$ ^{AB}	(138 \pm 7) $\times 10^2$ ^{AB}	(118 \pm 3) $\times 10^2$ ^C	(1397 \pm 1) $\times 10^2$ ^A	(143 \pm 3) $\times 10^2$ ^A	(91 \pm 6) $\times 10^2$ ^D	(142 \pm 3) $\times 10^2$ ^A
Li	0,083 \pm 0,005 ^E	0,15 \pm 0,01 ^D	0,79 \pm 0,04 ^A	0,59 \pm 0,01 ^B	0,29 \pm 0,01 ^C	0,092 \pm 0,002 ^E	0,088 \pm 0,003 ^E	0,10 \pm 0,01 ^E
Mg	(89 \pm 2) $\times 10^1$ ^C	(88 \pm 2) $\times 10^1$ ^C	(96 \pm 5) $\times 10^1$ ^B	(98 \pm 3) $\times 10^1$ ^B	970 \pm 5 ^B	(106 \pm 2) $\times 10^1$ ^A	(68 \pm 4) $\times 10^1$ ^D	(106 \pm 2) $\times 10^1$ ^A
Mn	0,25 \pm 0,01 ^D	0,21 \pm 0,01 ^E	0,46 \pm 0,01 ^A	0,44 \pm 0,01 ^B	0,33 \pm 0,01 ^C	0,21 \pm 0,01 ^E	0,21 \pm 0,01 ^E	0,20 \pm 0,01 ^E
Mo	1,06 \pm 0,02 ^A	1,05 \pm 0,04 ^A	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Na	(38 \pm 1) $\times 10^2$ ^D	(37 \pm 1) $\times 10^2$ ^D	(55 \pm 3) $\times 10^2$ ^B	(59 \pm 2) $\times 10^2$ ^A	(443 \pm 4) $\times 10^1$ ^C	(426 \pm 10) $\times 10^1$ ^C	(28 \pm 2) $\times 10^2$ ^E	(424 \pm 10) $\times 10^1$ ^C
Ni	0,10 \pm 0,02 ^{AB}	0,09 \pm 0,01 ^{AB}	0,05 \pm 0,01 ^{CD}	0,046 \pm 0,005 ^D	0,109 \pm 0,001 ^{AB}	0,08 \pm 0,03 ^{BC}	0,113 \pm 0,005 ^A	0,06 \pm 0,02 ^{CD}
Pb	<LQ	0,033 \pm 0,002 ^A	<LD	<LQ	0,06 \pm 0,02 ^A	<LQ	0,052 \pm 0,004 ^A	0,04 \pm 0,01 ^A
Rb	4,3 \pm 0,1 ^D	2,6 \pm 0,1 ^F	5,1 \pm 0,3 ^B	4,7 \pm 0,1 ^C	5,12 \pm 0,02 ^B	7,4 \pm 0,1 ^A	3,0 \pm 0,2 ^E	7,3 \pm 0,1 ^A
Se	<LQ	<LQ	<LD	<LD	0,41 \pm 0,03 ^A	<LQ	<LD	<LQ
Sr	13,0 \pm 0,3 ^D	14,1 \pm 0,3 ^C	20 \pm 1 ^A	16,7 \pm 0,3 ^B	5,43 \pm 0,06 ^F	13,3 \pm 0,3 ^{CD}	8,8 \pm 0,5 ^E	13,1 \pm 0,1 ^D
Tl	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
V	0,008 \pm 0,001 ^D	0,0099 \pm 0,0004 ^D	0,025 \pm 0,002 ^C	0,0492 \pm 0,0003 ^A	0,024 \pm 0,001 ^C	0,040 \pm 0,001 ^B	0,010 \pm 0,001 ^D	0,041 \pm 0,004 ^B
Zn	28 \pm 1 ^B	25,9 \pm 0,5 ^C	29 \pm 2 ^{AB}	25,7 \pm 0,6 ^C	23,7 \pm 0,2 ^C	29 \pm 1 ^A	19 \pm 3 ^E	28,9 \pm 0,5 ^{AB}

Tabla 15.

Concentraciones de elementos en muestras de leche ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) - ESTACIÓN SECA. Valores indicados como Media \pm DE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas en la concentración de un elemento entre los distintos tambos.

Elemento	TAMBO 1	TAMBO 3	TAMBO 4	TAMBO 5	TAMBO 7	TAMBO 8
Ag	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Al	12 \pm 2 ^D	16 \pm 2 ^C	21 \pm 5 ^B	13 \pm 1 ^D	12 \pm 1 ^D	24 \pm 1 ^A
As	<LD	<LQ	<LQ	<LQ	<LD	0,04 \pm 0,01 ^A
B	<LQ	<LQ	<LQ	3,3 \pm 0,9 ^B	<LQ	5,7 \pm 0,2 ^A
Ba	1,55 \pm 0,08 ^C	1,4 \pm 0,1 ^C	2,3 \pm 0,3 ^A	1,2 \pm 0,2 ^D	1,4 \pm 0,1 ^C	2,1 \pm 0,1 ^B
Be	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Ca	(70 \pm 8) $\times 10^2$ ^C	(56 \pm 5) $\times 10^2$ ^D	(10 \pm 1) $\times 10^3$ ^A	(80 \pm 3) $\times 10^2$ ^B	(69 \pm 5) $\times 10^2$ ^C	(62 \pm 2) $\times 10^2$ ^{CD}
Cd	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Co	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,011 \pm 0,001 ^A
Cr	0,034 \pm 0,005 ^D	0,10 \pm 0,01 ^B	0,08 \pm 0,02 ^B	0,16 \pm 0,03 ^A	0,08 \pm 0,02 ^B	0,060 \pm 0,002 ^C
Cu	0,45 \pm 0,02 ^{BC}	0,47 \pm 0,04 ^{BC}	0,51 \pm 0,05 ^B	0,61 \pm 0,06 ^B	0,63 \pm 0,01 ^A	0,39 \pm 0,02 ^C
Fe	8,1 \pm 0,3 ^B	8,4 \pm 0,7 ^B	9 \pm 2 ^B	9 \pm 2 ^B	13 \pm 1 ^A	12,2 \pm 0,3 ^A
Hg	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
K	(10 \pm 1) $\times 10^3$ ^{BC}	(79 \pm 7) $\times 10^2$ ^{DE}	(13 \pm 2) $\times 10^3$ ^A	(102 \pm 3) $\times 10^2$ ^B	(88 \pm 7) $\times 10^2$ ^{CD}	(73 \pm 3) $\times 10^2$ ^E
Li	0,19 \pm 0,03 ^C	0,35 \pm 0,04 ^C	1,3 \pm 0,4 ^A	0,35 \pm 0,05 ^C	0,18 \pm 0,06 ^C	1,0 \pm 0,2 ^B
Mg	(76 \pm 9) $\times 10^1$ ^{BC}	(57 \pm 4) $\times 10^1$ ^E	(9 \pm 1) $\times 10^2$ ^A	(83 \pm 2) $\times 10^1$ ^B	(67 \pm 5) $\times 10^1$ ^{CD}	(60 \pm 2) $\times 10^1$ ^{DE}
Mn	0,22 \pm 0,01 ^D	0,29 \pm 0,03 ^C	0,43 \pm 0,05 ^A	0,23 \pm 0,02 ^D	0,24 \pm 0,01 ^D	0,35 \pm 0,01 ^A
Mo	0,4 \pm 0,1 ^A	0,40 \pm 0,02 ^A	<LQ	<LQ	<LQ	0,39 \pm 0,02 ^A
Na	(21 \pm 3) $\times 10^2$ ^D	(25 \pm 2) $\times 10^2$ ^{CD}	(54 \pm 8) $\times 10^2$ ^A	(299 \pm 2) $\times 10^1$ ^B	(25 \pm 1) $\times 10^2$ ^C	(241 \pm 8) $\times 10^1$ ^{CD}
Ni	0,05 \pm 0,01 ^D	0,12 \pm 0,01 ^B	0,14 \pm 0,02 ^A	0,09 \pm 0,01 ^C	0,10 \pm 0,01 ^C	0,09 \pm 0,01 ^C
Pb	0,044 \pm 0,008 ^C	0,074 \pm 0,005 ^A	0,07 \pm 0,01 ^A	0,06 \pm 0,01 ^B	0,050 \pm 0,002 ^C	0,073 \pm 0,002 ^A
Rb	3,6 \pm 0,5 ^B	2,6 \pm 0,2 ^D	4,4 \pm 0,7 ^A	3,25 \pm 0,06 ^{BC}	3,0 \pm 0,2 ^C	3,6 \pm 0,1 ^B
Se	<LQ	<LD	<LD	0,28 \pm 0,04 ^A	<LQ	<LQ
Sr	11 \pm 1 ^B	12 \pm 1 ^B	17 \pm 3 ^A	7,6 \pm 0,3 ^C	8,7 \pm 0,6 ^C	11,6 \pm 0,4 ^B
Tl	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
V	0,049 \pm 0,007 ^C	0,04 \pm 0,01 ^C	0,10 \pm 0,01 ^B	0,042 \pm 0,004 ^C	0,03 \pm 0,01 ^D	0,22 \pm 0,01 ^A
Zn	25 \pm 1 ^A	20 \pm 2 ^{BC}	24 \pm 4 ^A	21 \pm 3 ^B	18 \pm 2 ^C	18,8 \pm 0,5 ^{BC}

Tabla 16.

Límites de detección y cuantificación en muestras de agua, suelo, forraje y leche

Elemento	LD AGUA ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	LQ AGUA ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	LD SUELO ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	LQ SUELO ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	LD FORRAJE ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	LQ FORRAJE ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	LD LECHE ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	LQ LECHE ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Ag	0,012				0,001		0,019	
Al		2,4						
As					0,065	0,13	0,011	0,018
B			0,52	1,2		0,75	1,18	1,75
Be	0,26				0,06		0,37	
Cd	0,011	0,04			0,016	0,018	0,005	0,012
Co	0,009	0,013			0,004	0,006		0,002
Cr		0,011						
Cu	0,06							
Fe		7,09						
Hg	0,28	0,67	0,01		0,017	0,024	0,21	0,27
Mn	0,091							
Mo		1,36	0,55		0,28	0,36		0,22
Ni		0,087						
Pb	0,02				0,015	0,023	0,021	0,028
Se	0,21	0,46		0,16		0,44	0,11	0,19
Tl	0,88		1,17		1,28		1,13	
Zn	2,3							

LD: Límite de detección LQ: Límite de cuantificación

Tabla 17. Isótopos estables de carbono para muestras de residuo seco de agua (RSA), suelo y leche, en estación seca y húmeda

Matriz	Estación	$\delta^{13}\text{C}$							
		TAMBO 1	TAMBO 2	TAMBO 3	TAMBO 4	TAMBO 5	TAMBO 6	TAMBO 7	TAMBO 8
RSA	<i>Seca</i>	-11,0 ± 0,2 ^{Db}		-5,3 ± 0,2 ^{Ba}	-7,4 ± 0,2 ^{Cb}	-12,4 ± 0,2 ^{Da}		-6,8 ± 0,2 ^{Ca}	-2,1 ± 0,2 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	-8,1 ± 0,2 ^{Ca}	-8,2 ± 0,2 ^C	-10,9 ± 0,2 ^{Db}	-6,2 ± 0,2 ^{Ba}	-16,2 ± 0,2 ^{Eb}	-11,6 ± 0,2 ^D	-7,6 ± 0,2 ^{Cb}	-4,7 ± 0,2 ^{Ab}
Suelo	<i>Seca</i>	-19,8 ± 0,3 ^{Aa}		-19,8 ± 0,6 ^{Ab}	-19,6 ± 0,1 ^{Ab}	-23,2 ± 0,9 ^{Cb}		-19,8 ± 0,2 ^{Ab}	-21,2 ± 0,2 ^{Bb}
	<i>Húmeda</i>	-18,9 ± 0,6 ^{Aa}	-17,9 ± 1,1 ^A	-17,7 ± 0,6 ^{Aa}	-17,9 ± 0,5 ^{Aa}	-21,2 ± 0,1 ^{Ba}	-21,8 ± 0,5 ^B	-17,9 ± 0,2 ^{Aa}	-19,4 ± 0,8 ^{Aa}
Leche	<i>Seca</i>	-16,9 ± 0,1 ^{Ab}		-18,1 ± 0,2 ^{Ba}	-19,2 ± 0,3 ^{Cb}	-19,9 ± 0,5 ^{Cb}		-18,3 ± 0,3 ^{Ba}	-17,1 ± 0,1 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	-15,9 ± 0,1 ^{Aa}	-15,7 ± 0,2 ^A	-18,1 ± 0,2 ^{Ba}	-18,6 ± 0,3 ^{Ba}	-16,1 ± 0,2 ^{Aa}	-19,7 ± 0,2 ^C	-18,5 ± 0,2 ^{Ba}	-19,6 ± 0,1 ^{Cb}

Tabla 18. Isótopos estables de nitrógeno para muestras de residuo seco de agua (RSA), suelo y leche, en estación seca y húmeda

Matriz	Estación	$\delta^{15}\text{N}$							
		TAMBO 1	TAMBO 2	TAMBO 3	TAMBO 4	TAMBO 5	TAMBO 6	TAMBO 7	TAMBO 8
RSA	<i>Seca</i>	ND		19,7 ± 0,2 ^{Aa}	17,1 ± 0,2 ^{Bb}	4,1 ± 0,2 ^{Db}		ND	7,9 ± 0,2 ^{Cb}
	<i>Húmeda</i>	4,5 ± 0,2 ^D	ND	16,1 ± 0,2 ^{Bb}	17,7 ± 0,2 ^{Aa}	4,9 ± 0,2 ^{Da}	4,9 ± 0,2 ^D	ND	8,5 ± 0,2 ^{Ca}
Suelo	<i>Seca</i>	3,9 ± 0,2 ^D		6,5 ± 1,2 ^B	8,5 ± 0,2 ^A	3,1 ± 0,6 ^{Db}		5,2 ± 0,2 ^C	ND
	<i>Húmeda</i>	ND	ND	ND	ND	7,8 ± 0,5 ^{Aa}	6,8 ± 0,6 ^A	ND	ND
Leche	<i>Seca</i>	4,8 ± 0,2 ^{Ba}		5,1 ± 0,2 ^{Bb}	5,5 ± 0,2 ^{Bb}	6,4 ± 0,2 ^{Aa}		4,9 ± 0,2 ^{Bb}	4,0 ± 0,2 ^{Cb}
	<i>Húmeda</i>	4,9 ± 0,2 ^{Ca}	4,8 ± 0,3 ^C	6,3 ± 0,1 ^{Aa}	6,3 ± 0,1 ^{Aa}	6,3 ± 0,1 ^{Aa}	4,6 ± 0,1 ^C	5,7 ± 0,1 ^{Ba}	4,6 ± 0,2 ^{Ca}

ND: No Determinado

Valores indicados como Media ± DE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas en el valor del isótopo de una matriz entre los distintos tambos. Diferentes letras minúsculas indican diferencias estadísticamente significativas en el valor del isótopo entre estaciones, para una misma matriz de un determinado tambo.

Tabla 19. Isótopos estables de nitrógeno para las muestras de los distintos forrajes de cada tambo, en estación seca y húmeda

TAMBO	ESTACIÓN	TIPO DE ALIMENTO	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
1	Húmeda	Maíz picado + pellet de trigo	-14,1 ± 0,2	3,4 ± 0,2
		Maíz picado + pellet de trigo + aditivos	-14,4 ± 0,2	4,6 ± 0,2
	Seca	Alfalfa+ sorgo+ maíz+ semilla de algodón+expeller de soja + sales minerales	-17,4 ± 0,2	8,7 ± 0,2
2	Húmeda	Maíz picado+pellet de soja	-16,1 ± 0,2	2,2 ± 0,2
		Sorgo	-12,1 ± 0,2	3,3 ± 0,2
		Alfalfa	-28,0 ± 0,2	2,7 ± 0,2
3	Húmeda	Alfalfa	-30,3 ± 0,2	2,0 ± 0,2
		Maíz	-11,9 ± 0,2	3,7 ± 0,2
	Seca	Maíz picado	-11,9 ± 0,2	14,8 ± 0,2
		Alfalfa	-28,7 ± 0,2	5,1 ± 0,2
		Maíz	-11,7 ± 0,2	5,8 ± 0,2
4	Húmeda	Maíz picado	-11,6 ± 0,2	7,3 ± 0,2
		Expeller de soja	-27,8 ± 0,2	0,9 ± 0,2
		Alfalfa	-30,1 ± 0,2	2,9 ± 0,2
		Maíz	-11,3 ± 0,2	3,3 ± 0,2
	Seca	Maíz	-10,9 ± 0,2	10,5 ± 0,2
		Expeller de soja	-26,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2
		Sorgo	-11,8 ± 0,2	5,9 ± 0,2
		Alfalfa	-28,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2
		Avena	-26,5 ± 0,2	5,4 ± 0,2
		Maíz picado	-11,9 ± 0,2	9,4 ± 0,2

Continuación Tabla 19.

TAMBO	ESTACIÓN	TIPO DE ALIMENTO	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
5	<i>Húmeda</i>	Maíz	-11,2 ± 0,2	1,7 ± 0,2
		Heno de alfalfa y sorgo	-28,6 ± 0,2	4,1 ± 0,2
	<i>Seca</i>	Sorgo	-12,2 ± 0,2	4,0 ± 0,2
		Maíz	-10,8 ± 0,2	5,7 ± 0,2
		Alfalfa	-28,5 ± 0,2	6,4 ± 0,2
6	<i>Húmeda</i>	Maíz picado	-11,6 ± 0,2	5,1 ± 0,2
		Alfalfa	-28,0 ± 0,2	0,3 ± 0,2
		Maíz	-11,1 ± 0,2	2,3 ± 0,2
		Expeller de soja	-26,8 ± 0,2	2,1 ± 0,2
7	<i>Húmeda</i>	Alfalfa	-29,3 ± 0,2	11,7 ± 0,2
	<i>Seca</i>	Maíz picado	-12,0 ± 0,2	5,2 ± 0,2
		Alfalfa	-28,3 ± 0,2	7,3 ± 0,2
8	<i>Húmeda</i>	Alfalfa	-28,1 ± 0,2	5,1 ± 0,2
		Maíz picado	-11,4 ± 0,2	2,9 ± 0,2
		Trigo	-26,0 ± 0,2	3,6 ± 0,2
	<i>Seca</i>	Alfalfa	-29,1 ± 0,2	2,4 ± 0,2
		Expeller de soja	-26,7 ± 0,2	0,5 ± 0,2
		Maíz picado	-11,9 ± 0,2	4,5 ± 0,2
		Maíz	-11,8 ± 0,2	3,0 ± 0,2

Tabla 20. Matrices de clasificación obtenidas a partir del análisis discriminante de muestras de agua, suelo, forraje y leche según la región de pertenencia, en estación húmeda y seca.

Matriz de Clasificación-Agua ESTACIÓN HÚMEDA					
	Porcentaje	CBA-NE	SANTA FE	CATAMARCA	CBA-SUR
CBA-NE	100,0000	27	0	0	0
SANTA FE	100,0000	0	18	0	0
CATAMARCA	100,0000	0	0	18	0
CBA-SUR	100,0000	0	0	0	9
Total	100,0000	27	18	18	9

Matriz de Clasificación-Agua ESTACIÓN SECA					
	Porcentaje	CBA-NE	SANTA FE	CATAMARCA	CBA-SUR
CBA-NE	100,0000	18	0	0	0
SANTA FE	100,0000	0	18	0	0
CATAMARCA	100,0000	0	0	9	0
CBA-SUR	100,0000	0	0	0	9
Total	100,0000	18	18	9	9

Matriz de Clasificación-Suelo ESTACIÓN HÚMEDA					
	Porcentaje	CBA-NE	Santa Fe	Catamarca	CBA- SUR
CBA-NE	100,0000	14	0	0	0
Santa Fe	100,0000	0	12	0	0
Catamarca	100,0000	0	0	14	0
CBA- SUR	100,0000	0	0	0	6
Total	100,0000	14	12	14	6

Matriz de Clasificación-Suelo ESTACIÓN SECA					
	Porcentaje	CBA-NE	SANTA FE	CATAMARCA	CBA-SUR
CBA-NE	100,0000	8	0	0	0
SANTA FE	100,0000	0	12	0	0
CATAMARCA	100,0000	0	0	6	0
CBA-SUR	100,0000	0	0	0	6
Total	100,0000	8	12	6	6

Continuación Tabla 20.

Matriz de Clasificación-Forraje ESTACIÓN HÚMEDA					
	Porcentaje	CBA-NE	SANTA FE	CATAMARCA	CBA-SUR
CBA-NE	100,0000	18	0	0	0
SANTA FE	100,0000	0	18	0	0
CATAMARCA	85,1852	3	1	23	0
CBA-SUR	100,0000	0	0	0	9
Total	94,4444	21	19	23	9

Matriz de Clasificación-Forraje ESTACIÓN SECA					
	Porcentaje	CBA-NE	SANTA FE	CATAMARCA	CBA-SUR
CBA-NE	90,0000	9	1	0	0
SANTA FE	100,0000	0	30	0	0
CATAMARCA	100,0000	0	0	12	0
CBA-SUR	58,3333	0	4	1	7
Total	90,6250	9	35	13	7

Matriz de Clasificación-Leche ESTACIÓN HÚMEDA					
	Porcentaje	CBA-NE	SANTA FE	CATAMARCA	CBA-SUR
CBA-NE	100,0000	27	0	0	0
SANTA FE	100,0000	0	18	0	0
CATAMARCA	100,0000	0	0	18	0
CBA-SUR	100,0000	0	0	0	9
Total	100,0000	27	18	18	9

Matriz de Clasificación-Leche ESTACIÓN SECA					
	Porcentaje	CBA-NE	SANTA FE	CATAMARCA	CBA-SUR
CBA-NE	100,0000	18	0	0	0
SANTA FE	100,0000	0	18	0	0
CATAMARCA	100,0000	0	0	9	0
CBA-SUR	100,0000	0	0	0	9
Total	100,0000	18	18	9	9

ANEXO II

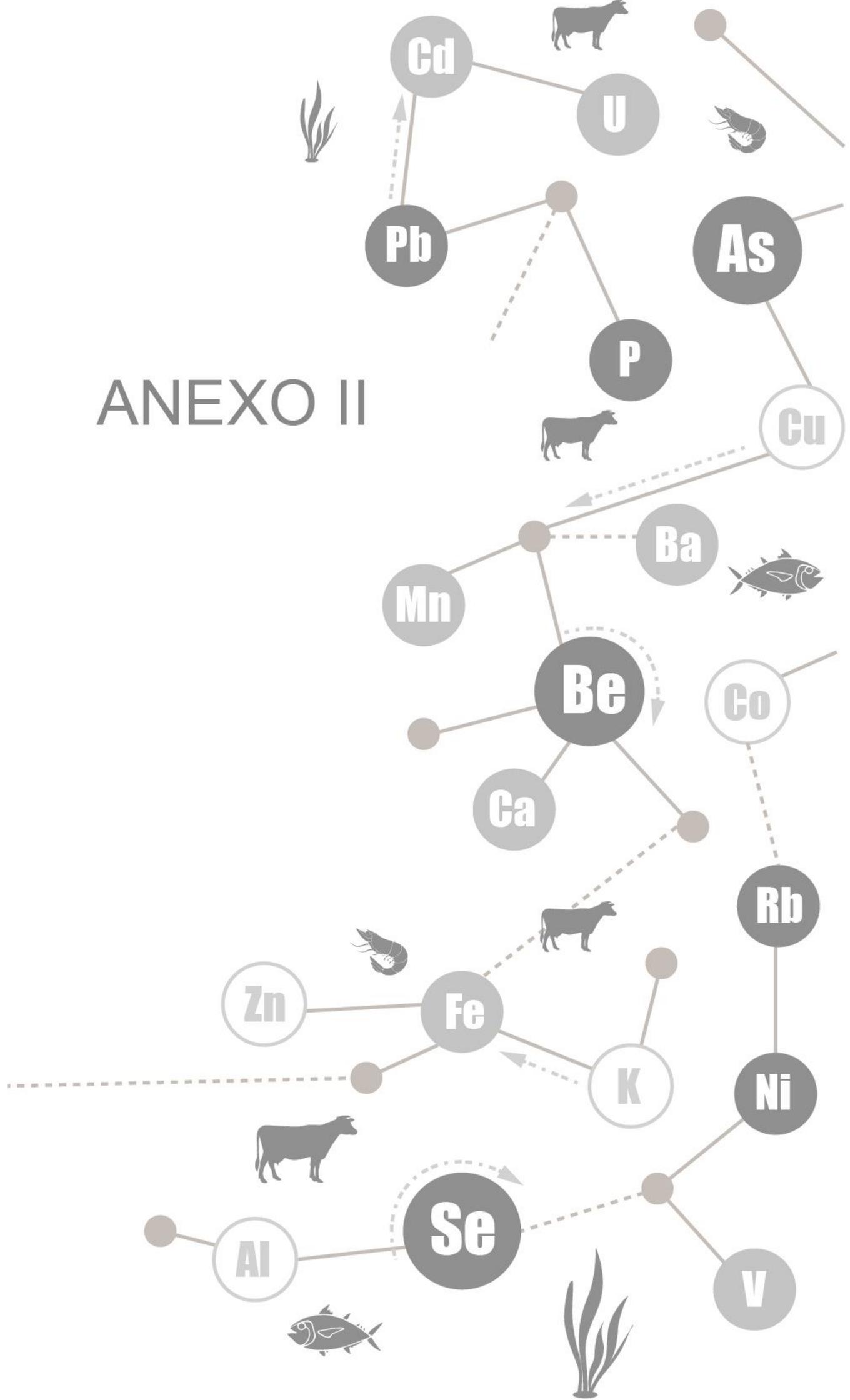


Tabla 1. Factores estandarizados de respuesta tóxica (T_r) y valores de referencia (C_n , en $g.kg^{-1}$) para metales y As en sedimentos.

Elemento	As	Cu	Cd	Cr	Hg	Pb	Zn
T_r	10	5	30	2	40	5	1
C_n	15	30	0,5	60	0,25	25	80

Tabla 2. Concentraciones de elementos en muestras de agua (media \pm DE, $\mu\text{g.L}^{-1}$) en el Lago San Roque (LSR), el Lago Los Molinos (LLM) y el Embalse de Río Tercero (ERT), durante estación seca (ES) y húmeda (EH).

Tabla 3. Concentraciones de elementos biodisponibles en muestras de sedimento (media \pm DE, $\mu\text{g.g}^{-1}$) en el Lago San Roque (LSR), el Lago Los Molinos (LLM) y el Embalse de Río Tercero (ERT), durante estación seca (ES) y húmeda (EH).

Tabla 4. Concentraciones de elementos totales en muestras de sedimento (media \pm DE, $\mu\text{g.g}^{-1}$) en el Lago San Roque (LSR), el Lago Los Molinos (LLM) y el Embalse de Río Tercero (ERT), durante estación seca (ES) y húmeda (EH).

Tabla 5. Concentraciones de elementos en muestras de plancton (media \pm DE, $\mu\text{g.g}^{-1}$) en el Lago San Roque (LSR), el Lago Los Molinos (LLM) y el Embalse de Río Tercero (ERT), durante estación seca (ES) y húmeda (EH).

Tabla 6. Concentraciones de elementos en muestras de camarones (media \pm DE, $\mu\text{g.g}^{-1}$) en el Lago San Roque (LSR), el Lago Los Molinos (LLM) y el Embalse de Río Tercero (ERT), durante estación seca (ES) y húmeda (EH).

Tabla 7. Concentraciones de elementos en muestras de pejerrey (media \pm DE, $\mu\text{g.g}^{-1}$) en el Lago San Roque (LSR), el Lago Los Molinos (LLM) y el Embalse de Río Tercero (ERT), durante estación seca (ES) y húmeda (EH).

Valores indicados como Media \pm DE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas en la concentración de un elemento entre los distintos lagos y diferentes letras minúsculas, indican diferencias entre las estaciones.

Tabla 2.

MUESTRAS DE AGUA ($\mu\text{g.L}^{-1}$)

Elemento	Estación	Lago San Roque	Lago Los Molinos	Embalse de Río Tercero
Ag	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Al	<i>Seca</i>	27 ± 1 ^{Ab}	10 ± 1 ^{Bb}	<LD
	<i>Húmeda</i>	35 ± 2 ^{Aa}	14,4 ± 0,1 ^{Ba}	5,4 ± 0,4 ^{Ca}
As	<i>Seca</i>	2,01 ± 0,03 ^{Aa}	0,98 ± 0,05 ^{Cb}	1,34 ± 0,06 ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	2,1 ± 0,1 ^{Aa}	1,47 ± 0,04 ^{Ba}	<LQ
B	<i>Seca</i>	124 ± 1 ^{Aa}	33,5 ± 0,5 ^{Ca}	50 ± 2 ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	40 ± 3 ^{Ab}	20 ± 1 ^{Cb}	33 ± 2 ^{Bb}
Ba	<i>Seca</i>	26,9 ± 0,1 ^{Aa}	13,3 ± 0,2 ^{Ca}	15,3 ± 0,2 ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	16,8 ± 0,5 ^{Ab}	10,8 ± 0,1 ^{Cb}	14,8 ± 0,3 ^{Ba}
Be	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	0,16 ± 0,01 ^{Aa}	<LD	<LD
Bi	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Cd	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Co	<i>Seca</i>	0,10 ± 0,01 ^{Ab}	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	0,15 ± 0,01 ^{Aa}	0,079 ± 0,002 ^{Ba}	0,035 ± 0,0011 ^{Ca}
Cr	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Cu	<i>Seca</i>	0,94 ± 0,01 ^{Ab}	0,048 ± 0,001 ^{Bb}	0,9 ± 0,1 ^{Ab}
	<i>Húmeda</i>	2,0 ± 0,3 ^{Aa}	1,3 ± 0,1 ^{Ba}	1,4 ± 0,1 ^{Ba}
Fe	<i>Seca</i>	65 ± 3 ^{Ab}	23 ± 2 ^{Bb}	<LQ
	<i>Húmeda</i>	186 ± 3 ^{Aa}	51 ± 1 ^{Ba}	27 ± 1 ^{Ca}
Ga	<i>Seca</i>	2,7 ± 0,1 ^{Aa}	1,36 ± 0,04 ^{Ca}	1,52 ± 0,05 ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	1,67 ± 0,02 ^{Ab}	1,052 ± 0,005 ^{Cb}	1,5 ± 0,1 ^{Ba}
Hg	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Li	<i>Seca</i>	18,3 ± 0,1 ^{Aa}	3,15 ± 0,05 ^{Ba}	1,9 ± 0,1 ^{Ca}
	<i>Húmeda</i>	7,9 ± 0,4 ^{Ab}	2,4 ± 0,1 ^{Bb}	1,3 ± 0,1 ^{Cb}
Mn	<i>Seca</i>	7,0 ± 0,1 ^{Ab}	5,0 ± 0,1 ^{Bb}	<LQ
	<i>Húmeda</i>	63 ± 1 ^{Aa}	13,3 ± 0,2 ^{Ba}	10,0 ± 0,2 ^{Ca}
Mo	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Ni	<i>Seca</i>	0,43 ± 0,01 ^{Ba}	0,56 ± 0,01 ^{Aa}	0,25 ± 0,02 ^{Cb}
	<i>Húmeda</i>	0,42 ± 0,03 ^{Ba}	<LQ	0,60 ± 0,03 ^{Aa}
P	<i>Seca</i>	18 ± 2 ^{Bb}	24 ± 2 ^{Ab}	22 ± 1 ^{ABa}
	<i>Húmeda</i>	130 ± 2 ^{Ba}	158 ± 2 ^{Aa}	15 ± 1 ^{Cb}
Pb	<i>Seca</i>	0,41 ± 0,02 ^{Aa}	0,05 ± 0,02 ^{Ba}	0,03 ± 0,01 ^{Bb}
	<i>Húmeda</i>	0,13 ± 0,01 ^{Bb}	0,08 ± 0,01 ^{Ca}	2,34 ± 0,02 ^{Aa}
Rb	<i>Seca</i>	1,2 ± 0,1 ^{Ab}	0,78 ± 0,02 ^{Cb}	0,87 ± 0,01 ^{Bb}
	<i>Húmeda</i>	1,54 ± 0,04 ^{Aa}	1,138 ± 0,005 ^{Ba}	0,94 ± 0,02 ^{Ca}
Se	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Sr	<i>Seca</i>	200 ± 4 ^{Aa}	69 ± 1 ^{Ca}	88 ± 1 ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	84,8 ± 0,4 ^{Ab}	50,5 ± 0,2 ^{Cb}	72 ± 2 ^{Bb}
Tl	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
U	<i>Seca</i>	9,2 ± 0,1 ^{Aa}	0,36 ± 0,02 ^{Ca}	0,66 ± 0,02 ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	1,65 ± 0,01 ^{Ab}	0,119 ± 0,006 ^{Cb}	0,296 ± 0,005 ^{Bb}
V	<i>Seca</i>	6,8 ± 0,1 ^{Aa}	1,12 ± 0,03 ^{Cb}	2,8 ± 0,1 ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	3,23 ± 0,05 ^{Ab}	1,8 ± 0,1 ^{Ca}	2,5 ± 0,1 ^{Bb}
Zn	<i>Seca</i>	4,1 ± 0,4 ^{Aa}	3,6 ± 0,4 ^{Aa}	<LD
	<i>Húmeda</i>	3,7 ± 0,5 ^{Aa}	3,9 ± 0,2 ^{Aa}	<LD

Tabla 3.

MUESTRAS DE SEDIMENTO BIODISPONIBLES ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

Elemento	Estación	Lago San Roque	Lago Los Molinos	Embalse de Río Tercero
Ag	Seca	<LD	<LD	<LD
	Húmeda	<LD	<LD	0,0024 ± 0,0001 ^{Aa}
Al	Seca	0,11 ± 0,02 ^{Bb}	0,0113 ± 0,0005 ^{Ca}	0,432 ± 0,001 ^{Aa}
	Húmeda	0,21 ± 0,02 ^{Aa}	0,5 ± 0,4 ^{Aa}	0,17 ± 0,02 ^{Ab}
As	Seca	0,0280 ± 0,0004 ^{Bb}	0,042 ± 0,004 ^{Ba}	0,06 ± 0,01 ^{Aa}
	Húmeda	0,11 ± 0,01 ^{Aa}	0,046 ± 0,003 ^{Ba}	0,031 ± 0,005 ^{Ba}
B	Seca	0,26045 ± 0,00002 ^{Cb}	0,92 ± 0,02 ^{Aa}	0,31 ± 0,01 ^{Bb}
	Húmeda	4,9 ± 0,1 ^{Aa}	0,63 ± 0,01 ^{Bb}	0,5 ± 0,1 ^{Ba}
Ba	Seca	1,91 ± 0,05 ^{ABa}	2,2 ± 0,4 ^{Ab}	1,2 ± 0,1 ^{Bb}
	Húmeda	0,83 ± 0,02 ^{Bb}	3,48 ± 0,03 ^{Aa}	4,1 ± 0,5 ^{Aa}
Be	Seca	<LD	<LD	<LD
	Húmeda	<LD	<LD	<LD
Bi	Seca	0,016 ± 0,001 ^{Aa}	<LD	<LD
	Húmeda	<LD	<LD	<LD
Cd	Seca	0,006 ± 0,001 ^{Bb}	0,01088 ± 0,00001 ^{Bb}	0,024 ± 0,006 ^{Aa}
	Húmeda	0,019 ± 0,002 ^{Ba}	0,025 ± 0,002 ^{Aa}	0,016 ± 0,001 ^{Ba}
Co	Seca	0,05 ± 0,01 ^{Bb}	0,101 ± 0,002 ^{Aa}	0,04 ± 0,01 ^{Ba}
	Húmeda	0,12 ± 0,01 ^{Aa}	0,039 ± 0,001 ^{Cb}	0,071 ± 0,002 ^{Ba}
Cr	Seca	0,0091 ± 0,0001 ^{Aa}	0,00042 ± 0,0001 ^{Ca}	0,0064 ± 0,0001 ^{Ba}
	Húmeda	0,0043 ± 0,0001 ^{Ab}	<LD	0,0041 ± 0,0003 ^{Aa}
Cu	Seca	0,5 ± 0,1 ^{Bb}	0,67 ± 0,02 ^{Bb}	4 ± 1 ^{Aa}
	Húmeda	2,1 ± 0,2 ^{Aa}	1,4 ± 0,1 ^{Ba}	0,7 ± 0,1 ^{Cb}
Fe	Seca	17 ± 4 ^{Ba}	30 ± 3 ^{Aa}	38 ± 10 ^{Aa}
	Húmeda	6,3 ± 0,2 ^{Bb}	11,75 ± 0,03 ^{Bb}	52 ± 5 ^{Aa}
Ga	Seca	0,155 ± 0,002 ^{ABa}	0,19 ± 0,03 ^{Ab}	0,10 ± 0,01 ^{Bb}
	Húmeda	0,074 ± 0,001 ^{Bb}	0,33 ± 0,01 ^{Aa}	0,40 ± 0,04 ^{Aa}
Hg	Seca	<LD	<LD	<LD
	Húmeda	<LD	<LD	<LD
Li	Seca	0,096 ± 0,003 ^{Ab}	0,066 ± 0,004 ^{Ba}	0,0236 ± 0,0001 ^{Cb}
	Húmeda	0,1787 ± 0,0004 ^{Aa}	0,0731 ± 0,0005 ^{Ba}	0,046 ± 0,001 ^{Ca}
Mn	Seca	2,3 ± 0,5 ^{Cb}	7,8 ± 0,1 ^{Aa}	5 ± 1 ^{Ba}
	Húmeda	15 ± 1 ^{Aa}	4,4 ± 0,1 ^{Bb}	5,5 ± 0,1 ^{Ba}
Mo	Seca	0,006 ± 0,002 ^{Ba}	0,0062 ± 0,0001 ^{Ba}	0,05 ± 0,01 ^{Aa}
	Húmeda	<LD	<LD	<LD
Ni	Seca	0,071 ± 0,002 ^{Bb}	0,176 ± 0,001 ^{ABb}	0,26 ± 0,09 ^{Ab}
	Húmeda	0,40 ± 0,02 ^{Ba}	0,29 ± 0,02 ^{Ba}	1,1 ± 0,1 ^{Aa}
P	Seca	0,83 ± 0,03 ^{Aa}	0,64 ± 0,01 ^{Aa}	0,8 ± 0,1 ^{Aa}
	Húmeda	0,14 ± 0,08 ^{Bb}	0,31 ± 0,05 ^{Ab}	0,31 ± 0,03 ^{Ab}
Pb	Seca	1,8 ± 0,1 ^{Ba}	0,46 ± 0,01 ^{Bb}	5,4 ± 1,5 ^{Aa}
	Húmeda	3 ± 1 ^{Aa}	0,75 ± 0,05 ^{Ba}	0,51 ± 0,03 ^{Bb}
Rb	Seca	0,054 ± 0,003 ^{Bb}	0,09 ± 0,01 ^{Aa}	0,079 ± 0,004 ^{Aa}
	Húmeda	0,065 ± 0,002 ^{Aa}	0,0686 ± 0,0004 ^{Ab}	0,06 ± 0,01 ^{Aa}
Se	Seca	0,03 ± 0,01 ^{Cb}	0,113 ± 0,001 ^{Ab}	0,07 ± 0,01 ^{Ba}
	Húmeda	0,27 ± 0,02 ^{Aa}	0,24 ± 0,01 ^{Aa}	0,11 ± 0,01 ^{Ba}
Sr	Seca	3,30 ± 0,02 ^{Bb}	4,5 ± 0,4 ^{Ab}	3,9 ± 0,2 ^{ABb}
	Húmeda	9,8 ± 0,2 ^{Aa}	7,11 ± 0,05 ^{Ba}	7 ± 1 ^{Ba}
Tl	Seca	<LD	<LD	<LD
	Húmeda	<LD	<LD	<LD
U	Seca	0,004 ± 0,001 ^{Bb}	<LD	0,007 ± 0,001 ^{Aa}
	Húmeda	0,0087 ± 0,0005 ^{Aa}	0,0037 ± 0,0001 ^{Ba}	0,0033 ± 0,0001 ^{Bb}
V	Seca	0,117 ± 0,001 ^{Ab}	0,07 ± 0,01 ^{Bb}	0,123 ± 0,001 ^{Aa}
	Húmeda	0,29 ± 0,02 ^{Aa}	0,21 ± 0,01 ^{Ba}	0,10 ± 0,01 ^{Cb}
Zn	Seca	1,1 ± 0,3 ^{Ba}	0,835 ± 0,004 ^{Ba}	6 ± 2 ^{Aa}
	Húmeda	1,5 ± 0,1 ^{Ba}	0,5 ± 0,1 ^{Cb}	2,0 ± 0,1 ^{Aa}

Tabla 4.

MUESTRAS DE SEDIMENTO TOTAL ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

Elemento	Estación	Lago San Roque	Lago Los Molinos	Embalse de Río Tercero
Ag	Seca	0,038 ± 0,001 ^{Ab}	0,005 ± 0,001 ^{Cb}	0,009 ± 0,003 ^{Bb}
	Húmeda	0,07 ± 0,01 ^{Aa}	0,04 ± 0,01 ^{Aa}	0,05 ± 0,02 ^{Aa}
Al	Seca	1127 ± 110 ^{Ba}	1375 ± 55 ^{Ba}	3499 ± 477 ^{Aa}
	Húmeda	1182 ± 3 ^{Ba}	1411 ± 71 ^{Aa}	1017 ± 50 ^{Cb}
As	Seca	1,29 ± 0,04 ^{Ba}	1,57 ± 0,04 ^{Aa}	1,3 ± 0,1 ^{ABa}
	Húmeda	1,32 ± 0,02 ^{Ba}	1,9 ± 0,1 ^{Aa}	0,8 ± 0,1 ^{Cb}
B	Seca	0,65 ± 0,02 ^{Bb}	1,51 ± 0,02 ^{Aa}	0,72 ± 0,04 ^{Ba}
	Húmeda	4,87 ± 0,03 ^{Aa}	0,63 ± 0,01 ^{Bb}	0,5 ± 0,1 ^{Bb}
Ba	Seca	17,8 ± 0,2 ^{Cb}	35,7 ± 0,2 ^{Bb}	70 ± 8 ^{Aa}
	Húmeda	75 ± 5 ^{Aa}	84 ± 4 ^{Aa}	51 ± 4 ^{Ba}
Be	Seca	0,40 ± 0,01 ^{Aa}	0,175 ± 0,002 ^{Ba}	0,18 ± 0,02 ^{Ba}
	Húmeda	0,12 ± 0,01 ^{Bb}	0,1485 ± 0,0003 ^{Ab}	0,12 ± 0,01 ^{Bb}
Bi	Seca	0,8 ± 0,1 ^{Aa}	0,063 ± 0,003 ^{Bb}	0,063 ± 0,002 ^{Ba}
	Húmeda	0,171 ± 0,003 ^{Ab}	0,124 ± 0,004 ^{Ba}	0,054 ± 0,007 ^{Ca}
Cd	Seca	0,027 ± 0,001 ^{Bb}	0,0305 ± 0,0001 ^{Bb}	0,08 ± 0,01 ^{Aa}
	Húmeda	0,083 ± 0,007 ^{Aa}	0,090 ± 0,001 ^{Aa}	0,050 ± 0,003 ^{Bb}
Co	Seca	1,33 ± 0,06 ^{Bb}	2,15 ± 0,02 ^{Bb}	4,6 ± 0,6 ^{Aa}
	Húmeda	1,95 ± 0,04 ^{Ba}	2,6 ± 0,1 ^{Aa}	2,0 ± 0,1 ^{Bb}
Cr	Seca	2,3 ± 0,1 ^{Ba}	2,9 ± 0,1 ^{Ba}	8 ± 1 ^{Aa}
	Húmeda	2,53 ± 0,05 ^{Ba}	2,1 ± 0,1 ^{Bb}	4,9 ± 0,3 ^{Ab}
Cu	Seca	3,3 ± 0,2 ^{Bb}	3,73 ± 0,02 ^{Bb}	22 ± 2 ^{Aa}
	Húmeda	6,3 ± 0,1 ^{Aa}	5,6 ± 0,1 ^{Aa}	3,9 ± 0,4 ^{Bb}
Fe	Seca	3096 ± 139 ^{Ba}	3597 ± 56 ^{Ba}	7644 ± 1106 ^{Aa}
	Húmeda	2379 ± 77 ^{Bb}	2858 ± 146 ^{Ab}	2794 ± 151 ^{Ab}
Ga	Seca	1,68 ± 0,04 ^{Bb}	3,12 ± 0,02 ^{Bb}	8 ± 1 ^{Aa}
	Húmeda	2,44 ± 0,03 ^{Ca}	4,77 ± 0,01 ^{Aa}	3,7 ± 0,3 ^{Bb}
Hg	Seca	0,11 ± 0,03 ^{Ba}	0,04 ± 0,01 ^{Cb}	0,19 ± 0,02 ^{Aa}
	Húmeda	0,090 ± 0,007 ^{Aa}	0,052 ± 0,005 ^{Ba}	0,026 ± 0,002 ^{Cb}
Li	Seca	3,8 ± 0,4 ^{Ba}	2,39 ± 0,04 ^{Ba}	6,5 ± 0,8 ^{Aa}
	Húmeda	1,6 ± 0,1 ^{Ab}	1,4 ± 0,3 ^{Bb}	0,9 ± 0,1 ^{Cb}
Mn	Seca	49 ± 3 ^{Bb}	75 ± 1 ^{Bb}	134 ± 16 ^{Aa}
	Húmeda	113 ± 1 ^{Ba}	165 ± 9 ^{Aa}	57 ± 3 ^{Cb}
Mo	Seca	0,132 ± 0,003 ^{Bb}	0,104 ± 0,001 ^{Bb}	0,35 ± 0,03 ^{Aa}
	Húmeda	0,27 ± 0,01 ^{Aa}	0,18 ± 0,01 ^{Ba}	0,13 ± 0,01 ^{Cb}
Ni	Seca	1,8 ± 0,1 ^{Bb}	2,5 ± 0,1 ^{Ba}	8 ± 1 ^{Aa}
	Húmeda	2,95 ± 0,02 ^{Ba}	2,75 ± 0,06 ^{Ba}	11,2 ± 0,6 ^{Aa}
P	Seca	133 ± 9 ^{Aa}	23 ± 4 ^{Bb}	12,9 ± 0,5 ^{Bb}
	Húmeda	97 ± 3 ^{Bb}	136 ± 10 ^{Ba}	373 ± 55 ^{Aa}
Pb	Seca	7,2 ± 0,6 ^{Bb}	4,2 ± 0,1 ^{Bb}	43 ± 3 ^{Aa}
	Húmeda	18 ± 1 ^{Aa}	8,7 ± 0,1 ^{Ba}	5 ± 1 ^{Cb}
Rb	Seca	5,2 ± 0,7 ^{Bb}	3,72 ± 0,01 ^{Ba}	14 ± 2 ^{Aa}
	Húmeda	8,5 ± 0,5 ^{Aa}	5,0 ± 0,5 ^{Ba}	2,7 ± 0,2 ^{Cb}
Se	Seca	2,0 ± 0,3 ^{Aa}	0,81 ± 0,01 ^{Bb}	1,1 ± 0,1 ^{Ba}
	Húmeda	0,84 ± 0,02 ^{Bb}	1,11 ± 0,07 ^{Aa}	1,0 ± 0,1 ^{ABa}
Sr	Seca	12,32 ± 0,01 ^{Bb}	20,9 ± 0,3 ^{Ab}	13 ± 1 ^{Bb}
	Húmeda	48 ± 1 ^{Aa}	39 ± 3 ^{Ba}	35 ± 2 ^{Ba}
Tl	Seca	<LD	<LD	<LD
	Húmeda	0,114 ± 0,002 ^{Aa}	0,076 ± 0,007 ^{Ba}	0,034 ± 0,002 ^{Ca}
U	Seca	1,36 ± 0,04 ^{Aa}	0,229 ± 0,005 ^{Cb}	0,83 ± 0,06 ^{Ba}
	Húmeda	0,55 ± 0,01 ^{Ab}	0,32 ± 0,01 ^{Ba}	0,52 ± 0,07 ^{Ab}
V	Seca	9,1 ± 0,1 ^{Ba}	10,5 ± 0,3 ^{Ba}	23 ± 3 ^{Aa}
	Húmeda	6,6 ± 0,2 ^{Bb}	10,5 ± 0,2 ^{Aa}	7,4 ± 0,5 ^{Bb}
Zn	Seca	14 ± 1 ^{Ba}	10,8 ± 0,5 ^{Ba}	61 ± 7 ^{Aa}
	Húmeda	9,4 ± 0,1 ^{Bb}	8,8 ± 0,2 ^{Bb}	13,5 ± 0,7 ^{Ab}

Tabla 5.

MUESTRAS DE PLANCTON ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

Elemento	Estación	Lago San Roque	Lago Los Molinos	Embalse de Río Tercero
Ag	Seca	0,84 ± 0,02 ^{Aa}	<LD	<LD
	Húmeda	0,6 ± 0,1 ^{Ab}	0,27 ± 0,04 ^{Ba}	0,17 ± 0,02 ^{Ba}
Al	Seca	4962 ± 37 ^{Ba}	17541 ± 1121 ^{Aa}	3841 ± 27 ^{Bb}
	Húmeda	216 ± 32 ^{Cb}	4887 ± 761 ^{Bb}	7721 ± 364 ^{Aa}
As	Seca	4,53 ± 0,04 ^{Bb}	6,4 ± 0,5 ^{Ab}	6,6 ± 0,1 ^{Aa}
	Húmeda	33 ± 3 ^{Aa}	38 ± 7 ^{Aa}	2,9 ± 0,1 ^{Bb}
B	Seca	17,4 ± 0,2 ^{Ba}	32 ± 1 ^{Aa}	9,7 ± 0,3 ^{Ca}
	Húmeda	<LD	<LD	<LD
Ba	Seca	68,9 ± 0,5 ^{Ca}	337 ± 26 ^{Ba}	1594 ± 27 ^{Aa}
	Húmeda	2,6 ± 0,5 ^{Cb}	36 ± 4 ^{Bb}	137 ± 6 ^{Ab}
Be	Seca	2,43 ± 0,03 ^{Aa}	0,83 ± 0,05 ^{Ba}	<LD
	Húmeda	<LD	<LD	0,33 ± 0,01 ^{Aa}
Bi	Seca	<LD	<LD	<LD
	Húmeda	<LD	<LD	<LD
Cd	Seca	0,18 ± 0,01 ^{Aa}	0,077 ± 0,003 ^{Ba}	0,15 ± 0,03 ^{Aa}
	Húmeda	0,053 ± 0,005 ^{Bb}	0,060 ± 0,001 ^{Bb}	0,14 ± 0,02 ^{Aa}
Co	Seca	4,17 ± 0,01 ^{Ba}	8,5 ± 0,7 ^{Aa}	3,63 ± 0,06 ^{Bb}
	Húmeda	0,39 ± 0,05 ^{Cb}	2,4 ± 0,5 ^{Bb}	6,7 ± 0,5 ^{Aa}
Cr	Seca	5,25 ± 0,06 ^{Ba}	20 ± 1 ^{Aa}	5,79 ± 0,05 ^{Bb}
	Húmeda	0,6 ± 0,1 ^{Cb}	9,8 ± 0,6 ^{Bb}	15 ± 1 ^{Aa}
Cu	Seca	25,4 ± 0,3 ^{Aa}	15 ± 1 ^{Ca}	21,9 ± 0,2 ^{Ba}
	Húmeda	<LQ	9 ± 1 ^{Bb}	19 ± 1 ^{Ab}
Fe	Seca	10054 ± 119 ^{Ba}	19952 ± 1683 ^{Aa}	8380 ± 47 ^{Bb}
	Húmeda	464 ± 47 ^{Cb}	5556 ± 888 ^{Bb}	13781 ± 652 ^{Aa}
Ga	Seca	8,9 ± 0,1 ^{Ca}	39 ± 3 ^{Ba}	175 ± 1 ^{Aa}
	Húmeda	0,3 ± 0,1 ^{Cb}	3,6 ± 0,3 ^{Bb}	9,6 ± 0,4 ^{Ab}
Hg	Seca	0,24 ± 0,01 ^{Ab}	0,12 ± 0,01 ^{Bb}	<LD
	Húmeda	0,9 ± 0,1 ^{Ba}	1,4 ± 0,2 ^{Aa}	0,9 ± 0,1 ^{Ba}
Li	Seca	11,5 ± 0,3 ^{Ba}	17 ± 1 ^{Aa}	5,89 ± 0,05 ^{Cb}
	Húmeda	0,32 ± 0,05 ^{Cb}	4,0 ± 0,7 ^{Bb}	7,0 ± 0,5 ^{Aa}
Mn	Seca	372 ± 4 ^{Ca}	846 ± 63 ^{Ba}	1786 ± 12 ^{Aa}
	Húmeda	83 ± 14 ^{Bb}	106 ± 26 ^{Bb}	542 ± 69 ^{Ab}
Mo	Seca	<LD	<LD	<LD
	Húmeda	<LD	<LD	<LD
Ni	Seca	7,34 ± 0,05 ^{Ba}	13 ± 1 ^{Aa}	6,8 ± 0,1 ^{Bb}
	Húmeda	1,0 ± 0,2 ^{Bb}	4 ± 1 ^{Bb}	34 ± 4 ^{Aa}
P	Seca	285 ± 12 ^{Bb}	66 ± 2 ^{Cb}	2309 ± 40 ^{Aa}
	Húmeda	5672 ± 141 ^{Aa}	3825 ± 78 ^{Ba}	1860 ± 116 ^{Cb}
Pb	Seca	11,4 ± 0,4 ^{Aa}	10 ± 1 ^{Ba}	7,6 ± 0,3 ^{Ca}
	Húmeda	0,6 ± 0,1 ^{Cb}	5 ± 1 ^{Bb}	10 ± 2 ^{Aa}
Rb	Seca	22,1 ± 0,1 ^{Ba}	35 ± 2 ^{Aa}	12,8 ± 0,1 ^{Cb}
	Húmeda	3,0 ± 0,5 ^{Cb}	13 ± 2 ^{Bb}	23 ± 1 ^{Aa}
Se	Seca	3,3 ± 0,3 ^{Ba}	4,0 ± 0,1 ^{Aa}	<LD
	Húmeda	<LQ	<LQ	<LQ
Sr	Seca	78,7 ± 0,3 ^{Aa}	66 ± 5 ^{Ba}	49,5 ± 0,3 ^{Cb}
	Húmeda	8 ± 2 ^{Cb}	23 ± 3 ^{Bb}	89 ± 6 ^{Aa}
Tl	Seca	<LD	<LD	<LD
	Húmeda	<LD	<LD	0,14 ± 0,01 ^{Aa}
U	Seca	8,0 ± 0,3 ^{Aa}	1,7 ± 0,1 ^{Ba}	1,2 ± 0,1 ^{Ca}
	Húmeda	<LD	<LD	1,4 ± 0,2 ^{Aa}
V	Seca	30,0 ± 0,2 ^{Ba}	55 ± 4 ^{Aa}	20,5 ± 0,2 ^{Cb}
	Húmeda	0,8 ± 0,2 ^{Cb}	13 ± 2 ^{Bb}	27 ± 1 ^{Aa}
Zn	Seca	52 ± 1 ^{Aa}	47 ± 4 ^{Bb}	56 ± 1 ^{Aa}
	Húmeda	53 ± 14 ^{Ba}	76 ± 14 ^{Aa}	63 ± 7 ^{ABa}

Tabla 6.

MUESTRAS DE CAMARÓN ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

Elemento	Estación	Lago San Roque	Lago Los Molinos	Embalse de Río Tercero
Ag	<i>Seca</i>	0,17 ± 0,03 ^{Aa}	0,04 ± 0,01 ^{Bb}	<LD
	<i>Húmeda</i>	0,17 ± 0,01 ^{Ba}	0,17 ± 0,01 ^{Ba}	0,23 ± 0,05 ^{Aa}
Al	<i>Seca</i>	208 ± 32 ^{Ba}	254 ± 50 ^{Ba}	401 ± 60 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	151 ± 15 ^{Bb}	214 ± 24 ^{Aa}	151 ± 34 ^{Bb}
As	<i>Seca</i>	13 ± 2 ^{Aa}	7,1 ± 0,4 ^{Bb}	4,3 ± 0,1 ^{Ca}
	<i>Húmeda</i>	5,7 ± 0,6 ^{Bb}	8,8 ± 0,8 ^{Aa}	4 ± 1 ^{Ba}
B	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Ba	<i>Seca</i>	50 ± 9 ^{Ba}	31 ± 5 ^{Ca}	74 ± 4 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	24 ± 2 ^{Cb}	34 ± 3 ^{Ba}	48 ± 13 ^{Ab}
Be	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Bi	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Cd	<i>Seca</i>	0,02 ± 0,01 ^{Bb}	0,04 ± 0,01 ^{Ab}	0,044 ± 0,004 ^{Ab}
	<i>Húmeda</i>	0,07 ± 0,01 ^{Ba}	0,10 ± 0,01 ^{ABa}	0,12 ± 0,01 ^{Aa}
Co	<i>Seca</i>	0,23 ± 0,05 ^{Ca}	0,31 ± 0,05 ^{Ba}	0,41 ± 0,07 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	0,22 ± 0,03 ^{Ba}	0,27 ± 0,02 ^{Ab}	0,29 ± 0,03 ^{Ab}
Cr	<i>Seca</i>	0,5 ± 0,1 ^{Bb}	0,53 ± 0,03 ^{Bb}	0,7 ± 0,1 ^{Ab}
	<i>Húmeda</i>	1,4 ± 0,2 ^{Ba}	3,4 ± 0,5 ^{Aa}	1,1 ± 0,1 ^{Ba}
Cu	<i>Seca</i>	124 ± 25 ^{Ba}	86 ± 8 ^{Ca}	145 ± 5 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	51 ± 10 ^{Bb}	35 ± 2 ^{Bb}	96 ± 19 ^{Ab}
Fe	<i>Seca</i>	357 ± 94 ^{Ba}	364 ± 73 ^{Ba}	800 ± 127 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	163 ± 42 ^{Bb}	277 ± 32 ^{Ab}	317 ± 81 ^{Ab}
Ga	<i>Seca</i>	5,1 ± 0,9 ^{Ba}	3,1 ± 0,5 ^{Ca}	7,1 ± 0,4 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	2,2 ± 0,2 ^{Cb}	3,2 ± 0,3 ^{Ba}	4 ± 1 ^{Ab}
Hg	<i>Seca</i>	0,9 ± 0,1 ^{Aa}	0,39 ± 0,04 ^{Cb}	0,48 ± 0,05 ^{Bb}
	<i>Húmeda</i>	1,1 ± 0,4 ^{Ba}	2,6 ± 0,4 ^{Aa}	1 ± 0,1 ^{Ba}
Li	<i>Seca</i>	0,9 ± 0,2 ^{ABa}	0,6 ± 0,2 ^{Ba}	1,0 ± 0,1 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	<LQ	<LQ	<LQ
Mn	<i>Seca</i>	24 ± 4 ^{Bb}	31 ± 5 ^{Aa}	34 ± 2 ^{Ab}
	<i>Húmeda</i>	34 ± 5 ^{Ba}	26 ± 2 ^{Ca}	44 ± 8 ^{Aa}
Mo	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LQ	<LQ	<LQ
Ni	<i>Seca</i>	0,55 ± 0,08 ^{Bb}	0,45 ± 0,04 ^{Cb}	0,70 ± 0,06 ^{Ab}
	<i>Húmeda</i>	0,9 ± 0,1 ^{Ba}	1,6 ± 0,2 ^{Aa}	1,0 ± 0,2 ^{Ba}
P	<i>Seca</i>	13448 ± 1645 ^{Aa}	9625 ± 998 ^{Bb}	11062 ± 1087 ^{Bb}
	<i>Húmeda</i>	12319 ± 694 ^{Ba}	13094 ± 1290 ^{ABa}	16006 ± 4351 ^{Aa}
Pb	<i>Seca</i>	0,33 ± 0,08 ^{Ab}	0,16 ± 0,03 ^{Bb}	0,39 ± 0,05 ^{Ab}
	<i>Húmeda</i>	0,9 ± 0,1 ^{Aa}	0,7 ± 0,2 ^{Aa}	0,50 ± 0,03 ^{Ba}
Rb	<i>Seca</i>	10 ± 2 ^{Aa}	8,6 ± 0,6 ^{ABa}	7,4 ± 0,4 ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	9,1 ± 0,8 ^{Aa}	8,4 ± 0,5 ^{Aa}	7 ± 1 ^{Ba}
Se	<i>Seca</i>	2,4 ± 0,4 ^{Aa}	1,9 ± 0,2 ^{Ba}	2,41 ± 0,07 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	<LQ	<LQ	<LQ
Sr	<i>Seca</i>	146 ± 26 ^{Aa}	71 ± 11 ^{Cb}	98 ± 4 ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	79 ± 7 ^{Bb}	84 ± 9 ^{Ba}	119 ± 31 ^{Aa}
Tl	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
U	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
V	<i>Seca</i>	1,0 ± 0,3 ^{Ba}	1,1 ± 0,2 ^{Ba}	2,1 ± 0,4 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	0,43 ± 0,03 ^{Bb}	0,76 ± 0,07 ^{Ab}	0,5 ± 0,2 ^{Bb}
Zn	<i>Seca</i>	87 ± 16 ^{Ab}	72 ± 7 ^{Bb}	93 ± 9 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	136 ± 15 ^{Ba}	172 ± 25 ^{Aa}	109 ± 13 ^{Ca}

Tabla 7.

MUESTRAS DE PECES ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

Elemento	Estación	Lago San Roque	Lago Los Molinos	Embalse de Río Tercero
Ag	<i>Seca</i>	0,22 ± 0,08 ^{Aa}	0,12 ± 0,05 ^{Ba}	<LD
	<i>Húmeda</i>	0,033 ± 0,003 ^{Ab}	0,04 ± 0,01 ^{Ab}	<LD
Al	<i>Seca</i>	7 ± 3 ^{Aa}	3 ± 1 ^{Bb}	5 ± 2 ^{Ab}
	<i>Húmeda</i>	3,1 ± 0,6 ^{Cb}	4,3 ± 0,4 ^{Ba}	19 ± 1 ^{Aa}
As	<i>Seca</i>	2,6 ± 0,4 ^{Aa}	2,5 ± 0,4 ^{Ab}	2,8 ± 0,8 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	2,0 ± 0,5 ^{Bb}	4,2 ± 0,8 ^{Aa}	0,6 ± 0,1 ^{Cb}
B	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Ba	<i>Seca</i>	0,6 ± 0,1 ^{Ab}	0,5 ± 0,1 ^{Ab}	0,5 ± 0,1 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	1,0 ± 0,2 ^{Aa}	1,0 ± 0,2 ^{Aa}	0,49 ± 0,01 ^{Ba}
Be	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Bi	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Cd	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	0,05 ± 0,01 ^{Aa}
Co	<i>Seca</i>	0,012 ± 0,004 ^{Bb}	0,018 ± 0,003 ^{Ab}	0,017 ± 0,001 ^{Ab}
	<i>Húmeda</i>	0,028 ± 0,003 ^{Ca}	0,039 ± 0,006 ^{Ba}	0,05 ± 0,01 ^{Aa}
Cr	<i>Seca</i>	0,15 ± 0,04 ^{Bb}	0,13 ± 0,03 ^{Ba}	0,21 ± 0,03 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	0,26 ± 0,03 ^{Aa}	0,15 ± 0,03 ^{Ba}	0,15 ± 0,04 ^{Ba}
Cu	<i>Seca</i>	0,55 ± 0,06 ^{Ba}	0,5 ± 0,1 ^{Ba}	0,7 ± 0,2 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	<LQ	<LQ	<LQ
Fe	<i>Seca</i>	15 ± 3 ^{Ab}	11 ± 2 ^{Bb}	17 ± 4 ^{Ab}
	<i>Húmeda</i>	19 ± 3 ^{Ba}	19 ± 3 ^{Ba}	30 ± 7 ^{Aa}
Ga	<i>Seca</i>	0,07 ± 0,02 ^{Ab}	0,07 ± 0,02 ^{Ab}	0,08 ± 0,02 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	0,10 ± 0,03 ^{Aa}	0,09 ± 0,02 ^{ABa}	0,07 ± 0,02 ^{Ba}
Hg	<i>Seca</i>	1,4 ± 0,4 ^{Aa}	1,7 ± 0,2 ^{Aa}	0,9 ± 0,4 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	0,5 ± 0,1 ^{Ab}	0,5 ± 0,1 ^{Ab}	0,3 ± 0,1 ^{Ab}
Li	<i>Seca</i>	0,4 ± 0,1 ^{Aa}	0,33 ± 0,09 ^{ABa}	0,27 ± 0,07 ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	<LQ	<LQ	<LQ
Mn	<i>Seca</i>	1,3 ± 0,3 ^{Bb}	0,8 ± 0,2 ^{Cb}	1,6 ± 0,4 ^{Ab}
	<i>Húmeda</i>	1,8 ± 0,4 ^{Ba}	2,1 ± 0,5 ^{Ba}	5 ± 1 ^{Aa}
Mo	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Ni	<i>Seca</i>	0,3 ± 0,1 ^{Aa}	0,18 ± 0,03 ^{Ba}	0,21 ± 0,04 ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	0,12 ± 0,02 ^{Bb}	0,15 ± 0,03 ^{Ab}	0,14 ± 0,02 ^{ABb}
P	<i>Seca</i>	9306 ± 1464 ^{Ab}	8452 ± 1257 ^{Ab}	9018 ± 1377 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	10980 ± 1748 ^{Aa}	10647 ± 2904 ^{Aa}	9250 ± 577 ^{Aa}
Pb	<i>Seca</i>	0,14 ± 0,04 ^{Aa}	0,05 ± 0,01 ^{Ca}	0,09 ± 0,02 ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
Rb	<i>Seca</i>	13 ± 1 ^{Aa}	11 ± 1 ^{Ba}	11 ± 1 ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	14 ± 2 ^{Aa}	8 ± 1 ^{Bb}	4,1 ± 0,3 ^{Cb}
Se	<i>Seca</i>	1,4 ± 0,1 ^{Aa}	1,0 ± 0,1 ^{Ba}	1,3 ± 0,2 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	0,9 ± 0,1 ^{Bb}	0,7 ± 0,1 ^{Cb}	1,27 ± 0,05 ^{Aa}
Sr	<i>Seca</i>	8 ± 3 ^{Ab}	5 ± 2 ^{Bb}	6 ± 1 ^{ABa}
	<i>Húmeda</i>	15 ± 3 ^{Aa}	13 ± 3 ^{Aa}	7 ± 1 ^{Ba}
Tl	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
U	<i>Seca</i>	<LD	<LD	<LD
	<i>Húmeda</i>	<LD	<LD	<LD
V	<i>Seca</i>	0,08 ± 0,02 ^{Ba}	0,06 ± 0,01 ^{Cb}	0,10 ± 0,01 ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	0,08 ± 0,02 ^{Aa}	0,08 ± 0,02 ^{Aa}	0,10 ± 0,04 ^{Aa}
Zn	<i>Seca</i>	25 ± 3 ^{Ab}	21 ± 2 ^{Bb}	25 ± 3 ^{Ab}
	<i>Húmeda</i>	44 ± 5 ^{Ba}	48 ± 5 ^{Ba}	71 ± 3 ^{Aa}

Tabla 8.

Límites de detección y cuantificación en muestras de agua, sedimento, biota

Elemento	LD AGUA ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	LQ AGUA ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	LD SEDIMENTO ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	LD BIOTA ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	LQ BIOTA ($\mu\text{g.g}^{-1}$)
Ag	0,13		0,001	0,006	
Al	2,5				
As		0,33			
B				1,5	
Be	0,12		0,04	0,1	
Bi	0,12		0,007	0,2	
Cd	0,13			0,03	
Co	0,01				
Cr	0,03		0,002		
Cu					0,15
Fe		3			
Hg	0,4		0,01	0,01	
Li					0,06
Mn		1			
Mo	0,45		0,001	0,3	0,7
Ni		0,4			
Pb				0,03	
Se	0,4			0,2	0,6
Tl	0,085		0,01	0,03	
U			0,002	0,1	
Zn	0,4				

Tabla 9.

Isótopos estables de carbono y nitrógeno para muestras de residuo sólido en agua, sedimento, plancton, camarón y pez obtenidos del LSR, LLM y del ERT durante estación seca y húmeda

Matriz	Estación	$\delta^{13}\text{C}$		
		LSR	LLM	ERT
RSA	<i>Seca</i>	$-11,3 \pm 0,2$ ^{Ba}	$-10,0 \pm 0,2$ ^{Aa}	$-13,1 \pm 0,2$ ^{Ca}
	<i>Húmeda</i>	$-14,0 \pm 0,2$ ^{Ab}	$-17,3 \pm 0,2$ ^{Cb}	$-14,5 \pm 0,2$ ^{Bb}
Sedimento	<i>Seca</i>	$-24,8 \pm 0,1$ ^{Bb}	$-22,1 \pm 0,1$ ^{Ab}	$-22,2 \pm 0,3$ ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	-22 ± 2 ^{Aa}	-20 ± 1 ^{Aa}	$-23,3 \pm 0,7$ ^{Bb}
Plancton	<i>Seca</i>	$-25,1 \pm 0,3$ ^{Bb}	$-18,9 \pm 0,1$ ^{Aa}	$-19,3 \pm 0,2$ ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	$-20,8 \pm 0,1$ ^{Aa}	$-19,8 \pm 0,1$ ^{Ab}	$-24,3 \pm 0,9$ ^{Bb}
Camarón	<i>Seca</i>	$-20,6 \pm 0,3$ ^{Ca}	$-19,2 \pm 0,2$ ^{Ab}	$-19,88 \pm 0,04$ ^{Bb}
	<i>Húmeda</i>	$-20,5 \pm 0,2$ ^{Ca}	$-16,4 \pm 0,3$ ^{Aa}	$-19,1 \pm 0,7$ ^{Ba}
Pez	<i>Seca</i>	$-18,4 \pm 0,1$ ^{Bb}	$-20,0 \pm 0,4$ ^{Cb}	$-16,9 \pm 0,1$ ^{Aa}
	<i>Húmeda</i>	$-16,8 \pm 0,2$ ^{Aa}	$-18,0 \pm 0,3$ ^{Ba}	$-18,1 \pm 0,3$ ^{Bb}

Matriz	Estación	$\delta^{15}\text{N}$		
		LSR	LLM	ERT
RSA	<i>Seca</i>	$9,4 \pm 0,2$ ^{Aa}	$3,0 \pm 0,2$ ^{Cb}	$6,5 \pm 0,2$ ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	$8,6 \pm 0,2$ ^{Ab}	$5,3 \pm 0,2$ ^{Ba}	$2,7 \pm 0,2$ ^{Cb}
Sedimento	<i>Seca</i>	ND	ND	ND
	<i>Húmeda</i>	$7,8 \pm 0,1$ ^A	$6,4 \pm 0,2$ ^B	$5,1 \pm 0,1$ ^C
Plancton	<i>Seca</i>	$14,8 \pm 0,2$ ^{Aa}	$6,1 \pm 0,4$ ^{Cb}	$11,2 \pm 0,2$ ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	$14,93 \pm 0,04$ ^{Aa}	$9,7 \pm 0,2$ ^{Ba}	$7,6 \pm 0,4$ ^{Cb}
Camarón	<i>Seca</i>	21 ± 1 ^{Aa}	$10,8 \pm 0,1$ ^{Ca}	$13,2 \pm 0,1$ ^{Ba}
	<i>Húmeda</i>	$15,0 \pm 0,4$ ^{Ab}	$10,7 \pm 0,3$ ^{Ca}	$12,4 \pm 0,5$ ^{Bb}
Pez	<i>Seca</i>	$18,3 \pm 0,2$ ^{Ab}	$13,1 \pm 0,4$ ^{Ca}	$14,3 \pm 0,2$ ^{Bb}
	<i>Húmeda</i>	21 ± 1 ^{Aa}	14 ± 1 ^{Ca}	18 ± 1 ^{Ba}

Valores indicados como Media \pm DE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas en el valor del isótopo de una matriz entre los distintos lagos. Diferentes letras minúsculas indican diferencias estadísticamente significativas en el valor del isótopo entre estaciones, para una misma matriz de un determinado lago.

Tabla 10.

LAGO SAN ROQUE: Regresión lineal del log [elemento] vs $\delta^{15}\text{N}$

Elemento	Estación	Pendiente	Ordenada al origen	R ²	p-valor
Log Ag	<i>Seca</i>	-0,11	1,41	0,61	0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,16	1,86	0,77	<0,0001
Log Al	<i>Seca</i>	-0,2	5,35	0,12	0,1521
	<i>Húmeda</i>	-0,31	6,86	0,99	<0,0001
Log As	<i>Seca</i>	0,1	-1,16	0,35	0,0022
	<i>Húmeda</i>	-0,14	3,21	0,66	<0,0001
Log Ba	<i>Seca</i>	0,1	-1,3	0,04	0,3669
	<i>Húmeda</i>	-0,17	3,54	0,69	<0,0001
Log Cd	<i>Seca</i>	-0,14	1,34	0,97	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,73	9,63	0,46	0,0458
Log Co	<i>Seca</i>	-0,14	1,74	0,12	0,2102
	<i>Húmeda</i>	-0,17	2	0,95	<0,0001
Log Cr	<i>Seca</i>	-0,13	1,91	0,23	0,0338
	<i>Húmeda</i>	-0,1	1,56	0,85	<0,0001
Log Cu	<i>Seca</i>	0,19	-2,86	0,13	0,1167
	<i>Húmeda</i>				
Log Fe	<i>Seca</i>	-0,18	5,18	0,11	0,158
	<i>Húmeda</i>	-0,23	5,81	0,91	<0,0001
Log Ga	<i>Seca</i>	0,08	-1,83	0,03	0,4586
	<i>Húmeda</i>	-0,16	2,34	0,67	<0,0001
Log Hg	<i>Seca</i>	0,09	-1,67	0,23	0,0231
	<i>Húmeda</i>	-0,05	0,77	0,55	0,0005
Log Li	<i>Seca</i>	-0,16	2,89	0,42	0,0025
	<i>Húmeda</i>	-	-	-	-
Log Mn	<i>Seca</i>	-0,11	2,76	0,05	0,3064
	<i>Húmeda</i>	-0,25	5,48	0,94	<0,0001
Log Ni	<i>Seca</i>	-0,14	2,43	0,37	0,0021
	<i>Húmeda</i>	-0,16	2,3	0,97	<0,0001
Log P	<i>Seca</i>	0,23	-0,43	0,7	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	0,01	3,88	0,03	0,4615
Log Pb	<i>Seca</i>	-0,2	3,15	0,34	0,0052
	<i>Húmeda</i>	-0,8	11,71	0,7	0,0013
Log Rb	<i>Seca</i>	-0,06	2,17	0,8	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	0,07	-0,22	0,51	0,0001
Log Se	<i>Seca</i>	-0,01	0,38	0,01	0,6842
	<i>Húmeda</i>	-	-	-	-
Log Sr	<i>Seca</i>	0,11	-0,61	0,13	0,0975
	<i>Húmeda</i>	-0,07	2,5	0,22	0,0323
Log V	<i>Seca</i>	-0,18	2,9	0,14	0,0918
	<i>Húmeda</i>	-0,16	2,16	0,92	<0,0001
Log Zn	<i>Seca</i>	0,06	0,47	0,22	0,0238
	<i>Húmeda</i>	-0,05	2,74	0,45	0,0012

Tabla 11.

LAGO LOS MOLINOS: Regresión lineal del log [elemento] vs $\delta^{15}\text{N}$

Elemento	Estación	Pendiente	Ordenada al origen	R ²	p-valor
Log Ag	<i>Seca</i>	0,17	-3,16	0,66	0,0492
	<i>Húmeda</i>	-0,16	0,92	0,66	0,0002
Log Al	<i>Seca</i>	-0,57	8,04	0,94	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,48	7,33	0,62	0,0002
Log As	<i>Seca</i>	-0,07	1,4	0,56	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,12	2,38	0,29	0,0205
Log Ba	<i>Seca</i>	-0,44	5,68	0,86	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,4	5,47	0,93	<0,0001
Log Cd	<i>Seca</i>	-0,07	-0,68	0,65	0,0049
	<i>Húmeda</i>	-0,4	2,9	0,95	<0,0001
Log Co	<i>Seca</i>	-0,39	3,49	0,96	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,26	2,26	0,51	0,0006
Log Cr	<i>Seca</i>	-0,31	3,14	0,99	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,39	4,6	0,8	<0,0001
Log Cu	<i>Seca</i>	-0,27	3,64	0,42	0,0011
	<i>Húmeda</i>	-0,48	6,12	1	<0,0001
Log Fe	<i>Seca</i>	-0,48	7,43	0,97	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,41	6,8	0,6	0,0003
Log Ga	<i>Seca</i>	-0,43	4,61	0,89	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,39	4,39	0,93	<0,0001
Log Hg	<i>Seca</i>	0,18	-2,20	0,87	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,19	2,28	0,91	<0,0001
Log Li	<i>Seca</i>	-0,24	2,65	0,91	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-	-	-	-
Log Mn	<i>Seca</i>	-0,45	5,92	0,95	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,32	4,75	0,69	<0,0001
Log Ni	<i>Seca</i>	-0,26	2,62	0,97	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,3	3,3	0,75	<0,0001
Log P	<i>Seca</i>	0,28	0,48	0,79	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	0,0046	3,9	0,0014	0,8821
Log Pb	<i>Seca</i>	-0,32	2,86	0,97	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	0,69	-6,69	0,95	0,0001
Log Rb	<i>Seca</i>	-0,06	1,76	0,49	0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,01	1,07	0,05	0,3504
Log Se	<i>Seca</i>	-0,09	1,19	0,92	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-	-	-	-
Log Sr	<i>Seca</i>	-0,19	3,4	0,58	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,18	3,58	0,83	<0,0001
Log V	<i>Seca</i>	-0,44	4,55	0,98	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,3	3,11	0,51	0,0009
Log Zn	<i>Seca</i>	-0,07	2,27	0,4	0,0022
	<i>Húmeda</i>	-0,12	3,3	0,83	<0,0001

Tabla 12.

EMBALSE DE RIO TERCERO: Regresión lineal del log [elemento] vs $\delta^{15}\text{N}$

Elemento	Estación	Pendiente	Ordenada al origen	R ²	p-valor
Log Ag	<i>Seca</i>	-	-	-	-
	<i>Húmeda</i>	0,03	-1	0,39	0,0731
Log Al	<i>Seca</i>	-0,99	15,01	0,87	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,26	5,62	0,92	<0,0001
Log As	<i>Seca</i>	-0,13	2,33	0,86	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,07	1,14	0,62	0,0005
Log Ba	<i>Seca</i>	-1,15	16,5	0,89	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,22	3,99	0,9	<0,0001
Log Cd	<i>Seca</i>	-0,27	2,17	0,95	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,04	-0,55	0,8	0,0002
Log Co	<i>Seca</i>	-0,66	8,14	0,88	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,19	2,12	0,94	<0,0001
Log Cr	<i>Seca</i>	-0,48	6,18	0,99	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,19	2,48	0,97	<0,0001
Log Cu	<i>Seca</i>	-0,56	8,46	0,35	0,0123
	<i>Húmeda</i>	0,14	0,19	0,97	<0,0001
Log Fe	<i>Seca</i>	-0,91	14,44	0,9	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,25	5,89	0,97	<0,0001
Log Ga	<i>Seca</i>	-1,1	15,07	0,92	0,0283
	<i>Húmeda</i>	-0,2	2,73	0,9	<0,0001
Log Hg	<i>Seca</i>	0,18	-2,72	0,6	0,0018
	<i>Húmeda</i>	-0,02	0,27	0,41	0,0887
Log Li	<i>Seca</i>	-0,44	5,73	0,97	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-	-	-	-
Log Mn	<i>Seca</i>	-0,99	14,4	0,98	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,19	4,07	0,98	<0,0001
Log Ni	<i>Seca</i>	-0,49	6,29	0,99	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,22	3,01	0,94	<0,0001
Log P	<i>Seca</i>	0,17	1,55	0,61	0,0001
	<i>Húmeda</i>	0,06	3,08	0,41	0,0075
Log Pb	<i>Seca</i>	-0,62	7,81	0,99	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,26	2,97	0,99	<0,0001
Log Rb	<i>Seca</i>	-0,01	1,17	0,02	0,5535
	<i>Húmeda</i>	-0,07	1,76	0,86	<0,0001
Log Se	<i>Seca</i>	-0,26	3,84	0,88	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-	-	-	-
Log Sr	<i>Seca</i>	-0,31	5,52	0,38	0,0142
	<i>Húmeda</i>	-0,09	2,85	0,63	0,0012
Log V	<i>Seca</i>	-0,77	10,19	0,91	<0,0001
	<i>Húmeda</i>	-0,23	2,95	0,9	<0,0001
Log Zn	<i>Seca</i>	-0,13	3,39	0,28	0,0283
	<i>Húmeda</i>	0,01	1,83	0,05	0,3979

Tabla 13. Valores de Ingesta Diaria Promedio ($\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$) de elementos ante el consumo de pejerrey del Lago San Roque, del Lago Los Molinos y del Embalse de Río Tercero

Elemento	Estación	IDP					
		LSR		LLM		ERT	
		Adultos	Niños	Adultos	Niños	Adultos	Niños
Ag	<i>Seca</i>	33,0	16,5	18,0	9,0		
	<i>Húmeda</i>	5,0	2,5	2,0	3,0		
Al	<i>Seca</i>	1050	525	450	225	750	375
	<i>Húmeda</i>	465	233	645	323	2850	1425
As	<i>Seca</i>	390	195	375	188	420	210
	<i>Húmeda</i>	300	150	630	315	90	45
Ba	<i>Seca</i>	90	45	75	38	75	38
	<i>Húmeda</i>	150	75	150	75	74	37
Cd	<i>Húmeda</i>					7,5	3,8
Co	<i>Seca</i>	1,8	0,90	2,7	1,4	2,6	1,3
	<i>Húmeda</i>	4,2	2,1	5,9	2,9	7,5	3,8
Cr	<i>Seca</i>	22,5	11,3	19,5	9,8	31,5	15,8
	<i>Húmeda</i>	39,0	19,5	22,5	11,3	22,5	11,3
Cu	<i>Seca</i>	82,5	41,3	75,0	37,5	105	52,5
Fe	<i>Seca</i>	2250	1125	1650	825	2550	1275
	<i>Húmeda</i>	40,7	1425	2850	1425	4500	2250
Ga	<i>Seca</i>	10,5	5,3	10,5	5,3	12,0	6,0
	<i>Húmeda</i>	15,0	7,5	13,5	6,8	10,5	5,3
Hg	<i>Seca</i>	210	105	255	128	135	67,5
	<i>Húmeda</i>	75,0	37,5	75,0	37,5	45,0	22,5
Li	<i>Seca</i>	60,0	30,0	49,5	24,8	40,5	20,3
Mn	<i>Seca</i>	195	97,5	120	60,0	240	120
	<i>Húmeda</i>	270	135	315	158	750	375
Ni	<i>Seca</i>	75,0	37,5	27,0	13,5	31,5	15,8
	<i>Húmeda</i>	18,0	9,0	22,5	11,3	21,0	10,5
P	<i>Seca</i>	1395900	697950	1267800	633900	1352700	676350
	<i>Húmeda</i>	1647000	823500	1597050	798525	1387500	693750
Pb	<i>Seca</i>	21,0	12,5	7,5	3,8	13,5	6,8
Rb	<i>Seca</i>	1950	975	1650	825	1650	825
	<i>Húmeda</i>	2100	1050	1200	600	615	308
Se	<i>Seca</i>	210	95,0	150	75,0	195	97,5
	<i>Húmeda</i>	135	67,5	105	52,5	191	95,3
Sr	<i>Seca</i>	1200	600	750	375	900	450
	<i>Húmeda</i>	2250	1125	1950	975	1050	525
V	<i>Seca</i>	12	6,0	9,0	4,5	15,0	7,5
	<i>Húmeda</i>	12	6,0	12,0	6,0	15,0	7,5
Zn	<i>Seca</i>	3750	1875	3150	1575	3750	1875
	<i>Húmeda</i>	6600	3300	7200	3600	10650	5325

Tabla 14.

Valores de Ingesta Diaria Recomendada (mg/Kg/día) de elementos ante el consumo de peces

Elemento	IDR	
	Adultos de 70 Kg	Niños de 20 Kg
Ag	0,35	0,10
Al	70	20
As	0,02	0,006
Ba	14	4
Cd	0,07	0,02
Co	0,02	0,01
Cr	0,21	0,06
Cu	2,8	0,8
Fe	49	14
Hg	0,007	0,002
Li	0,14	0,04
Mn	7	2
Ni	1,4	0,4
Pb¹	0,04	0,01
Pb²	0,1	0,03
Se	0,35	0,10
Sr	42	12
V	0,35	0,10
Zn	21	6

Pb ¹: Límite establecido para enfermedades renales crónicas.

Pb ²: Límite establecido para efectos sobre la presión arterial sistólica.

Tabla 15.

Cociente de Peligro Objetivo de elementos ante el consumo de pejerrey del Lago San Roque, del Lago Los Molinos y del Embalse de Río Tercero, por parte de la población general (PG) y pescadores (PE)

Elemento	Estación	CPO					
		LSR		LLM		ERT	
		PG	PE	PG	PE	PG	PE
Ag	<i>Seca</i>	0,003	0,01	0,002	0,007	-	-
	<i>Húmeda</i>	0,0005	0,002	0,001	0,002	-	-
Al	<i>Seca</i>	0,0005	0,002	0,0002	0,001	0,0004	0,001
	<i>Húmeda</i>	0,0002	0,002	0,0003	0,001	0,001	0,005
As	<i>Seca</i>	0,6	2,4	0,6	2,3	0,7	2,6
	<i>Húmeda</i>	0,5	1,9	0,9	3,8	0,1	0,6
Ba	<i>Seca</i>	0,0002	0,001	0,0002	0,001	0,0002	0,001
	<i>Húmeda</i>	0,0004	0,001	0,0004	0,001	0,0002	0,001
Cd	<i>Húmeda</i>	-	-	-	-	0,004	0,01
Co	<i>Seca</i>	0,003	0,01	0,004	0,02	0,004	0,02
	<i>Húmeda</i>	0,007	0,03	0,009	0,04	0,01	0,05
Cr	<i>Seca</i>	0,004	0,01	0,003	0,01	0,005	0,02
	<i>Húmeda</i>	0,006	0,02	0,004	0,01	0,004	0,01
Cu	<i>Seca</i>	0,001	0,004	0,001	0,004	0,001	0,005
Fe	<i>Seca</i>	0,002	0,006	0,001	0,004	0,002	0,01
	<i>Húmeda</i>	0,002	0,008	0,002	0,008	0,003	0,01
Hg	<i>Seca</i>	0,6	3,9	1,2	4,8	0,6	2,5
	<i>Húmeda</i>	0,4	1,4	0,3	1,3	0,2	1,2
Li	<i>Seca</i>	0,01	0,06	0,01	0,05	0,01	0,04
Mn	<i>Seca</i>	0,0009	0,004	0,001	0,002	0,001	0,005
	<i>Húmeda</i>	0,001	0,005	0,001	0,006	0,004	0,01
Ni	<i>Seca</i>	0,002	0,007	0,001	0,003	0,0007	0,003
	<i>Húmeda</i>	0,0004	0,002	0,001	0,002	0,0005	0,002
Pb	<i>Seca</i>	0,5		0,2		0,3	
Se	<i>Seca</i>	0,02	0,08	0,01	0,06	0,02	0,07
	<i>Húmeda</i>	0,01	0,05	0,01	0,04	0,02	0,07
Sr	<i>Seca</i>	0,001	0,004	0,001	0,002	0,001	0,003
	<i>Húmeda</i>	0,002	0,007	0,002	0,006	0,001	0,003
V	<i>Seca</i>	0,001	0,005	0,001	0,003	0,001	0,01
	<i>Húmeda</i>	0,001	0,005	0,001	0,005	0,001	0,01
Zn	<i>Seca</i>	0,006	0,02	0,005	0,02	0,006	0,02
	<i>Húmeda</i>	0,01	0,04	0,01	0,05	0,02	0,07
TCPO	<i>Seca</i>	1,7	6,6	1,9	7,3	1,6	5,3
	<i>Húmeda</i>	0,9	3,5	1,3	5,2	0,4	1,9

Tabla 16.

Tasa Máxima de Consumo Mensual de pejerrey del Lago San Roque, del Lago Los Molinos y del Embalse de Río Tercero para adultos y niños

Elemento	Estación	TMCM					
		LSR		LLM		ERT	
		Adultos	Niños	Adultos	Niños	Adultos	Niños
Ag	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
	<i>Húmeda</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
Al	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
	<i>Húmeda</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
As	<i>Seca</i>	1,5	0,8	1,6	0,9	1,4	0,8
	<i>Húmeda</i>	2,0	1,1	1,0	0,6	6,8	3,9
Ba	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
	<i>Húmeda</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
Cd	<i>Húmeda</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
Co	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
	<i>Húmeda</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
Cr	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
	<i>Húmeda</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
Cu	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
Fe	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
	<i>Húmeda</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
Hg	<i>Seca</i>	0,9	0,5	0,7	0,4	1,6	0,9
	<i>Húmeda</i>	2,6	1,5	2,8	1,6	4,2	2,4
Li	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
Mn	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
	<i>Húmeda</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
Ni	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
	<i>Húmeda</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
Pb	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
Se	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
	<i>Húmeda</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
Sr	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
	<i>Húmeda</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
V	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
	<i>Húmeda</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
Zn	<i>Seca</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
	<i>Húmeda</i>	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8

ANEXO III

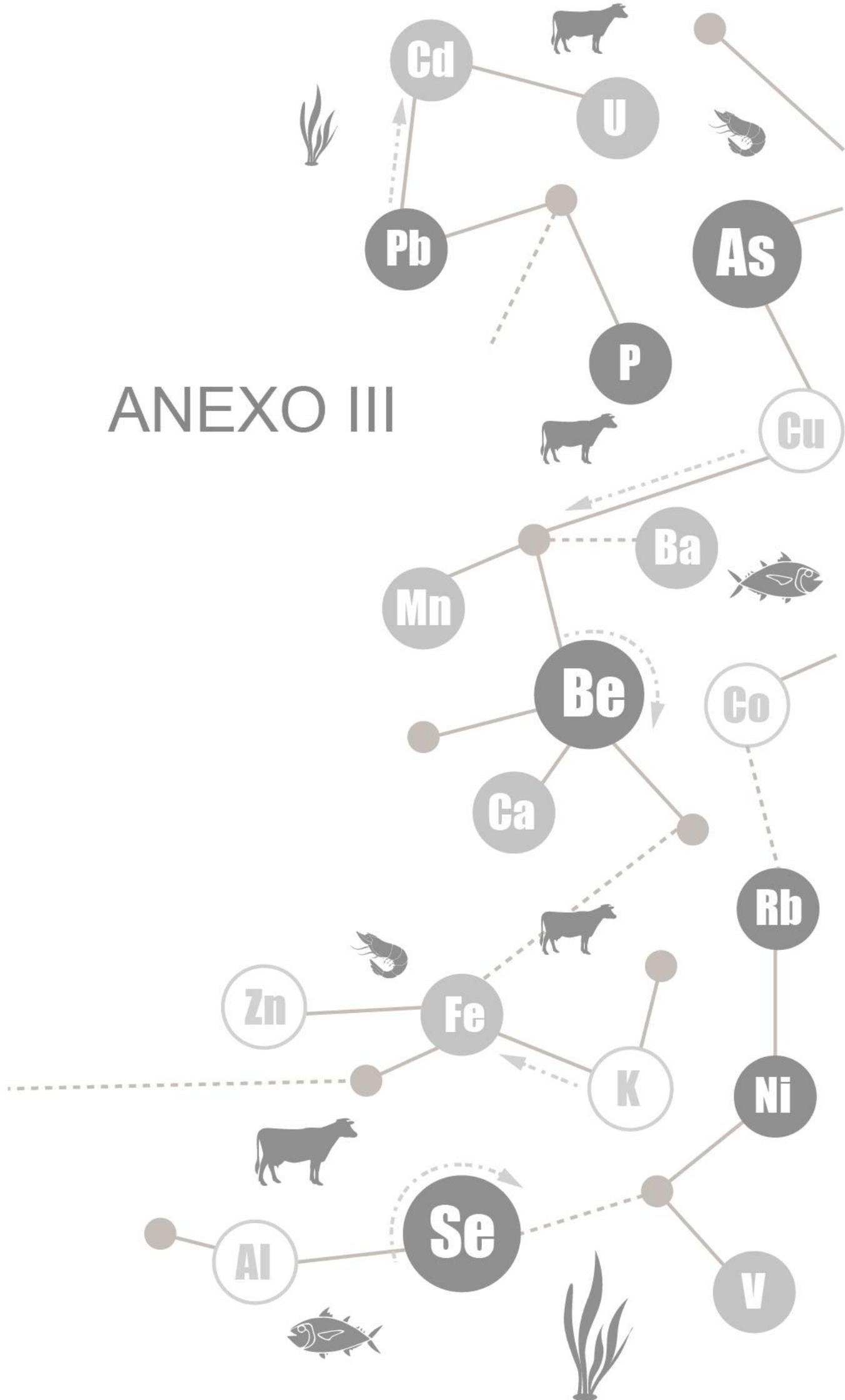


Tabla 1. Composición medio de Hoagland

COMPONENTE	CONCENTRACIONES
Macronutrientes	
KNO₃	1,02 g.L ⁻¹
Ca(NO₃)₂	0,71 g.L ⁻¹
KH₂PO₄	0,23 g.L ⁻¹
MgSO₄.7H₂O	0,49 g.L ⁻¹
Micronutrientes	
FeSO₄.7H₂O	3 mg.L ⁻¹
H₃BO₃	2,86 mg.L ⁻¹
MnCl₂.4H₂O	1,81 mg.L ⁻¹
CuSO₄.7H₂O	0,08 mg.L ⁻¹
ZnSO₄.7H₂O	0,22 mg.L ⁻¹
NaMoO₄.H₂O	0,09 mg.L ⁻¹

Tabla 2. Curva de calibración proteínas

Stock albúmina (Madre): 1 µg/ µl

Solución albúmina (Hija): 0,0585 µg/µL

Testigo	Concentración (µg/µL)	Volumen sol. Hija (µL)	Volumen agua MQ (µL)
1	0,0058	10	90
2	0,0082	14	86
3	0,0117	20	80
4	0,0175	30	70
5	0,0234	40	60
6	0,0351	60	40
7	0,0468	80	2

Tabla 3. Concentración de As en muestras de agua ($\mu\text{g.L}^{-1}$) en ensayos de exposición a diferentes concentraciones de As^{+3} durante 20 días

		Concentración de As en muestras de agua ($\mu\text{g.L}^{-1}$)					
		Tiempo de exposición (días)					
Tratamiento		0	2	4	10	15	20
Control As^{+3}		956 ± 164	1087 ± 318	1094 ± 39	1153 ± 4	1169 ± 1	1149 ± 1
0.1		156 ± 19	130 ± 4	136 ± 3	135 ± 3	135 ± 4	131 ± 4
0.5		576 ± 36	528 ± 5	547 ± 10	563 ± 6	572 ± 8	552 ± 6
1		1114 ± 66	1000 ± 13	1069 ± 15	1047 ± 16	1032 ± 30	1012 ± 25
2		2190 ± 33	2024 ± 53	2135 ± 39	2212 ± 105	2081 ± 115	2066 ± 108

Tabla 4. Concentración de As en muestras de agua ($\mu\text{g.L}^{-1}$) en ensayos de exposición a diferentes concentraciones de As^{+5} durante 20 días.

		Concentración de As en muestras de agua ($\mu\text{g.L}^{-1}$)						
		Tiempo de exposición (días)						
Tratamiento		0	2	7	10	14	17	20
Control As^{+5}		1137 ± 189	1116 ± 45	1102 ± 79	1149 ± 39	1139 ± 16	1131 ± 26	1131 ± 33
0.1		145 ± 32	107 ± 13	111 ± 2	115 ± 1	114 ± 2	117 ± 4	116 ± 2
0.5		602 ± 168	564 ± 4	562 ± 3	563 ± 12	572 ± 10	574 ± 9	581 ± 4
1		1081 ± 15	1105 ± 12	1025 ± 169	1110 ± 15	1113 ± 16	1123 ± 8	1134 ± 11
2		2157 ± 25	2144 ± 28	2143 ± 17	2150 ± 52	2217 ± 120	2178 ± 21	2202 ± 31

Tabla 5. Concentración de Hg en muestras de agua ($\mu\text{g.L}^{-1}$) en ensayos de exposición a diferentes concentraciones de Hg^{+2} durante 20 días

		Concentración de Hg en muestras de agua ($\mu\text{g.L}^{-1}$)							
		Tiempo de exposición (días)							
Tratamiento		0	3	5	10	12	14	17	20
Control Hg		1196 ± 18	1145 ± 48	1050 ± 38	996 ± 28	1017 ± 26	1035 ± 40	1026 ± 58	1041 ± 20
0.1		96 ± 21	2 ± 1	1,4 ± 0,8	1,8 ± 0,3	<LD	<LD	<LD	<LD
0.5		474 ± 71	15 ± 4	10 ± 3	4 ± 1	5 ± 1	10 ± 9	2,1 ± 0,4	1,6 ± 0,4
1		1081 ± 55	56 ± 11	35 ± 7	49 ± 1	33 ± 22	43 ± 14	20 ± 8	15 ± 8
2		2424 ± 87	623 ± 52	141 ± 6	108 ± 31	88 ± 16	133 ± 15	70 ± 10	61 ± 12

Valores indicados como media ± DE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas entre la concentración de un determinado tratamiento según los tiempos evaluados.

Tabla 6. Acumulación de As y Hg por *P. pusillus* ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ps) en ensayos de exposición a diferentes concentraciones de As^{+3} , As^{+5} y Hg durante 20 días.

Elemento	Tratamiento	Tiempo de exposición (días)		
		7	14	20
As^{+3}	Control Planta	$0,7 \pm 0,5$ ^{D a}	$0,5 \pm 0,1$ ^{D a}	$0,3 \pm 0,3$ ^{C a}
	0,1	7 ± 4 ^{D a}	8 ± 2 ^{D a}	11 ± 2 ^{C a}
	0,5	49 ± 6 ^{C b}	72 ± 11 ^{C a}	49 ± 20 ^{C b}
	1	123 ± 7 ^{B a}	119 ± 7 ^{B a}	130 ± 40 ^{B a}
	2	177 ± 26 ^{A b}	278 ± 31 ^{A a}	281 ± 41 ^{A a}
	Control Planta	$0,49 \pm 0,03$ ^{D a}	$0,8 \pm 0,6$ ^{C a}	$0,6 \pm 0,2$ ^{D a}
As^{+5}	0,1	$3,8 \pm 0,6$ ^{D a}	6 ± 3 ^{C a}	6 ± 3 ^{D a}
	0,5	18 ± 6 ^{C b}	22 ± 6 ^{C b}	32 ± 5 ^{C a}
	1	31 ± 1 ^{B b}	60 ± 10 ^{B a}	77 ± 15 ^{B a}
	2	69 ± 10 ^{A b}	132 ± 28 ^{A a}	117 ± 14 ^{A a}
	Control Planta	9 ± 5 ^{D a}	6 ± 3 ^{C a}	7 ± 2 ^{D a}
Hg	0,1	82 ± 16 ^{D a}	100 ± 58 ^{C a}	46 ± 12 ^{D a}
	0,5	674 ± 68 ^{C a}	664 ± 151 ^{B a}	424 ± 46 ^{C b}
	1	1295 ± 24 ^{B a}	1517 ± 358 ^{A a}	1498 ± 466 ^{A a}
	2	2372 ± 524 ^{A a}	2034 ± 770 ^{A a}	2466 ± 293 ^{A a}
	Control Planta	9 ± 5 ^{D a}	6 ± 3 ^{C a}	7 ± 2 ^{D a}

Valores indicados como media \pm DE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas entre la concentración entre los tratamientos para cada tiempo evaluado y letras minúsculas, diferencias entre la concentración de un determinado tratamiento según los tiempos evaluados.

Tabla 7. Contenido de Clorofila-a ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, pf) en *P. pusillus* expuesta a Hg y As en ensayos de exposición a diferentes concentraciones de As^{+3} , As^{+5} y Hg durante 15 días.

Elemento	Tratamiento	Tiempo de exposición (días)		
		5	10	15
As^{+3}	Control Planta	$0,29 \pm 0,16$ ^{B a}	$0,45 \pm 0,14$ ^{A a}	$0,41 \pm 0,12$ ^{A a}
	0,1	$0,53 \pm 0,06$ ^{A a}	$0,34 \pm 0,09$ ^{A b}	$0,23 \pm 0,02$ ^{A b}
	0,5	$0,48 \pm 0,08$ ^{A a}	$0,39 \pm 0,06$ ^{A a}	$0,26 \pm 0,04$ ^{A b}
	1	$0,46 \pm 0,13$ ^{A a}	$0,62 \pm 0,02$ ^{A a}	$0,31 \pm 0,03$ ^{A a}
	2	$0,20 \pm 0,04$ ^{B a}	$0,07 \pm 0,01$ ^{B b}	$0,07 \pm 0,01$ ^{B b}
	As^{+5}	Control Planta	$0,30 \pm 0,05$ ^{A b}	$0,40 \pm 0,01$ ^{A a}
0,1		$0,21 \pm 0,02$ ^{B b}	$0,26 \pm 0,03$ ^{C a}	$0,22 \pm 0,03$ ^{B b}
0,5		$0,21 \pm 0,01$ ^{B b}	$0,33 \pm 0,02$ ^{B a}	$0,21 \pm 0,04$ ^{B b}
1		$0,21 \pm 0,01$ ^{B b}	$0,29 \pm 0,02$ ^{C a}	$0,21 \pm 0,02$ ^{B b}
2		$0,23 \pm 0,01$ ^{B a}	$0,26 \pm 0,02$ ^{C a}	$0,24 \pm 0,02$ ^{B a}
Hg		Control Planta	$0,24 \pm 0,13$ ^{A a}	$0,24 \pm 0,05$ ^{A a}
	0,1	$0,30 \pm 0,08$ ^{A a}	$0,16 \pm 0,03$ ^{B b}	$0,16 \pm 0,02$ ^{B b}
	0,5	$0,25 \pm 0,05$ ^{A a}	$0,15 \pm 0,01$ ^{B a}	$0,19 \pm 0,05$ ^{A a}
	1	$0,41 \pm 0,07$ ^{A a}	$0,11 \pm 0,05$ ^{B b}	$0,11 \pm 0,05$ ^{B b}
	2	$0,10 \pm 0,05$ ^{B a}	$0,15 \pm 0,03$ ^{B a}	$0,13 \pm 0,02$ ^{B a}

Valores indicados como media \pm DE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas entre la concentración entre los tratamientos para cada tiempo evaluado y letras minúsculas, diferencias entre la concentración de un determinado tratamiento según los tiempos evaluados.

Tabla 8. Contenido de proteínas (mg.g⁻¹, pf) en *P. pusillus* expuesta a Hg y As en ensayos de exposición a diferentes concentraciones de As⁺³, As⁺⁵ y Hg durante 15 días.

Elemento	Tratamiento	Tiempo de exposición (días)		
		5	10	15
As ⁺³	Control Planta	0,7 ± 0,1 ^{A a}	0,7 ± 0,1 ^{A a}	0,58 ± 0,05 ^{B a}
	0,1	0,6 ± 0,1 ^{A a}	0,7 ± 0,1 ^{A a}	0,54 ± 0,05 ^{B a}
	0,5	0,6 ± 0,2 ^{A a}	0,47 ± 0,03 ^{A a}	0,6 ± 0,1 ^{B a}
	1	0,7 ± 0,2 ^{A a}	0,7 ± 0,2 ^{A a}	1,0 ± 0,2 ^{A a}
	2	0,77 ± 0,03 ^{A a}	0,6 ± 0,1 ^{A b}	0,5 ± 0,1 ^{B c}
	Control Planta	1,8 ± 0,7 ^{A a}	0,8 ± 0,1 ^{A b}	0,7 ± 0,1 ^{A b}
As ⁺⁵	0,1	1,6 ± 0,2 ^{A a}	0,6 ± 0,1 ^{B b}	0,6 ± 0,1 ^{A b}
	0,5	1,8 ± 0,3 ^{A a}	0,7 ± 0,1 ^{B b}	0,5 ± 0,2 ^{A b}
	1	0,9 ± 0,2 ^{B a}	0,5 ± 0,2 ^{B b}	0,5 ± 0,2 ^{A b}
	2	1,0 ± 0,1 ^{B a}	0,6 ± 0,1 ^{B b}	0,7 ± 0,1 ^{A b}
	Control Planta	1,3 ± 0,5 ^{A a}	1,2 ± 0,6 ^{A a}	0,9 ± 0,4 ^{A a}
Hg	0,1	1,2 ± 0,5 ^{A a}	1,0 ± 0,6 ^{A a}	0,9 ± 0,6 ^{A a}
	0,5	1,8 ± 1,0 ^{A a}	1,8 ± 0,2 ^{A a}	1,4 ± 0,7 ^{A a}
	1	1,6 ± 0,4 ^{A a}	1,6 ± 0,4 ^{A a}	1,1 ± 0,3 ^{A a}
	2	1,4 ± 0,4 ^{A a}	2,1 ± 1,3 ^{A a}	1,3 ± 0,7 ^{A a}

Valores indicados como media ± DE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas entre la concentración entre los tratamientos para cada tiempo evaluado y letras minúsculas, diferencias entre la concentración de un determinado tratamiento según los tiempos evaluados.