Camila Vidal
Licenciatura en Ciencias Biológicas
Orientación Ecología

Universidad de la República

Tutor: Dr. Franco Teixeira de Mello
Co-tutor: Dr. Juan Pablo Lozoya

Uruguay 2020

Agradecimientos

En primera instancia quiero agradecer a mis tutores por toda la paciencia y aliento que siempre me dieron desde el inicio. A Franco por todo lo que me enseñó a lo largo de este proceso, en el campo, el laboratorio y hasta por audios, abriéndome las puertas a un increíble equipo de trabajo y también de su casa. Gracias a Juan Pablo por siempre ayudarme a dar un paso atrás y ver las cosas con más calma, siempre buscando la próxima vuelta. A Marcelo y Leandro en el tribunal, que con sus comentarios enriquecieron este trabajo.

Gracias a todo el equipo del CURE de Maldonado, por todas las muestras, la ayuda en el procesamiento, y que me hicieron mi lugar en el laboratorio desde el primer día. Gracias al Canario, Margenny, Maite, Gige, Eve y Barbi, que siempre estuvieron para un café y dar una segunda mirada en la lupa. Gracias a mi equipo antártico y a mis tardígrados, que antes de que empezara ya me estaban dando para adelante. A Sofi, con quien deberíamos haber hecho nuestras tesis juntas este 2020, pero en su lugar tuvimos que chatear. A Agus y Andres, los mejores amigos que me podía dejar la Fcien. A mis amigos del liceo y de la vida, para quienes soy una mezcla de Indiana Jones y Científico loco, y siempre escuchan mis desvaríos.

A mis padres, que no siempre entienden de lo que hablo ni lo que hago, pero me dan su apoyo incondicional. A mi hermano Mateo, quien no está para verme recibirme, pero sé que estaría infinitamente orgulloso de mi. A todos mis tíos y primos, por siempre preguntar e interesarse. A Joaquín, mi pareja y amigo, que me acompañó y ayudó a crecer todo este tiempo, en cada crisis y locura, por darme su fuerza, paciencia y amor. Perdón por las noches en vela y cada vez que me dormí mirando una película.

Esto no sería lo mismo sin ustedes.

Índice

Página

1. Resumen……..…. 2
2. Introducción……..…... 3
    a. Objetivos: General y específicos……..……... 6
3. Materiales y métodos……...……..6
    a. Área de estudio……..……...6
    b. Análisis de la comunidad de peces..…….…….8
    c. Análisis de microplásticos……...……..9
    d. Análisis estadístico……...……...……10
4. Resultados……..……
    .11
    a. Comunidad de peces……...……11
    b. Microplásticos……..……... 13
        i. A nivel comunitario y según uso de suelo…..…..…14
        ii. A nivel de grupos tróficos……..……..……17
        iii. A nivel de especies……..…… 18
5. Discusión……..…... 21
6. Conclusiones y perspectivas……..….. 24
7. Anexo…….. 26
8. Bibliografía……..27

Resumen

Tanto las características físicas y químicas, como la diversidad biológica de ríos y arroyos son en parte un reflejo del uso del suelo que se realiza en sus cuencas. A los cursos de agua llegan un gran número de contaminantes por arrastre o descarte directo. Los plásticos representan actualmente el bien de desecho más importante, conformando una gran parte del material transportado y acumulado en los cursos de agua. Este trabajo analiza el consumo de microplàsticos (MPs, <5mm) por la comunidad de peces en arroyos de dos tipos de uso de suelo contrastante. Para ello se trabajó con 3 arroyos impactados por la urbanización y 3 por ganadería extensiva. Se analizaron en total los contenidos estomacales e intestinales de 314 individuos de 29 especies, haciendo una digestión alcalina modificada a partir de Dehaut (2016) y observando los contenidos bajo lupa. Los MPs fueron recuperados y confirmados bajo microscopio de luz polarizada. Se encontraron 373 MPs, de los cuales la mayoría correspondieron a fibras (85%) y el resto fragmentos (15%). Se encontraron diferencias significativas entre ambos sistemas en el porcentaje de individuos con MPs (51.6% en ganaderos y 76.6% en urbanos, p=0.014 Mood´s median) y en la cantidad de MPs/g de individuo (p=0.014 Mood´s median). No se encontraron diferencias significativas en el promedio de MPs por individuo entre ambos sistemas, pero la diferencia de tamaño de las especies analizadas hace que una misma cantidad neta de MPs consumidos sea mayor en algunas de ellas en términos de tamaño relativo. A partir de los datos de densidad y biomasa de individuos, y el análisis de MPs, se realizó una aproximación a la carga de MPs que tendría la comunidad. Este estudio establece la primera línea de base en consumo de MPs por peces en arroyos en Uruguay, e incorpora las condiciones de los cursos de agua y sus cuencas respecto a esta problemática ambiental global.

Palabras claves: *microplásticos, comunidad de peces, contenido estomacal, urbanización, ganadería extensiva*

Introducción

Los ríos y arroyos son en parte un reflejo de su ubicación geográfica, las características geomorfológicas, así como de las características naturales y de las actividades humanas que se realizan en sus cuencas (Wetzel *et al*, 2000). Por ello, diferentes ocupaciones del territorio como ser la urbanización, las industrias, y diversas actividades agrícolas-ganaderas, condicionan los residuos y contaminantes, que finalmente terminan llegando a los sistemas de agua dulce (Allan & Castillo, 2007).

Un tipo de contaminación que ha cobrado mucho interés en la última década tanto en sistemas de agua dulce como salada, es la contaminación por plásticos y microplásticos (MPs, Dris *et al*, 2015 a; Mason et al, 2020), considerados parte importante de los contaminantes emergentes presentes en ambientes acuáticos (García *et al*, 2020). Sin embargo, cabe resaltar que las primeras observaciones científicas datan de 1971, donde se detectó una gran variedad de partículas plásticas en extensas zonas del océano (Carpenter & Smith, 1972).

Los plásticos son materiales generados en base a polímeros sintéticos orgánicos obtenidos principalmente del petróleo, altamente versátiles y durables, que además tienen bajos costes de producción, lo que ha ocasionado que su uso se extienda en las industrias, pasando a ser parte de la vida diaria y un bien de consumo sumamente común (Duis & Coors, 2016). Por su uso masivo y una gran producción de los llamados “plásticos de un solo uso”, actualmente se generan enormes cantidades de residuos plásticos, de los cuales solo una pequeña fracción (menos del 15%) se maneja y recicla correctamente (World Economic Forum, 2016; ONU, 2018). Actualmente se considera que ingresan entre 4.8 y 12.7 millones de toneladas de desechos plásticos a los ambientes marinos desde los sistemas fluviales y terrestres, y se espera que aumenten en un orden de magnitud en los próximos diez años (Jambeck *et al*, 2015), convirtiéndose en el desecho más abundante en estos sistemas (Jung *et al*, 2018). Debido a esto, los desechos plásticos se encuentran actualmente en los cursos de agua dulce, los océanos, la tierra y también en el aire, pudiendo persistir en los sedimentos por siglos (Derraik, 2002; Lozoya *et al*, 2016).

Existen múltiples investigaciones y estimaciones sobre las rutas que siguen los plásticos luego que escapan del circuito producción-uso-reciclaje en las ciudades y desde ellas al océano, donde se ha evidenciado que mucho de este transporte se hace a través de los ríos y arroyos, sin embargo aún es escaso el conocimiento sobre lo que sucede con los desechos plásticos cuando ingresan a estos cursos de agua (Jambeck et al 2015). Actualmente, aunque se sabe que los ríos y arroyos son grandes transportadores de estos desechos (hasta el 80% de lo que llega a los océanos) y que son fundamentales para la vida en muchas ciudades y el mantenimiento de la biodiversidad, no existe mucha información sobre el ciclo de transporte y retención, así como la interacción con la fauna que ocurre en estos sistemas (Dris et al 2015 b).

El ingreso de plásticos a los sistemas de aguas continentales puede darse por diversas vías, ya sean puntuales o difusas. Puntuales: i) el descarte inapropiado de forma directa a los cursos de agua o a sus proximidades producto de malas prácticas a nivel de usuarios (Pazos *et al*, 2017; Wagner, 2014, ii) las aguas residuales domésticas (incluso existiendo plantas de tratamiento en el caso de ciertos MPs de uso doméstico), iii) fallas en los procedimientos de gestión de residuos en plantas de reciclaje, industrias y actividades agrícolas. Las fuentes difusas pueden incluir iv)las aguas de escorrentía urbanas (Sá *et al*, 2018; Horton & Dixon 2017) así como v) la llegada vía aérea desde zonas urbanas o industriales (Wright et al, 2019).

La distancia a centros poblados, industrias y vertederos pueden resultar claves en el aumento de la llegada de microplásticos a los sistemas fluviales (Horton & Dixon 2017; Lozoya *et al*, 2015).En zonas urbanas, una de las principales fuentes de MPs es el desgaste de textiles durante el lavado, los cuales terminan en plantas de tratamiento de aguas o directamente en el medio ambiente, dependiendo de cómo se hace el manejo de las aguas (Wagner 2018). Se estima que el 35% de los MPs que ingresan al océano provienen de textiles, y gran parte de estos probablemente llegan a través de cursos de agua dulce (De Falco et al, 2019). Pero para zonas urbanas o al menos externas a los polos urbanos, las fuentes de ingresos son menos claras (Wagner 2018). En lagos de China se ha encontrado que actividades pesqueras (debido al uso de redes y otras artes de pesca), son uno de los principales generadores de MPs directamente identificables, pero hay una amplia cantidad de lo que llega que se considera un ingreso difuso (Yin et al, 2020).

Esta llegada de desechos plásticos implica tanto a fracciones mayores a 5mm (i.e. meso y macroplásticos) como microplásticos (MPs, <5mm), y en el caso de estos últimos tanto MPs primarios (diseñados con ese tamaño, como los utilizados en productos cosméticos) como secundarios (generados de la fragmentación de plásticos de mayor tamaño) (Wagner 2018).No existe actualmente consenso en una única clasificación para el estudio de plásticos y sus subfracciones lo que resulta en una dificultad a la hora de contrastar datos (Hartmann *et al*, 2019). En el marco de este estudio utilizaremos una de las clasificaciones más difundidas, donde se consideran microplásticos todas aquellas partículas plásticas que miden menos de 5 mm en su eje mayor (Hartmann *et al*, 2019; Wagner, 2018). Es posible además subdividir a los microplásticos según su origen, entre primarios (aquellos que desde su fabricación ya tienen el tamaño menor a 5mm – por ejemplo los pellets o las microesferas que hay en cosméticos- Chang, 2015) o secundarios (aquellos que se originan de la fragmentación a partir de partículas de mayor tamaño) (Druis & Coors, 2016; Wagner, 2018). También se los clasifica de acuerdo a su forma, en dos grandes categorías, fibras (cuando la partícula es muy alargada y carece de ancho y espesor de importancia) y fragmento (partículas redondeadas o angulares, con bordes irregulares) (Hidalgo-Ruz *et al*. 2012). Las fibras plásticas o filamentos conforman uno de los grupos de microplásticos más abundantes en la actualidad (50-90%), tanto en agua como contenido estomacal (Barletta *et al*. 2019; Pazos, 2017; Dris *et al*, 2015 a).

Una vez en el medio acuático, los plásticos así como los microplásticos (fragmentos, fibras, pellets, films y microbeads) las partículas quedan expuestas a las fuerzas de las corrientes de agua que las transportan aguas abajo, en dicho transporte las fuerzas de fricción aceleran la degradación y fraccionamiento, aumentando así la proporción de microplásticos disponibles en el ambiente (Eerkes-Medrano *et al*, 2015; Pedà *et al*, 2016).

Cualquiera sea el origen de estos residuos, desde el momento en que toman contacto con el ambiente, y particularmente cuando llegan a sistemas lóticos, una parte quedan atrapados en los sedimentos, rocas o vegetación, y otra parte son transportados aguas abajo (Wagner, 2018). El transporte de los plásticos y microplásticos estará determinado tanto por la hidrología y morfología de cada curso de agua, como por las propias características de las partículas (densidad, forma, tamaño), haciendo que estas tomen rutas pelágicas o bentónicas de transporte (Eerkes-Medrano *et al*, 2015; Garcia *et al* 2020).

A causa de su lenta tasa de descomposición estos residuos se acumulan y fraccionan sucesivamente hasta dimensiones microscópicas, y pasan a ser parte integral de los sistemas, interactuando e impactando a la biota (Bergmann 2015, Lozoya *et al*, 2016; Sá *et al*, 2018). El encuentro entre la biota y el plástico es inevitable, y sus posibles consecuencias ecológicas, que surgen de las interacciones entre ambos, es uno de los problemas ambientales de mayor importancia en la actualidad (Derraik, 2002; Lenzi *et al*, 2016; Burgues 2020). Dicha interacción con la fauna es dependiente de las características de la biota (ej. tamaño, hábitos alimenticios, uso de hábitats) y también de las características de las partículas de plástico con que se encuentran (ej. densidad, tamaño, forma, color). En el caso de los microplásticos, se encuentran más disponibles para la fauna debido a su menor tamaño que facilita su ingestión (Wang *et al*, 2019).

El consumo de microplásticos está ampliamente reportado y para una gran variedad de organismos, incluyendo invertebrados, peces, aves y mamíferos marinos (ej. Pazos *et al*, 2017; Bessa *et al*, 2018; Dos Santos *et al*, 2020). Ciertos MPs pueden llegar a ser consumidos incluso por pequeños invertebrados por encontrarse en el rango de tamaño palatable para el plancton (Farrell & Nelson, 2013). Debido a las propiedades de los diferentes tipos de plásticos, otros contaminantes y químicos pueden adherirse a su superficie, convirtiéndolos así en vectores de estas sustancias (Lozoya et al, 2016, facilitando su ingreso a los organismos que las ingieren y potenciando su efecto (Wagner, 2018).

Particularmente en peces, recientemente diferentes autores discuten sobre la ingestión activa o pasiva de partículas plásticas por los peces, debido a que se ha visto que algunas especies podrían estar consumiendo plástico activamente al confundirlo con alimento (Roch *et al*, 2020). En este sentido se ha visto que la ingesta de MPs puede ser tanto accidental como deliberada. Otra vía puede ser la transferencia en la cadena alimentaria, existiendo amplia evidencia de consumo de MPs por zooplancton, y también varios ejemplos de transferencia entre presa y predador (Silva-Cavalcanti *et al*, 2016; Roch

et al, 2020). Si bien aún no existen evidencias contundentes, es discutido si los MPs estarían bioacumulándose en los peces y si podrían potencialmente biomagnificarse en la cadena trófica (Dehaut *et al*, 2016; Fischer, 2019). En algunos estudios se ha observado que entre el 2 y el 40% de los individuos analizados habían ingerido entre 1 y 7 partículas de plástico (Dehaut *et al*, 2016). Una vez en el organismo estos MPs podrían afectar el sistema digestivo, el metabolismo lipídico, el comportamiento e incluso generar efectos citotóxicos (Jovanović, 2017; Foley *et al*, 2018). Si bien existen muchas investigaciones que muestran el consumo de plástico por parte de los peces, no hay evidencias claras de las relaciones entre el tamaño de los peces y la cantidad, tamaño o tipo de microplásticos ingeridos (Pazos *et al*, 2017; Tosetto *et al*, 2017; Fischer *et al*, 2019), o las consecuencias de estos desechos considerando desde individuos con diferentes hábitos alimenticios, hasta el nivel de poblaciones y comunidades (Goldstein *et al*, 2012; Güven *et al*, 2017).

Es de suma importancia poder entender la forma en que los microplásticos están presentes, su dinámica en nuestros ambientes dulceacuícolas y cómo se relacionan con la fauna, ya que por su tamaño y durabilidad presentan un enorme reto para poder ser erradicados con eficiencia (Budimir *et al*, 2018). Tanto a nivel mundial como para nuestro país, existe escasa información sobre los ciclos e impactos de los microplásticos en los sistemas de agua dulce, por lo que resulta de gran relevancia comenzar con estudios dirigidos a evaluar la interacción con la fauna (Azevedo-Santos *et al*. 2019; Lozoya *et al*, 2015). Es en este contexto que este trabajo se enfocó en el análisis del consumo de microplástico por parte de la comunidad de peces en pequeños arroyos con usos del suelo contrastantes en sus cuencas de drenaje.

Objetivo general:

- Evaluar la incidencia de microplásticos en la dieta de las comunidades de peces en arroyos con usos del suelo contrastantes (ganadería extensiva y urbano).

Objetivos específicos:

- Analizar la estructura de la comunidad de peces pertenecientes a tres arroyos con ganadería extensiva y tres arroyos con uso de suelo urbano.
- Evaluar y comparar la presencia de microplásticos en contenidos estomacales de peces en tres arroyos con ganadería extensiva y tres arroyos con uso urbano.
- Estimar la carga de microplásticos a nivel comunitario con respecto a ambos tipos de uso de suelo (ganadería extensiva y urbano).
- Evaluar la incidencia en el consumo de microplásticos según grupo y hábito trófico, y con respecto a ambos tipos de uso de suelo.

<u>Hipótesis:</u>

La presencia de áreas urbanizadas en las cuencas de drenaje aumenta el aporte de residuos plásticos a los arroyos, favoreciendo la incorporación de microplásticos (MPs) en la dieta de los peces. Mientras tanto, arroyos con cuencas donde se practica ganadería extensiva tendrán una menor presencia de residuos plásticos, y por ello una menor abundancia de microplásticos (MPs) disponibles para los peces. Más allá del efecto de la cuenca, la incidencia de esta contaminación será diferencial en los peces en función de sus hábitos tróficos, especie, y la cantidad de MPs consumidos estará asociada al tamaño (y biomasa) de los individuos. Además se espera que individuos omnívoros consuman mayor cantidad de MPs que otros grupos tróficos, y que individuos de hábitos bentopelágicos consuman mayor cantidad de MPs que individuos bentónicos y pelágicos, debido a la exposición de ambos a mayor variedad de fuentes de MPS.

Materiales y métodos

Área de estudio

Para este trabajo se seleccionaron seis arroyos pertenecientes a seis cuencas de drenajes diferentes, correspondientes a dos tipos de usos del suelo predominante en su cuenca, tres con predominio de ganadería extensiva (Insaurral, Curupí y las Niñas) y los otros tres sistemas con un amplio desarrollo urbano (del Colorado, las Piedras y del Dragón). Para cada sitio de muestreo, mediante un sistema de información geográfica (SIG) se delimitó el área de drenaje y se obtuvo la información de las coberturas del suelo utilizando datos del SIT-MVOTMA (Figura 1, Tabla 1).

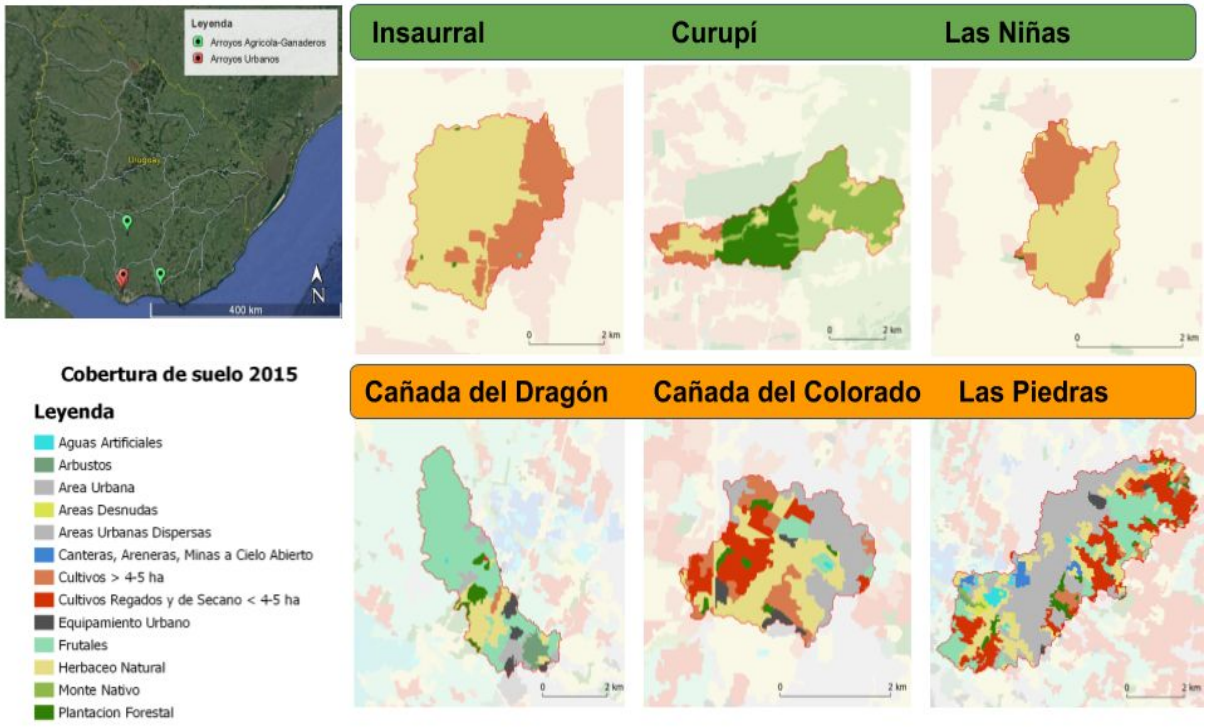

Figura 1. Mapa de Uruguay con los 6 puntos de muestreo, en verde se representan los arroyos de cuencas ganaderas y en rojo los arroyos de cuencas urbanas. Además, se muestran las cuencas con los usos de suelo, correspondientes a cada uno

de los arroyos. En la parte superior los tres arroyos predominados por ganadería extensiva (Insaurral, Curupí y Las Niñas) y en la parte inferior los tres arroyos predominados por zonas urbanas (Cañada del Dragón, Las Piedras y Cañada del Colorado).

Los seis sitios seleccionados fueron muestreados en febrero de 2017 y marzo de 2018, en todos los sitios se tomaron medidas de las características físicas del curso de agua (ancho y profundidad promedio), las características del sedimento de forma cualitativa, se midieron parámetros fisicoquímicos con una sonda multiparamétro YSI-6000MS-V2 (conductividad, pH, temperatura, oxígeno disuelto) y se tomaron muestras de agua las cuales fueron transportadas al laboratorio refrigeradas a 4C. En el laboratorio se realizaron análisis de fósforo y nitrógeno según Valderrama (1981).

Todos los arroyos son de ancho y profundidad similar, de baja pendiente y sin zonas intermareales. En el grupo 'ganadería extensiva', hay una predominancia de cobertura de suelos por espacios de herbáceo natural (50.7% ± 30.3%), monte nativo (15.8% ± 27.3%) y cultivo herbáceo (24.0% ± 13.2%), y una mínima presencia de áreas urbanas (< 1%). Mientras que en la cuenca de los arroyos considerados urbanos presentan importantes áreas urbanas (25.3% ± 11.1%), predominando los cultivos de regadío y secano (41.3 ± 19.8) y en tercer lugar el herbáceo natural (21.7% ± 8.1%). Los arroyos del grupo 'urbano' presentan una variación con respecto al porcentaje de urbanización, que permite ordenarlos en gradiente de menor a mayor urbanización (el mismo orden se respeta en todo el trabajo) (Tabla 1). El ingreso del plástico a los arroyos a partir de fuentes puntuales y difusas (descarte de aguas domésticas y lavado de las ciudades en eventos de precipitación) en caso de los arroyos urbanos, y vías de ingreso difuso en caso de los arroyos ganaderos (llegada de materiales utilizados en la producción por acción del viento y escorrentía).

Tabla 1. Características principales de los 6 arroyos utilizados. En verde los arroyos del grupo 'ganadería extensiva' y en anaranjado los 'urbanos'. El orden de los arroyos va de ganadería extensiva a urbanos, y en estos se ordenan de menor a mayor presencia de urbanización. A lo largo del trabajo se mantiene los nombres y el código de color (verde: ganadería extensiva; naranja: urbanos).

	Insaurral	Curupí	Las Niñas	Promedio	Cañada del Dragón	Cañada del Colorado	Las Piedras	Promedio
Características del curso								
Cuenca (km^2)	14.42	16.32	4.42	**11.7** ± 6.4	11.21	6.06	25.83	**14.4** ± 10.3
Orden	3	3	3	-	2	1	3	-
Ancho prom. (m)	1.67	3.03	1.97	**2.2** ± 0.7	2.33	1.57	4.13	**2.7** ± 1.3
Profundidad Prom. (cm)	19	45	34	**32.7** ± 13.1	45	25	32	**34.0** ± 10.1
Cobertura del suelo (%)								
Áreas urbanas	0.05	0	0	**0.02** ± 0.03	13.17	29.03	34.52	**25.3** ± 11.1
Herbáceo natural	67.66	15.76	68.7	**50.7** ± 30.3	14.06	30.26	20.75	**21.7** ± 8.1
Monte nativo	0	47.37	0	**15.8** ± 27.3	4.65	0.02	1.22	**2.0** ± 2.4
Cultivos de regadío y secano	0	0	0	**0**	62.64	23.42	37.75	**41.3** ± 19.8
Cultivo herbáceo (Pradera)	32.1	8.81	31.12	**24.0** ± 13.2	1.1	14.4	2.92	**6.1** ± 7.2
Plantación Forestal	0.19	28.07	0.18	**9.5** ± 16.1	4.37	2.87	2.84	**3.4** ± 0.9
Parámetros fisicoquímicos								
Oxígeno disuelto	8.78	8.22	11.0	**9.3** ± 1.5	5.72	5.05	3.78	**4.9** ± 1.0
pH	8.28	7.89	8.41	**8.2** ± 0.3	7.38	7.43	7.66	**7.5** ± 0.1
Conductividad especifica (µS/cm)	497	275	673	**482** ± 199	258	471	706	**478** ± 224
Nitrógeno Total (µg/L)	705.9	770.1	1170	**882** ± 252	2689	1330	5862	**3293** ± 2326
Fósforo Total (µg/L)	37.22	24.22	33.51	**31.7** ± 6.7	2052	315.7	783.6	**1050** ± 896

Análisis de la comunidad de peces

Los peces fueron colectados mediante pesca eléctrica puntual, haciendo 50 pulsos eléctricos a lo largo de 50 m en cada arroyo y colectando la totalidad de los individuos siguiendo la metodología propuesta por Teixeira de Mello *et al*, (2014). Los mismos fueron sacrificados con una sobredosis de eugenol (5 $ml.L^{-1}$, de una dilución de 1:10 de eugenol:alcohol etílico 95), posteriormente fijados en formol al 10%, y luego de un mes se preservaron en alcohol al 70% (Protocolo de colecta CHEA 603(101)-CEUA CURE).

En el laboratorio los mismos fueron clasificados con la ayuda de claves taxonómicas a nivel especie, sexados (cuando la morfología externa lo permite), pesados y medidos (se tomó el largo estándar), previo a su procesamiento para microplásticos. En cada arroyo se calculó la riqueza, densidad, abundancia relativa, y se analizó la distribución de tallas de los individuos de las comunidades. A su vez, las especies fueron clasificadas en grupos y hábitos tróficos a partir de la guía Peces de agua dulce de Uruguay (Teixeira de Mello *et al*, 2011) y de datos no publicados del equipo de trabajo del laboratorio. La clasificación final para cada especie se encuentra detallada en el Anexo 1.

A partir de los datos obtenidos del procesamiento de los peces, se generó una tabla detallando estación, sitio, especie, largo y peso de cada individuo. Utilizando esta base de datos fue posible calcular la biomasa total observada y la cantidad de individuos en cada sitio. A partir de los datos del área pescada en cada uno de los sitios, se calculó la densidad observada de individuos ($ind.m^{-2}$), corregida según lo propuesto por Teixeira de Mello *et al*, (2014). Tomando los datos de densidad estimada ($ind.m^{-2}$) y multiplicándolos por la biomasa media por individuo, se obtuvo la biomasa media por metro cuadrado de arroyo ($g.m^{-2}$).

Con los datos de biomasa y los datos de consumo de MPs por individuo analizado, se hizo una extrapolación de MPs por gramo de individuo para cada arroyo ($MPs.g^{-1}.m^{-2}$). Partiendo del dato de MPs consumidos por individuo y utilizando el peso de los mismos, se hace un cálculo del promedio de MPs por gramo de individuo analizado, para cada especie; este valor luego se extrapola al peso total de especie colectado, para obtener un valor de MPs ponderado por gramo especie colectada, y junto con el valor de biomasa por arroyo, se simplifica el valor final de MPs por gramo por metro cuadrado. De igual manera, a partir de la cantidad de MPs por individuo y la densidad, se calcula la cantidad de MPs por individuo por metro cuadrado ($MPs.ind^{-1}.m^{-2}$). Con el dato de MPs para cada individuo analizado, se calcula el total de MPs por individuos analizados para cada especie (siempre por sitio), y luego se extrapola a individuos capturados de cada especie, obteniendo un total de MPs aproximado para toda la comunidad. Este valor estimado se relativiza luego por la densidad previamente calculada para cada sitio, y se llega al valor de MPs por individuo por metro cuadrado.

Análisis de microplásticos

Trabajar con la identificación de microplásticos a partir de muestras biológicas, en particular con fibras, presenta un gran reto debido al enorme potencial de contaminación. Las fibras se originan en su mayoría a partir del desgaste y desprendimiento de textiles, y se encuentran incorporadas en papeles y la propia agua que se utiliza, por lo cual es necesario tener gran cuidado y conocimiento en el espacio del laboratorio para asegurar la no contaminación de las muestras a lo largo de su procesamiento y observación (GESAMP, 2019; Dris *et al*, 2015a; Hidalgo-Ruz *et al*, 2012).

Teniendo esto en cuenta, antes de comenzar con el trabajo de laboratorio se limpiaron todas las superficies de trabajo y los materiales a utilizar con alcohol y luego con agua miliQ, debido a que fue la única que no presentó micro-partículas plásticas dentro de todas las disponibles en el laboratorio (tanto el agua corriente como el agua destilada esporádicamente presentaron fibras). Siguiendo las recomendaciones de la bibliografía, se trabajó con equipos de aire acondicionado apagados para evitar el movimiento de partículas presentes en el aire, y con todos los materiales tapados con papel aluminio para evitar la deposición de partículas libres.

Para el análisis de microplásticos se seleccionaron para cada especie los cinco (5) individuos de mayor tamaño entre los colectados, o el total de individuos en especies con capturas menores a cinco individuos. En arroyos con baja diversidad de especies se incrementó el número de individuos de las especies disponibles, para llegar al menos a 20 estómagos procesados. La extracción de los estómagos (o intestino en aquellas especies que no tienen estómago) se realizó mediante un corte ventral al pez (Figura 2.A), y luego cada estómago fue digerido un proceso de digestión alcalina modificada a partir de Dehaut (2016). Para ello cada estómago fue colocado en un matraz de vidrio de 150 ml (previamente enjuagado con agua miliQ y tapado con papel aluminio hasta utilizarlo), se les agregó 25 ml de solución de KOH 10% a cada uno (o 50 ml en los casos en que el material no quedó sumergido en su totalidad), y luego estos matraces (tapados con papel de aluminio) fueron llevados a estufa a 80 $^{\circ}$C por 12 horas (Figura 2.B y C).

Posteriormente el contenido de los matraces fue filtrado utilizando un copo con malla de 100 micras y el material retenido se lleva a placas de petri de vidrio (utilizando agua miliQ) para ser observado bajo la lupa (Figura 2.D). La observación se realizó manteniendo la caja de petri cerrada en todo momento, y al encontrar un posible MP este fue medido y fotografiado. Posteriormente la partícula fue extraída y analizada bajo el microscopio con filtro de luz polarizada para confirmar que efectivamente fuera un MP, y fue guardada en tubos eppendorf de 2 ml. Para la identificación de plástico se utiliza como referencia la exposición a luz polarizada y la exposición a calor. En el primer caso las partículas brillan cuando son expuestas a la luz polarizada (son ópticamente activas), sin embargo algunos materiales plásticos o partículas con grosor importante pueden no presentar actividad frente a la luz (Sierra *et al*, 2019). En esos casos en que la duda persistió se realizó una

exposición al calor (prueba de la 'aguja caliente') y se analizó la presencia de puntos de derretimiento que confirmasen que se trataba de MPs (Lusher *et al*, 2016).

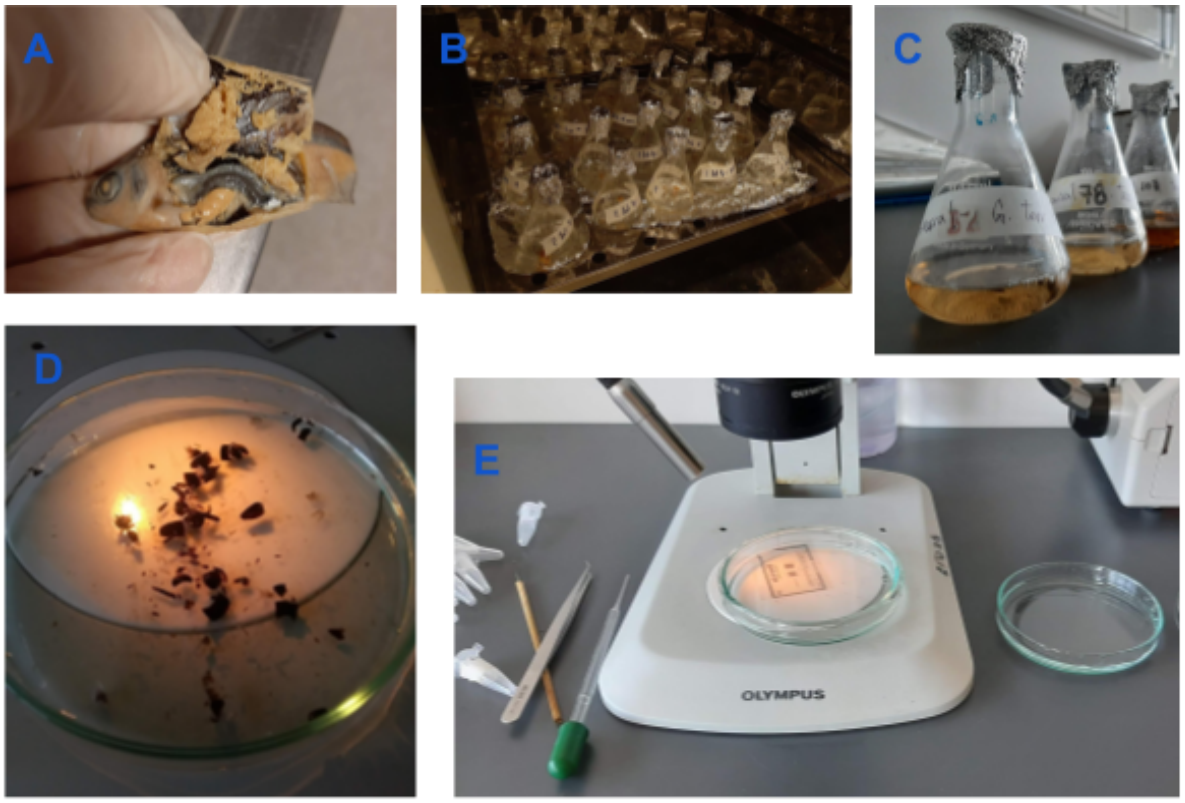

Figura 2. Etapas del procedimiento para extracción de microplásticos de contenido estomacal de peces, disección (A), digestión en la estufa (B), muestras digeridas y en placas (C y D) y lupa con placa de control a la derecha (E).

Una vez confirmado que se tratara de MPs, las partículas fueron clasificadas en dos categorías: i) fibras, cuando una de las dimensiones predominó sobre las demás, y ii) fragmentos, cuando dos dimensiones predominaron sobre la tercera (Dris *et al*, 2015b). Los MPs también fueron medidos en base al largo máximo de la partícula (la dimensión predominante), y separados según su color y tamaño.

Para tener un control de la posible contaminación en el laboratorio, se trabajó en todo el proceso de observación e identificación con una placa de petri destapada con agua miliQ, que también se observó bajo la lupa al terminar de procesar cada muestra (Figura 2.E). En el caso de encontrar partículas en esa 'placa blanco', estas fueron contadas, fotografiadas, medidas y clasificadas (forma y color). En el caso de observar coincidencias de forma y color con los MPs encontrados en las muestras analizadas en esa sesión, las partículas encontradas en la 'placa blanco' fueron descontadas de las respectivas muestras.

Análisis estadísticos

Para evaluar si existen diferencias entre los diferentes tipos de sistemas, tomando los tres arroyos para cada uso del suelo, se calculó a nivel del análisis de la comunidad de peces, la densidad, riqueza, biomasa, abundancia relativa de órdenes y especies. Se contrastó utilizando el Test de Mood's median. Este test compara medianas entre grupos, y se puede aplicar a grupos sin distribución normal y sin heterogeneidad de varianza (Hammer, 2019).

Se calculó el promedio de microplásticos por individuo para cada uno de los arroyos muestreados y también por especie, y grupo trófico. Para los análisis de distribución de microplásticos entre sitios y por grupo trófico también se utilizó el test Mood's median. Además, a partir de los datos de densidad y biomasa en cada arroyo, se hizo una extrapolación de la carga de microplásticos a nivel comunitario para todos los sitios, también comparados utilizando el test de Mood's median. Todos los análisis fueron realizados utilizando el software PAST versión 4.02 (Hammer 2019), y las gráficas en el software SIGMA Plot versión 4.02.

Resultados

Comunidad de peces

Se encontró un total de 29 especies de peces en los 6 arroyos estudiados, con un promedio de 15 (±1) especies en los arroyos agrícolas y 11 (±6) en los urbanos, 9 especies se encontraron exclusivamente en los ambientes ganaderos, mientras que 4 de ellas estaban presente solo en los urbanos. Las especies encontradas pertenecen a 4 grupos tróficos: invertivoros (11), detritívoros (6), omnívoros (11) y piscivoros (1) (Anexo 1).

Los arroyos ganaderos presentaron una biomasa significativamente mayor a los arroyos urbanos (8.64 ± 1.95 $g.m^{-2}$ y 1.52 ± 0.45 $g.m^{-2}$, respectivamente) (Mood 's median, Chi^2=6, p=0.014). Mientras que la densidad de individuos presentó una tendencia no significativa con valores de densidad más elevada en los arroyos urbanos (10.0 ± 11.0 $ind.m^{-2}$) que en los arroyos ganaderos (7.65 ± 4.26 $ind.m^{-2}$) (Mood 's median, Chi^2=0.67, p=0.41) (Tabla 2).

El orden con mayor abundancia relativa en los arroyos ganaderos es el de los Characiformes (55.53 ± 18.65) mientras que en los urbanos fueron los Cyprinodontiformes (62.90 ± 35.94). Las especies con mayor abundancia relativa para los arroyos ganaderos fueron *Cnesterodon decemmaculatus* (21.0 ± 8.7), *Characidium rachovii* (11.8 ± 11.5) y *Ectrepopterus uruguayensis* (9.5 ± 10.4). En los arroyos urbanos fueron *C. decemmaculatus* (53.6 ± 49.7), *Phalloceros caudimaculatus* (9.0 ± 15.6) y *Bryconamericus*

iheringii (7.5 ± 12.2) (Tabla 2). Algunas especies presentaron diferencias significativas entre arroyos urbanos y ganaderos, por ejemplo *Characidium rachovii* (p= 0.014 moods median) y *Gymnogeophagus terrapurpura* (p=0.014 Mood's median) fueron más abundantes en los ganaderos. De las especies presentes en ambos sistemas, ninguna fue significativamente más abundante en los sistemas urbanos. La única especie presente en todos los sistemas fue la madrecita *Cnesterodon decemmaculatus*, representando el 20.9% (± 8.72) de la abundancia relativa en los ganaderos y 53.6 (± 49.67) en los urbanos (Tabla 2). En ningún caso se vieron diferencias significativas para la distribución de las especies.

Tabla 2. Características de las comunidades de peces en los 6 arroyos analizados. Se presenta la riqueza, biomasa, densidad y abundancia relativa por órdenes y especies. No existen diferencias significativas entre abundancia de órdenes y especies.

	Insaurral	Curupí	Las Niñas	Promedio	Cañada del Dragón	Cañada del Colorado	Las Piedras	Promedio
Riqueza	16	14	16	**15.3 ± 1.2**	17	11	5	**11 ± 6.0**
Biomasa (g/m²)	10.84	7.11	7.97	**8.6 ± 1.9**	1.94	1.57	1.05	**1.5 ± 0.5**
Densidad (ind/m²)	11.11	2.89	8.95	**7.7 ± 4.23**	4.24	3.12	22.79	**10.1 ± 11.1**
Individuos totales	389	179	368	**312 ±116**	204	100	208	**170 ± 61**
Abundancia relativa órdenes (%)								
Characiformes	55.53	34.29	71.47	**53.8 ± 18.7**	56.37	21	0	**25.8 ± 28.5**
Cyprinodontiformes	12.85	30.29	19.84	**21.0 ± 8.8**	27.94	61	99.75	**62.9 ± 35.9**
Cichliformes	21.85	25.8	8.7	**18.8 ± 8.9**	0.98	0	0.05	**0.3 ± 0.6**
Siluriformes	9.51	7.93	0	**5.8 ± 5.1**	14.22	15	0.2	**9.8 ± 8.3**
Synbranchiformes	0	1.69	0	**0.6 ± 0.9**	0.49	3	0	**1.2 ± 1.6**
Gymnotiformes	0.26	0	0	**0.09 ± 0.15**	0	0	0	**0.00 ± 0**
Abundancia relativa especies (%)								
Cnesterodon decemmaculatus	12.85	30.18	19.83	**21.0 ± 8.7**	0.98	60	99.7	**53.6 ± 49.7**
Characidium rachovii	5.91	4.47	25	**11.8 ± 11.5**	1.47	3	0	**1.5 ± 1.5**
Ectrepopterus uruguayensis	7.97	0	20.65	**9.5 ± 10.4**	0	0	0	**0.00 ± 0**
Astyanax sp.	5.41	17.88	3.26	**8.9 ± 7.9**	10.78	10	0	**6.9 ± 6.0**
Bryconamericus iheringii	23.39	0	1.36	**8.3 ± 13.1**	21.57	1	0	**7.5 ± 12.2**
Australoheros facetus	12.08	8.37	0.54	**7.0 ± 5.9**	0	0	0	**0.00 ± 0**
Cheirodon interruptus	11.31	5.03	2.72	**6.4 ± 4.5**	10.78	6	0	**5.6 ± 5.4**
Hyphessobrycon meridionalis	0.76	2.23	8.97	**4.0 ± 4.4**	4.9	0	0	**1.6 ± 2.8**
Gymnogeophagus terrapurpura	5.14	3.91	2.45	**3.8 ± 1.4**	0.98	0	0.05	**0.3 ± 0.6**
Heptapterus mustelinus	6.43	4.47	0	**3.6 ± 3.3**	0.98	0	0	**0.3 ± 0.6**
Gymnogeophagus mekinos	1.03	7.82	1.36	**3.4 ± 3.8**	0	0	0	**0.00 ± 0**
Crenicichla scottii	3.34	5.58	0.82	**3.3 ± 2.4**	0	0	0	**0.00 ± 0**
Steindachnerina biornata	0	0	5.98	**2.0 ± 3.5**	0.98	1	0	**0.7 ±0.6**
Rineloricaria sp	2.06	2.23	0	**1.4 ± 1.2**	0	9	0	**3.0 ± 5.2**
Australoheros scitulus	0.26	0	3.53	**1.3 ± 1.9**	0	0	0	**0.00 ± 0**
Charax stenopterus	0	3.35	0.27	**1.2 ± 1.9**	0	0	0	**0.00 ± 0**
Oligosarcus jenynsii	0.51	1.12	1.63	**1.1 ± 0.6**	0.49	0	0	**0.2 ± 0.3**
Synbranchus marmoratus	0	1.68	0	**0.6 ± 1.0**	0.49	3	0	**1.2 ± 1.6**
Hoplias aff. malabaricus	0	0	1.63	**0.5 ± 0.9**	0.49	0	0	**0.2 ± 0.3**
Ancistrus taunayi	0	1.12	0	**0.4 ± 0.7**	0	0	0	**0.00 ± 0**
Corydoras paleatus	0.77	0	0	**0.3 ± 0.4**	6.86	4	0.15	**3.7 ± 3.4**
Hypostomus commersoni	0	0.56	0	**0.2 ± 0.3**	0	0	0	**0.00 ± 0**
Pseudocorinopoma doriae	0.26	0	0	**0.1 ± 0.2**	4.9	0	0	**1.6 ±2.8**
Hisonotus nigricauda	0.26	0	0	**0.1 ± 0.2**	1.47	0	0	**0.5 ± 0.9**
Gymnotus omarorum	0.26	0	0	**0.1 ± 0.2**	0	0	0	**0.00 ± 0**
Phalloceros caudimaculatus	0	0	0	**0.0 ± 0**	26.96	0	0	**9.0 ± 15.6**
Otocinclus arnoldi	0	0	0	**0.0 ± 0**	2.45	0	0.05	**0.8 ± 1.4**
Rhamdia aff. quelen	0	0	0	**0.0 ± 0**	0.49	2	0	**0.8 ± 1.0**
Jenynsia lineata	0	0	0	**0.0 ± 0**	0	1	0.05	**0.4 ± 0.6**

En cuanto a la distribución de tallas, los arroyos urbanos presentaron comunidades de peces constituidas por individuos de menor talla en comparación con los arroyos de ganadería. La mayor parte de los individuos de los arroyos ganaderos midieron entre 2 y 3 cm, y el 90% de la comunidad se halla por debajo de los 6 cm. Por otra parte, la mayor parte de los individuos de los sistemas urbanos midieron entre 1 y 2 cm, y el 90% de la comunidad se encontró por debajo de los 4 cm (Figura 3).

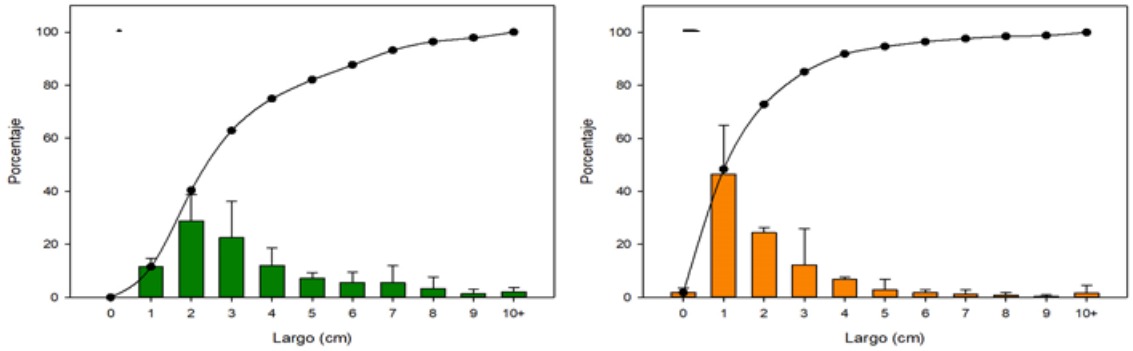

Figura 3. Histogramas de tallas de individuos según grupos, en A los Agrícolas (verde) y en B los Urbanos (anaranjado). La curva representa el porcentaje acumulado de individuos de cada talla. En todos los casos los individuos de talla mayor a 10 cm fueron incluidos en la última categoría.

Microplásticos

Microplásticos a nivel comunitario y según los usos del suelo

El análisis de microplásticos (MPs) en la dieta de los peces de los dos usos del suelo analizados presentó una gran diversidad de partículas, las cuales fueron clasificadas según su forma en fibras o fragmentos, registrándose además su color y tamaño (Figura 4).

Se encontraron microplásticos en los seis arroyos estudiados y en el 60% de los estómagos analizados (189 individuos), alcanzando un total de 373 partículas, de las cuales 318 fueron fibras (85%) y 55 fueron fragmentos (15%). Esta dominancia de las fibras también se registró al analizar cada subgrupo de arroyos, siendo el 93.36% (±4.89) de los MPs encontrados en los arroyos de ganadería y el 82.32% (±7.05) en los urbanos. Los fragmentos dominaron también en los ambientes Urbanos (42) con respecto a los Ganaderos (13). En cuanto a la frecuencia de ocurrencia de estos dos tipos de MPs en los estómagos de los peces, el 59% de los individuos analizados presentaron fibras, mientras que solamente el 9% presentó fragmentos. Respecto al color, el más frecuente entre las fibras fue el azul (67%), mientras que para los fragmentos fue el blanco (87%). De ahora en adelante se presentarán los resultados de ambas formas (fibras y fragmentos) de manera conjunta como ‘microplásticos’ (MPs).

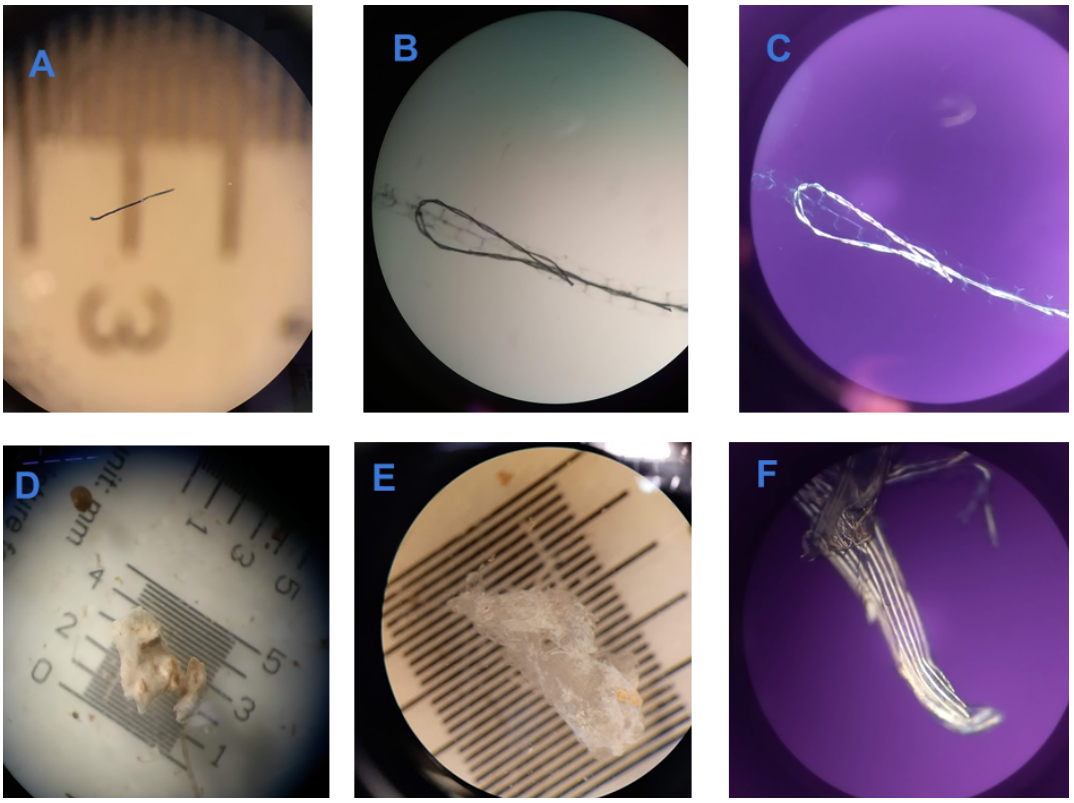

Figura 4. Variedad de fibras (A, B, C) y fragmentos (D, E, F) recuperados de digestiones de contenidos estomacales de peces. C y F muestran la reacción de las partículas en exposición a luz polarizada (son ópticamente activas).

Se encontraron 115 fibras en las placas de control de contaminación que fueron restadas de las muestras correspondientes. No existió contaminación por fragmentos.

Con respecto a los distintos arroyos estudiados, el 20% de los MPs fueron encontrados en el A° Insaurral, 15% en el Aº Curupí, 11% en el Aº Las Niñas (arroyos con predominancia de ganadería extensiva), 20% en la Cañada del Dragón, 29% en la Cañada del Colorado y 5% en el Aº Las Piedras (arroyos con usos del suelo urbano). En conjunto los arroyos ganaderos tuvieron un 46% de los MPs y los arroyos urbanos un 54%. Es necesario resaltar que se analizaron más individuos en el grupo de arroyos de ganadería debido a la mayor diversidad de especies de peces encontrada.

Los arroyos urbanos presentaron un porcentaje de individuos con MPs significativamente mayor que los arroyos de ganadería (76.6% ± 13.8 y 51.6% ± 9.8, respectivamente) (Test Mood's median, Chi^2=6, p= 0.014) (Figura 5).

En cuanto al promedio de MPs por individuo, si bien se observó una tendencia menor en los arroyos ganaderos con respecto a los urbanos (0.96 MPs.ind^{-1} y 1.31 MPs.ind^{-1}, respectivamente), no se encontraron diferencias significativas (Test Mood's median, Chi^2=0.67, p=0.41) (Figura 6). Los individuos que presentaron más cantidad de fibras se encontraron en el arroyo Insaurral (n=16 ítems, ganadería extensiva) y en la Cañada del Colorado (n=7 ítems, urbano), al igual que los dos individuos que tuvieron más cantidad de fragmentos (n=7 ítems, uno en cada sistema).

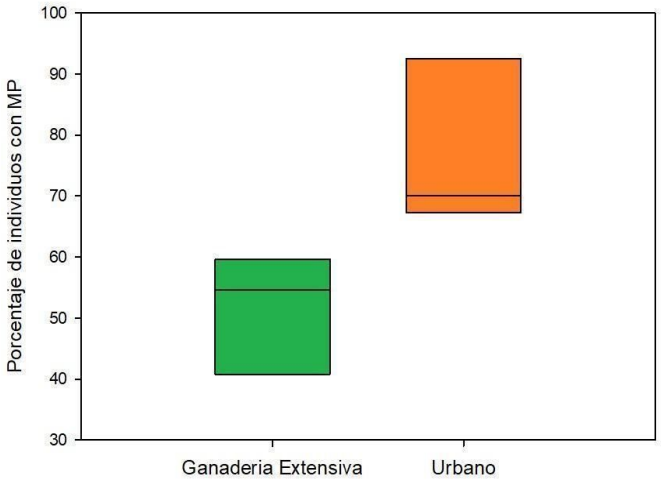

Figura 5. Mediana y extremos para el porcentaje de individuos con microplásticos para el grupo de ganadería extensiva (verde) y el grupo urbano (anaranjado). MP=microplástico (Test Mood's median, p= 0.014).

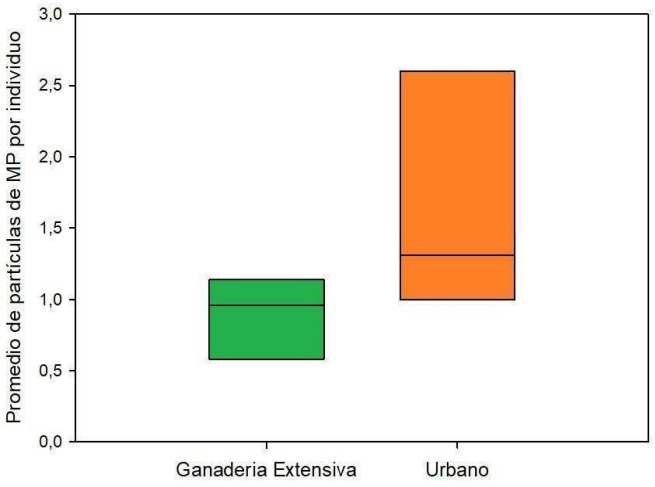

Figura 6. Medianas y extremos para promedio de microplásticos por individuos analizados. En verde Ganadería extensiva (A° Insaurral, A° Curupí y A° Las Niñas) y en naranja Urbanos (Cañada del Dragón, Cañada del Colorado y A° Las Piedras). MP= microplástico (Test Mood's median, p= 0.41).

En base a los resultados de MPs en el contenido estomacal, se calculó una estimación de la cantidad de MPs por gramo de individuo para cada uno de los grupos de arroyos, encontrándose valores significativamente superiores en arroyos urbanos (Mood's Median, Chi^2=6, p=0.014) (Figura 7). Es importante resaltar que los individuos pertenecientes a los arroyos urbanos tuvieron un tamaño medio menor que en los arroyos ganaderos (Figura 3), y aun así presentaron un mayor promedio de MPs por gramo. En los sistemas urbanos se observó también una mayor variabilidad en la cantidad de MPs por gramo de individuo (Figura 7).

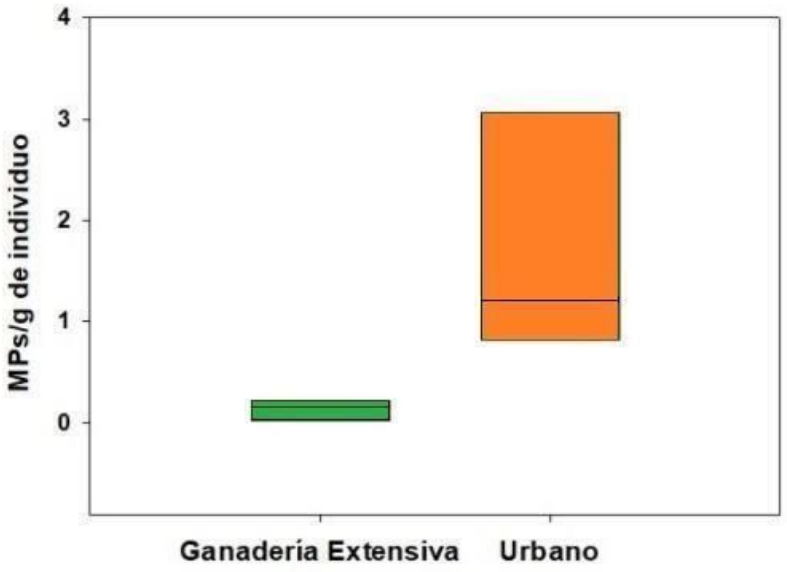

Figura 7. Medianas y extremos para promedio de microplásticos por gramo de individuo en ambos tipos de sistema. En verde Ganadería extensiva (Insaurral Curupí y Las Niñas) y en naranja Urbanos (Cañada del Dragón, Cañada del Colorado y Las Piedras). MPs= microplásticos.

A partir de los resultados de abundancia de MPs en el contenido estomacal y la densidad de peces (como individuos y como biomasa por metro cuadrado), se realizó una estimación del número de partículas de MPs consumidas por metro cuadrado en el momento del muestreo (Tabla 3). Si bien no se observaron diferencias significativas entre los dos tipos de arroyos para los MPs por gramo por metro cuadrado ($MP.g^{-1}.m^{-2}$) ni por individuo por metro cuadrado ($MPs.ind^{-1}.m^{-2}$) (en ambos casos Test Mood 's median, $Chi^2=0.67$, $p=0.41$), sí se observó una tendencia de mayor densidad de MPs en los sitios urbanos con respecto a los sitios de ganadería. Se observó además dentro de los arroyos urbanos una tendencia al aumento de los $MPs.m^{-2}$ con el incremento de urbanización que presentan (Tabla 3).

Tabla 3. Densidad de microplástico por metro cuadrado para cada sitio. En verde los arroyos de Ganadería extensiva (Aº Insaurral, AºCurupí y Aº Las Niñas) y en anaranjado los Urbanos (Aº Cañada del Dragón, Aº Cañada del Colorado y Aº Las piedras).

	$MP.g.m^{-2}$ (Biomasa)	$MP.\ ind.m^{-2}$(Densidad)
Insaurral	2.39	12.7
Curupí	1.16	3.10
Las Niñas	1.22	5.76
Cañada del Dragón	1.59	5.66
Cañada del Colorado	1.91	7.44
Las Piedras	3.21	24.4

Microplásticos a nivel de grupos y hábitos tróficos

Se analizó el promedio de microplástico por individuo agrupándolos según sus hábitos alimenticios en detritívoros, invertivoros, omnívoros y piscívoros (Figura 8). Todos los grupos tróficos presentaron consumo de MPs en todos los sitios que estuvieron presentes.

Al analizar la abundancia promedio de MPs por individuo de cada grupo trófico entre los dos tipos de usos de suelo analizados no se encontraron diferencias significativas para detritívoros (Test Mood 's median, Chi^2=0.67, p=0.41) ni para omnívoros (Test Mood 's median, Chi^2=0.67, p=0.41) En el caso de invertívoros y piscívoros no fue posible evaluar estas diferencias ya que no se contaba con datos suficientes para el análisis estadístico (Figura 8). Para todos los hábitos el consumo siempre fue mayor en los sitios urbanos. El hábito que presentó mayor incidencia de MPs en sitios urbanos fue el de los invertívoros (mediana 1.95), mientras que para los sitios ganaderos fue el de los omnívoros (mediana 1.24).

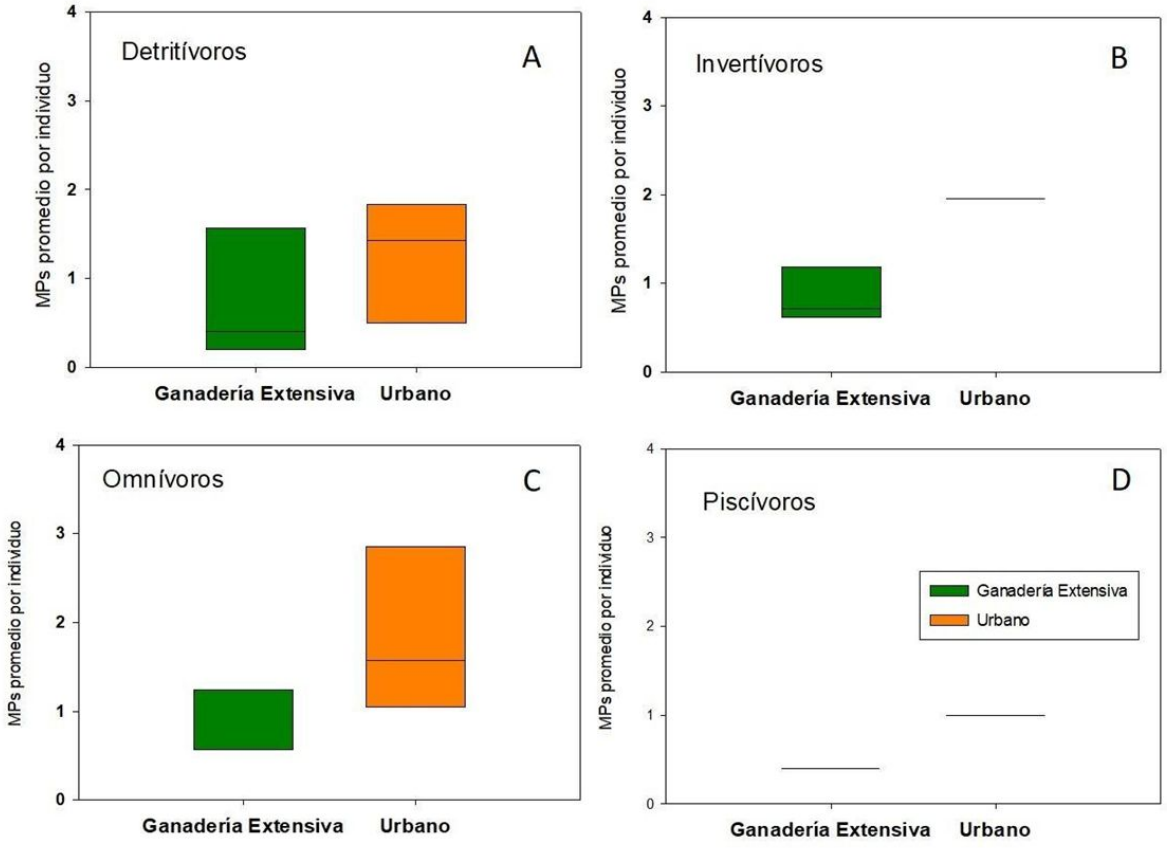

Figura 8. Medianas del promedio de microplásticos por individuo según su grupoo trófico: Detritívoro (A). Invertivoro (B), Omnivoro (C) y Piscivoro (D), para los arroyos de Ganadería extensiva (en verde) y Urbanos (anaranjado). MPs= microplásticos

Además, se analizó el promedio de microplástico por individuo agrupándolos según sus hábitos tróficos en bentónicos, bentopelágicos y pelágicos (Figura 9). Todos los grupos presentaron consumo de MPs en todos los sitios que estuvieron presentes. No fue posible hacer una comparación entre ambos sitios para bentónicos ni para pelágicos. No se encontraron diferencias significativas entre sitios en el caso de los bentopelágicos (Test Mood 's median, Chi2=0.67, p=0.41). En todos los casos el consumo de MPs fue mayor para los sitios urbanos con respecto a los ganaderos (FIgura 9). El grupo con mayor promedio de MPs por individuo fue el pelágico tanto para los urbanos (mediana 2,78) como para los ganaderos (mediana 1,15). El grupo bentónico mostró el menor consumo de MPs por individuo para ambos sitios (mediana 0.88 para ganaderos y mediana 1,44 para urbanos).

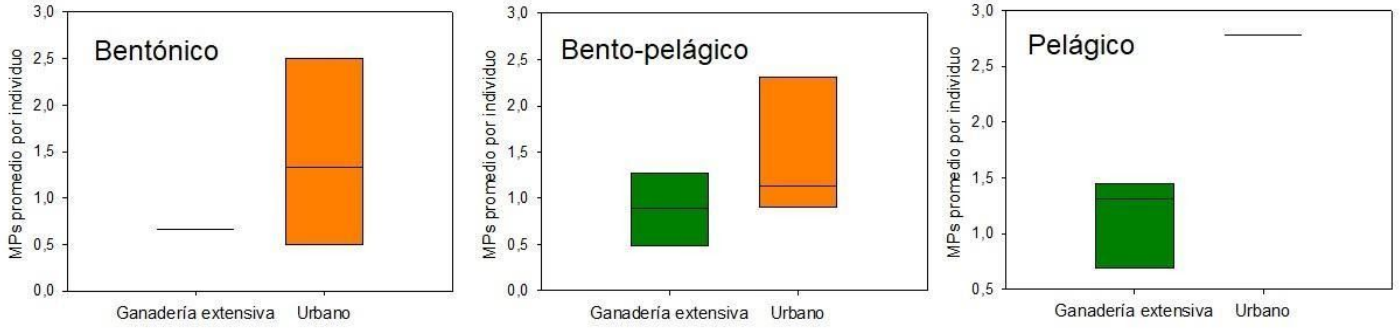

Figura 9. Medianas y extremos del promedio de microplásticos por individuo según su hábito trófico: Bentonico, Bento-pelágico y Pelágico, para los arroyos de Ganadería extensiva (en verde) y Urbanos (anaranjado). MPs= microplásticos.

Microplásticos a nivel de especies

El análisis de los MPs a nivel de especies se realizó integrando todos los individuos analizados para cada una de ellas, independientemente del sitio en que fueron colectados. Al ordenar las 10 primeras especies en función de la estimación de MPs.ind^{-1} y MPs.g^{-1} (es decir las que presentaron mayor incidencia de los MPs) se observó que las listas fueron diferentes en ambos casos (Figura 10). Es destacable además que existe un cambio de hasta un orden de magnitud en el consumo promedio de MPs entre las diferentes especies (Figura 10A). Al analizar el ordenamiento de las especies, gran parte de las que presentaron mayores valores promedio de MPs.ind^{-1} son omnívoras, mientras que las especies con menores promedios son invertívoras (Anexo 1).

Todas las especies encontradas presentaron microplásticos (MPs) en al menos uno de los individuos analizados. *Hypostomus commersoni* fue la única especie que presentó al menos una partícula microplástica en todos los individuos analizados, mientras que la especie que presentó mayor cantidadde partículas por individuo fue *Gymnotus omarorum* (4 MPs.ind^{-1}, Figura 10A), si bien sólo se analizó un solo individuo. La especie con mayor promedio de partículas por individuo con al menos tres individuos analizados fue *H. commersoni.*

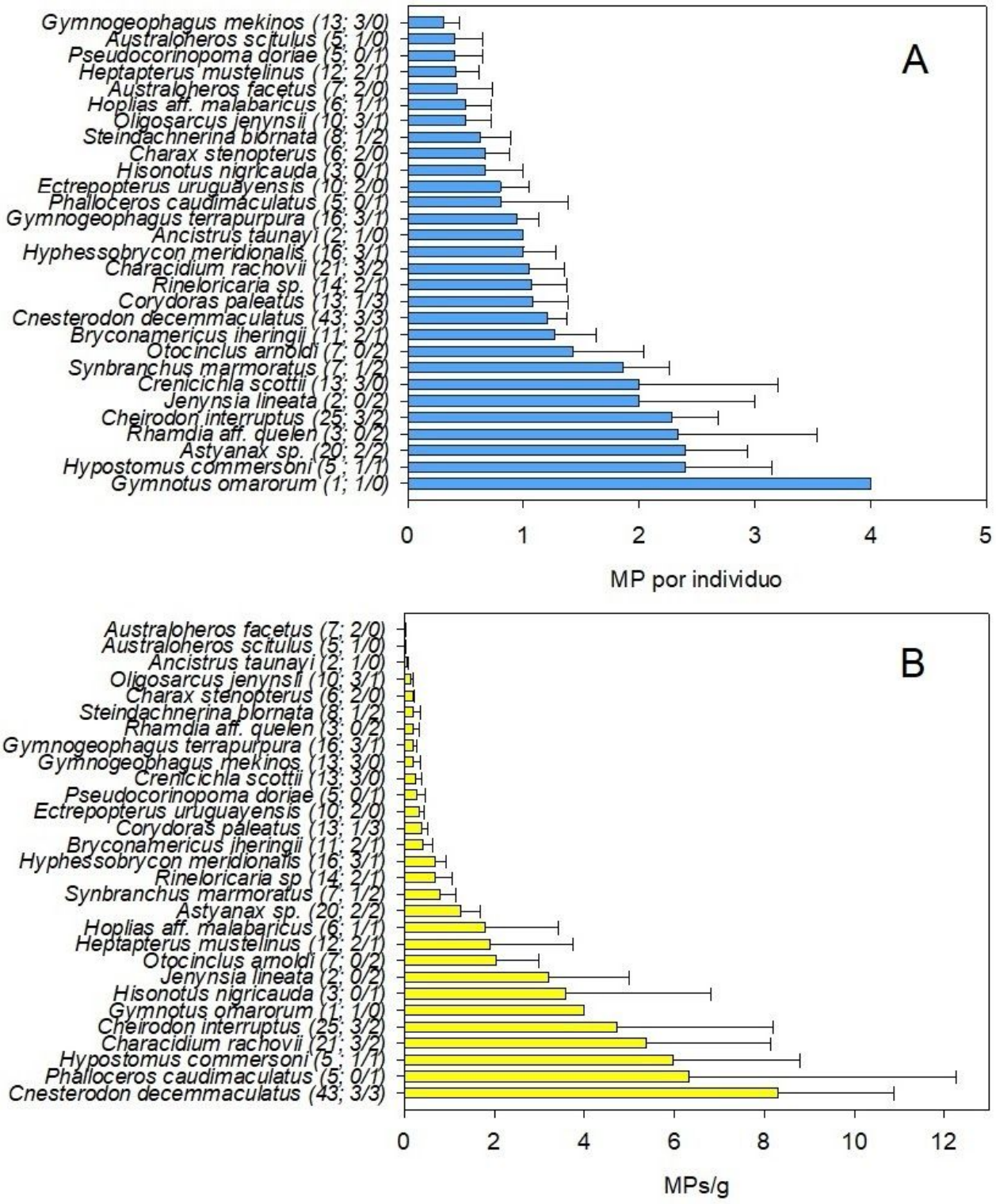

Figura 10. Promedio de microplásticos por individuo por especie, con su error estándar (A). Promedio de microplásticos por gramo de individuo (B). Ambas gráficas presentan las especies en orden creciente. Entre paréntesis junto a cada especie, se encuentra en primer lugar la cantidad de individuos analizados, y en segundo lugar cuántos sitios dentro de cada grupo estuvo presente la especie, en ganaderos y urbano respectivamente. MPs= microplásticos

La especie con mayor cantidad de partículas por gramo de individuo fue *Cnesterodon decemmaculatus* (en promedio 8.3 MPs.g^{-1}, Figura 10B), mientras que *Australoheros facetus* fue la especie que presentó la menor cantidad de partículas por gramo de individuo (,en promedio 0.021 MPs.g^{-1}). No se identificaron patrones claros con respecto a los hábitos tróficos y un mayor o menor promedio de MPs.g^{-1}. Las dos especies con mayor cantidad de MPs por gramo (*C. decemmaculatus y P. caudimaculatus*) fueron las especies de menor peso medio analizadas (Anexo 1).

No todas las especies estuvieron presentes en ambos sistemas, por lo que no fue posible realizar una comparación completa del consumo de MPs entre los dos tipos de arroyos estudiados a nivel de especies.

Teniendo en cuenta que *C. decemmaculatus* fue la única especie presente en los seis sitios muestreados, se realizó un análisis detallado de su consumo de MPs. Se analizaron un total de 43 individuos (17 individuos en arroyos ganaderos y 26 en urbanos), de los cuales 34 presentaron MPs (79%). Un total de 53 MPs fueron encontrados, 15 en arroyos ganaderos y 38 en urbanos.

El promedio de MPs consumidos por individuo fue menor en los arroyos ganaderos que en los urbanos (0.86 ± 0.4 y 1.52 ± 0.46 MPs.ind^{-1}, respectivamente), aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Test Mood 's median, Chi^2=0.67, p=0.41) (Figura 11). En cuanto al tipo de MPs consumido por *C. decemmaculatus*, se observó una mayor cantidad de fibras con respecto a los fragmentos, que solamente estuvieron presentes en un individuo en el arroyo Las Piedras (Figura 11).

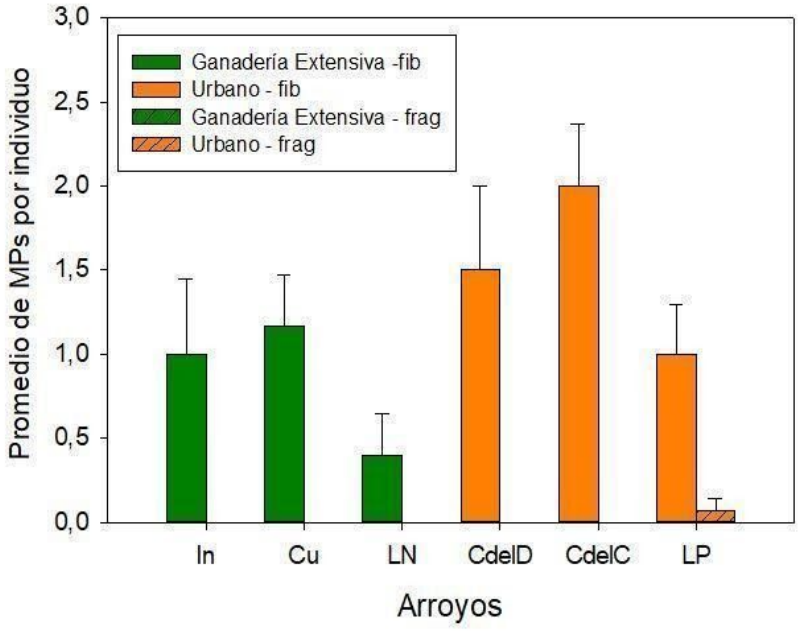

Figura 11. Promedio de MPs en estómagos de *Cnesterodon decemmacultaus,* en los arroyos analizados. In= Insaurral, Cu= Curupí, LN= Las Niñas, CdelD = Cañada del Dragón, CdelC= Cañada del Colorado, LP= Las Piedras. Sin textura figuran las fibras y con textura se ven los fragmentos (fib= fibras, frag = fragmentos).

Discusión

En este trabajo se analiza por primera vez para nuestro país, la incidencia de los residuos de microplásticos en comunidades de peces de arroyos, incluyendo el potencial efecto del uso del suelo. Siendo el primer antecedente en Uruguay, los resultados obtenidos de este trabajo resultan de suma importancia para el contexto nacional pero también a nivel regional.

Los sistemas lóticos analizados presentaron comunidades de peces con características diferenciales como era de esperar. Los sistemas afectados por la urbanización tienden a presentar peor calidad de agua que los sistemas de ganadería extensiva y comunidades de peces menos diversas y caracterizadas por peces de menor tamaño (Benejam *et al*, 2016). En cuanto a la incidencia de microplásticos (MPs), los sistemas urbanos presentaron un mayor porcentaje de peces que consumieron MPs y una cantidad significativamente mayor de MPs por gramo de individuo en comparación a los sistemas ganaderos.

En los arroyos analizados se encontró una gran variedad de partículas de MPs, con respecto a su forma, coloración y tamaño. Tanto fibras como fragmentos estuvieron presentes en ambos sistemas y todos los sitios, aunque en mayor proporción en los arroyos urbanos, apoyando la hipótesis sobre el mayor aporte y consumo de MPs por parte de la comunidad de peces de estos arroyos. El alto porcentaje de fibras con respecto a fragmentos u otro tipo de MPs encontrados fue consistente con la bibliografía, donde las fibras han sido documentadas como la forma más común y en algunos casos la única forma encontrada (Pazos *et al*, 2017; García *et al*, 2020). Aunque las fibras son consideradas menos dañinas con respecto a los fragmentos en términos de sus consecuencias al sistema digestivo (al carecer de bordes afilados o grosor mayor que podría derivar en bloqueos), serían más propensas a acumularse en el sistema digestivo (Wagner, 2018).

En cuanto al color de los MPs, en este trabajo se encontró una predominancia de fibras azules con respecto a otras coloraciones, estos resultados coinciden con los encontrados tanto en la región como las tendencias a nivel mundial (Pazos *et al*, 2017; Güven *et al*, 2017; Herrera *et al*, 2019; García *et al*, 2020; Dos Santos *et al*, 2020). En el caso de los fragmentos predominó el color blanco, lo que no coincide con algunos trabajos a nivel regional que encuentran una mayor abundancia de fragmentos de color azul (García *et al*, 2020), pero sí con otras zonas del mundo donde el blanco ha sido el color más representado (Herrera *et al*, 2019). En líneas generales, la bibliografía respecto al color de los fragmentos es más variable. Según Wang *et al* (2019) una mayor incidencia sobre el color blanco podría deberse no solamente a su mayor disponibilidad en el medio, sino también a su semejanza en coloración con ciertos tipos de zooplancton, pudiendo generar en algunas especies incluso un consumo activo. Sin embargo, aún no está claro hasta donde la forma, la densidad y la coloración de los MPs estarían relacionadas con la selectividad y los hábitos alimenticios de las diferentes especies de peces (Roch *et al*, 2020; Wang *et al*, 2019).

En concordancia con nuestra hipótesis encontramos un mayor porcentaje de individuos con MPs en los sitios urbanos con respecto a los ganaderos. Estudios recientes llevados adelante en Brasil muestran una relación positiva entre la ingesta de MPs y la urbanización (García *et al*, 2020). Si bien en nuestro caso también se encontraron valores mayores en sistemas urbanos, el porcentaje de individuos con MPs fue muy superior a los reportados por Gacía *et al*. (2020) para el río Ivaí en el estado de Paraná (37% en Brasil *versus* 76% en Uruguay). En cuanto a los sistemas no urbanos, estudios en la región reportan valores de 28% y 50% de los individuos con presencia de MPs (Andrade *et al*, 2019; García *et al*, 2020), estando estos últimos en el entorno de los resultados obtenidos en nuestro caso para sistemas ganaderos (51.6±9.8%).

Al analizar el número promedio de ítems consumidos en ambos grupos de sistemas, no se encontraron diferencias significativas, sugiriendo que a nivel individual los peces de sistemas urbanos no consumirían necesariamente más MPs que aquellos de sistemas ganaderos. Aunque esto no era lo esperable de acuerdo a nuestra hipótesis inicial, es posible que se haya subestimado el posible aporte de microplásticos por las actividades ganaderas. En otros modelos biológicos, como mejillones, se han observado mayores concentraciones de MPs lejos de centros urbanos (Fischer *et al* 2019).

En este sentido, ambientes fuera de áreas urbanizadas pueden estar recibiendo aportes significativos de MPs por múltiples fuentes, tanto la mala disposición de desechos de producción en la zona, el aporte propio de las actividades que allí se desarrollan o la deposición atmosférica. Ha sido descrito en estudios recientes en áreas no urbanizadas y zonas remotas con importantes concentraciones de microplásticos (Allen *et al*, 2019, Wright *et al*, 2020). Los patrones físicos y meteorológicos detrás del desplazamiento de MPs no están aun completamente definidos, pero es claro que una vez en suspensión podrían transportarse de unos pocos a cientos de kilómetros, propiciando la presencia de estas partículas en zonas con menor actividad humana que la desde donde fueron originadas (Allen *et al*, 2019). Es habitual considerar que un curso de agua se ve influido por las actividades que se desarrollan directamente en su cuenca, pero en futuras investigaciones es posible que sea necesario considerar además factores externos y más alejados de ellas ya que la llegada por deposición atmosférica puede representar una importante fuente de ingreso de MPs a los sistemas acuáticos.

Otro factor que podría estar explicando por qué a nivel individual los peces en sistemas urbanos no estarían consumiendo más MPs es la posible existencia de un “umbral de consumo”. Recientemente se ha sugerido la existencia de una concentración umbral de MPs a la cual los individuos pueden estar expuestos, y a partir de la cual la afectación (consumo de MPs) dejaría de tener una relación clara (Foley *et al*, 2018). Esto podría determinar niveles de exposición a los cuales gran parte de los individuos de la comunidad tendrían un consumo mínimo y pasivo de MPs (Roch *et al*, 2020). Es crucial complementar los análisis de contenidos estomacales con análisis en agua y sedimento en todos los sitios a analizar, para poder determinar cuál es la oferta de MPs en el medio y así comprender con mayor profundidad las dinámicas de interacción.

Existen escasas investigaciones sobre el consumo de MPs a nivel comunitario en ambientes dulceacuícolas, y para ello este trabajo propone un nuevo nivel de análisis valorando, de dos formas diferentes y complementarias la posible carga de MPs en la comunidad (por densidad de peces ind.m^{-2} y por biomasa total de peces g.m^{-2}) (Tabla 3). Estos resultados muestran un incremento en la carga de MPs para ambas estimaciones (ind.m^{-2} y g.m^{-2}) en los sitios urbanos lo que es consistente con nuestra hipótesis. Estas estimaciones de densidad (MPs.m^{-2}) podría permitirnos extrapolar la carga de "plástico activo" o en circulación en las cadenas tróficas. Partiendo de la carga de individuos o la biomasa de los mismos por área se obtienen diferentes valores, lo que muestra que las variaciones en tamaño de los individuos y especies, y su relación con respecto al consumo de MPs. Un menor tamaño corporal, podrían estar haciendo más vulnerables a algunas especies frente a otras, que a priori no muestran un promedio mayor de consumo de MPs, pero sí una relación más alta de partículas por gramo (Hu *et al*, 2018). Aunque esta primera aproximación aún debe ajustarse, y es importante hacerlo con mediciones en agua y sedimento para conocer su relación con la carga de MPs en otros compartimentos ambientales, puede ser un importante indicador a tener en cuenta para futuros estudios.

Tomando en cuenta la cantidad de MPs por gramo de pez, se vio una diferencia significativa entre los sitios Ganaderos y los Urbanos, mostrando que existe una diferencia a nivel comunitario (estos últimos tienen en algunos casos valores de hasta un orden de magnitud mayor). Si bien no existieron diferencias significativas en la cantidad de MPs consumidos entre estos dos grupos de arroyos, consideramos que las comunidades de peces de los arroyos urbanos podrían ser más vulnerables a esta contaminación, por tener individuos de menor tamaño medio que los arroyos ganaderos; se ha visto un comportamiento similar con respecto a MPs en renacuajos y variación de tamaño corporal (Hu *et al*, 2018).

Debido a la variedad de formas y coloraciones de los MPs, como ya se mencionó es posible que estos sean consumidos de manera intencional al ser confundidos con alimentos. Además, a nivel de laboratorio se ha observado que los MPs se transfieren en la cadena trófica, por lo cual los diferentes hábitos alimenticios pueden tener consumos diferenciales de MPs ya sea directa o indirectamente, y estar sujetos a diferentes consecuencias (García *et al*, 2020). Una de las consecuencias más comunes y estudiadas de la ingesta de MPs en una variedad de grupos taxonómicos es la acumulación en el sistema digestivo, que ocasiona una falsa sensación de saciedad y así un deterioro en la absorción de nutrientes, crecimiento, impacto a nivel metabólico, reproductivo y de performance (Foley *et al*. 2018, García *et al*, 2020). Estudios recientes han comenzado a analizar el impacto a nivel fisiológico que podría resultar producto del consumo de MPs, particularmente péptidos y enzimas relacionados con la digestión, pudiendo también afectar a los peces a nivel muscular y de función nerviosa (Rochman *et al*, 2013; Wen *et al*, 2018). El compromiso en las capacidades depredadoras podría ser principalmente perjudicial en especies piscívoras, pudiendo tener efectos en el control top down en las redes tróficas afectando el funcionamiento ecosistémico (Wen *et al*, 2018; Galloway *et al*, 2017).

Cuando se considera el grupo trófico de las especies analizadas en este estudio los resultados no permiten ver diferencias significativas entre los grupos tróficos ni entre los ambientes. Algunos trabajos en la región encuentran relaciones positivas entre la omnivoría y el consumo de MPs (Mizraji *et al*, 2017, García *et al*, 2020). En los sitios ganaderos los omnívoros presentaron el mayor promedio de MPs por individuo, y en los sitios urbanos fueron el segundo grupo con mayor promedio, siendo los Invertívoros los primeros. Si bien, la evidencia actual aún no es clara para afirmar que hay una correlación fuerte entre omnivoría y consumo de MPs, es claro que el hábito generalista expone a los individuos a mayor cantidad de compartimentos ambientales pudiendo facilitar el consumo de diversidad de MPs (Dos Santos *et al*, 2020, García *et al*, 2020, Pazos *et al*, 2017). Es importante resaltar que existen autores que cuestionan la intencionalidad sobre el consumo de los MPs (Roch *et al*, 2020). Debido a la variabilidad del hábito omnívoro es posible que los individuos ingieran MPs pasivamente al forrajear por alimento, o que sean ingeridos junto con sus presas, por lo que podrían ser más susceptibles a la ingesta de MPs (Phillips & Bonner 2015, Mizraji *et al*, 2017, Galloway *et al*, 2017 Roch *et al*, 2020).

En este sentido, el análisis de los hábitos tróficos no mostró diferencias significativas entre ambos usos de suelo. Aun así, resulta interesante considerando que las especies pelágicas presentaron el mayor consumo promedio de MPs a diferencia de lo que se había considerado en la hipótesis. Son escasas las investigaciones que consideran el hábito trófico al analizar el consumo de MPs, pero existen evidencias a nivel marino de qué especies bentónicas presentan un mayor consumo de MPs, aunque se hipotetiza que a grandes profundidades estas tendencias podrían cambiar (Murphy et al, 2017). Dado que la mayoría de los MPs encontrados corresponden a fibras y por la gran movilidad del agua en los ríos, es posible que las mismas tiendan a no depositarse en el fondo de los arroyos y permanezcan en la columna de agua, siendo más disponibles para especies con hábitos bento-pelágicos o pelágicos. Por otra parte, es esperable que plásticos de mayor densidad sean los que decanten en los sedimentos por lo que podrían ser una vía posible de ingreso para los peces bentónicos.

Cuando consideramos el consumo de MPs respecto al peso de los individuos vemos que son las especies de menor peso (*C. decemmaculatus* y *P. caudiamatus*) las que tienen los índices más altos de incidencia de MPs, respaldando nuevamente la idea de que son estas especies las más afectadas por el consumo de MPs, aunque no muestran los promedios más altos de consumo a nivel de individuos (Hu *et al*, 2018).

Considerando el caso de estudio de *C. decemmaculatus*, no presentó diferencias significativas en su consumo de MPs en los sitios Ganaderos con respecto a los Urbanos (incidencia del 76% y 81%, respectivamente), por lo que esta especie omnívora de pequeño tamaño estaría afectada independiente del uso del suelo. Esta especie al igual que la mayoría mostró una mayor incidencia de fibras con respecto a fragmentos, si bien no contamos con información de la oferta en el ambiente las fibras serían más fáciles de consumir al poseer solo una dimensión dominante (Roch *et al*, 2020).

Conclusiones y perspectivas

En este trabajo se aborda por primera vez la incidencia del consumo de microplásticos (MPs) en comunidades de peces de arroyos de nuestro país, generando una primera base de información relativa al tema para 29 especies de peces. El análisis del contenido estomacal es utilizado ampliamente hoy en día para la evaluación de consumo de MPs y se pudo llevar adelante con éxito y una mínima contaminación. La técnica seleccionada y puesta a punto en el laboratorio nos permitió realizar un análisis satisfactorio, pudiendo recuperar e identificar microplásticos de los contenidos estomacales de 189 peces de diversas especies, contabilizando un total de 373 MPs.

A partir de la hipótesis planteada en este trabajo podemos concluir que los usos de suelo tienen incidencia sobre el consumo de MPs por parte de las comunidades de peces de arroyos del Uruguay. La mayor cantidad de individuos que presentaron MPs y la mayor cantidad de MPs por gramo corresponden a los arroyos Urbanos, indicando un mayor impacto de la contaminación por plástico en estos cursos de agua, lo que es consistente además con la bibliografía analizada. Este trabajo propone además una nueva forma de cuantificar y relativizar la incidencia en MPs, tanto para hacer estimaciones de densidad a nivel comunitario como para analizar el consumo con respecto al número de individuos y la biomasa de los mismos. Comenzar a utilizar este tipo de estimaciones permitiría unificar los datos y hacer comparaciones de comunidades a nivel global, estimando las cargas de MPs y también entender la ingesta que se da por los individuos en estos sistemas, tanto a nivel trófico como de especie. Comprender estas dinámicas a nivel de pequeños arroyos ayudaría a estimar la carga de MPs circulando y entrando desde las cuencas, que potencialmente podrían llegar a los estuarios y finalmente a los océanos.

Es necesario continuar estudiando la implicancia de los hábitos tróficos con respecto al consumo diferencial de MPs, sobre todo en arroyos donde las fuentes de alimentación son más variables y los individuos pueden cambiar sus estrategias a lo largo del año. Llevar adelante trabajos similares, pero en base estacional, podría aportar significativamente en este sentido.

Por otra parte, resulta interesante analizar cómo otros tipos de usos de suelo asociados a los arroyos, pueden afectar la incidencia en el consumo de MPs por parte de las comunidades de peces, e incluso modular la disponibilidad de otras formas y colores de MPs. Entender estas diferencias podría ayudar a tomar medidas a futuro para evitar o al menos disminuir el ingreso de estos residuos a los cursos de agua.

El problema de los MPs es de gran interés y preocupación a nivel mundial, por lo cual es preciso continuar profundizando el entendimiento de la relación que tienen estos residuos con la biota, y en especial en el conocimiento de estas interacciones en aguas continentales, que han sido relegadas hasta el momento frente a los estudios marinos.

Anexo 1.

Tabla 1. Se presentan las especies analizadas, el peso promedio (calculado a partir del peso de los individuos analizados), su hábito trófico (Detritívoro, Omnívoro, Invertívoro o Piscívoro), el promedio de microplásticos (MPs) por individuo para la especie, y el desvío estándar.

Especie	Peso promedio	Hábito trófico	Hábito alimenticio	MP/ ind	Desvío Estandar
Gymnogeophagus mekinos	7,24	Omnivoro	Bentopelagico	0,31	0,48
Australoheros scitulus	16,30	Invertivoro	Bentopelagico	0,40	0,55
Pseudocorynopoma doriae	1,22	Invertivoro	Pelágico	0,40	0,55
Heptapterus mustelinus	12,27	Invertivoro	Bentónico	0,42	0,67
Australoheros facetus	17,03	Invertivoro	Bentopelagico	0,43	0,79
Hoplias aff. malabaricus	3,27	Piscivoro	Bentopelagico	0,50	0,55
Oligosarcus jenynsii	8,03	Invertivoro	Pelágico	0,50	0,71
Steindachnerina biornata	23,48	Detritivoro	Bentopelagico	0,63	0,74
Charax stenopterus	4,28	Invertivoro	Pelágico	0,67	0,52
Hisonotus nigricauda	0,70	Detritivoro	Bentónico	0,67	0,58
Ectrepopterus uruguayensis	1,88	Invertivoro	Pelágico	0,80	0,79
Phalloceros caudimaculatus	0,44	Omnivoro	Bentopelagico	0,80	1,30
Gymnogeophagus terrapurpura	8,44	Omnivoro	Bentopelagico	0,94	0,77
Ancistrus taunayi	16,20	Detritivoro	Bentónico	1,00	0
Hyphessobrycon meridionalis	2,19	Omnivoro	Pelágico	1,00	1,10
Characidium rachovii	0,85	Invertivoro	Bentopelagico	1,05	1,40
Rineloricaria sp.	2,77	Detritivoro	Bentónico	1,07	1,14
Corydoras paleatus	3,92	Omnivoro	Bentónico	1,08	1,12
Cnesterodon decemmaculatus	0,37	Omnivoro	Bentopelagico	1,21	1,06
Bryconamericus iheringii	4,85	Omnivoro	Bentopelagico	1,27	1,19
Otocinclus arnoldi	1,27	Detritivoro	Bentónico	1,43	1,62
Synbranchus marmoratus	18,87	Invertivoro	Bentónico	1,86	1,07
Crenicichla scottii	8,00	Invertivoro	Bentopelagico	2,00	4,32
Jenynsia lineata	0,65	Omnivoro	Bentopelagico	2,00	1,41
Cheirodon interruptus	1,97	Omnivoro	Pelágico	2,28	1,99
Rhamdia aff. quelen	10,77	Omnivoro	Bentónico	2,33	2,08
Astyanax fasciatus	3,76	Omnivoro	Pelágico	2,40	2,41
Hypostomus commersoni	23,48	Detritivoro	Bentónico	2,40	1,67
Gymnotus omarorum	1,00	Invertivoro	Pelágico	4,00	0

Bibliografía:

Allan, D.J. & Castillo, M.M. 2007. Stream Ecology: structure and function of running waters. Second edition. Springer.

Allen, S., Allen, D., Phoenix, V.R., Le Roux, G., Durántez Jiménez, P., Simonneau, A., Binet, S. & Galop, D. 2019. Atmospheric transport and deposition of microplastics in a remote mountain catchment. Nature Geoscience, 12: 339-344.

Andrade, M. C., Winemiller, K. O., Barbosa, P. S., Fortunati, A., Chelazzi, D., Cincinelli, A., & Giarrizzo, T. 2019. First account of plastic pollution impacting freshwater fishes in the Amazon: ingestion of plastic debris by piranhas and other serrasalmids with diverse feeding habits. Environmental Pollution, 244, 766–773.

Azevedo-Santos, V.M., Geslaine, R.L., Gonçalves, P., Andrade, M., Lima, F. & Pelicice, F.M. 2019. Plastic ingestion by fish: A global assessment. Environmental Pollution, 255: 112994.

Barletta, M., Lima, A.R.A. & Costa, M.F. 2019. Distribution sources and consequences of nutrients, persistent organic pollutants, metals and microplastics in South American estuaries. Science of the Total Environment, 651: 1199-1218.

Bergmann, M., Gutow, L. & Klages, M. 2015. Marine Anthropogenic Litter.

Bessa, F., Barría, P., Neto, J.M., Farias, J.P.G.L., Otero, V., Sobral, P. & Marques, J.C. 2018. Occurrence of microplastics in commercial fish from a natural estuarine environment. Marine Pollution Bulletin. 128: 575-584.

Budimir, S., Setälä, O. & Lehtiniemi, M. 2018. Effective and easy to use extraction method shows low numbers of microplastics in offshore planktivorous fish from the northern Baltic Sea. Marine Pollution Bulletin. 127: 586-592.

Burgues, M.F., Lenzi, J., Machín, E., Genta, L. & Teixeira de Mello, F. 2020. Temporal Variation of Kelp Gull's (*Larus dominicanus*) fiet on a coastal island of the Rio de la Plata estuary, Uruguay: Refuse as an alternative food source. Waterbirds. DOI: 10.1675/063.043.0107.

Carpenter, E.J: & Smith, K.L. 1972. Plastics on the Sargasso Sea Surface. Science. 175: 1240-1241.

Chang, M. 2015. Reducing microplastics from facial exfoliating cleansers in wastewater through treatment versus consumer product decisions. Marine pollution Bulletin. 101: 330-333.

Dehaut, A., Cassone, A.L., Frére, L., Hermabessiere, L., Himber, C., Rinnert, E., Riviére, G., Lambert, C., Soudant, P., Huvet, A., Duflos, G. & Paul-Pnt, I. 2016. Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization. Environmental Pollution, 215: 223-233.

Derraik. J.G.B 2002. The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. Marine Pollution Bulletin. 44: 842-852.

Dris, R., Imhof, H., Sanchez, W., Gasperi, J., Galgani, F., Tassin, B. & Laforsch, C. 2015. Beyond the ocean: contamination of freshwater ecosystems with (micro-) plastic particles. Environmental Chemistry. 12: 539-550.

Dris, R., Gasperi, J., Rocher, V., Saad, M., Renault, N. & Tassin, B. 2015. Microplastic contamination in an urban area: a case study in Greater Paris. Environmental Chemistry. 12: 592 - 599.

Dos Santos, T., Bastian, R., Felden, J., Rauber, A.M., Reynalte-Tataje, D.A. & Teixeira de Mello, F. 2020. First record of microplastics in two freshwater fish species (*Iheringhthys labrosus* and *Astyanax lacustris*) from the middle section of the Uruguay River, Brazil. Acta Limnologica Brasiliensia, 32.

Duis, K. & Coors, A. 2016. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), date and effects. Environmental Sciences Europe. 28: 1-25.

Eerkes-Medrano, D., Thompson, R.C. & Aldridge, D. C. 2015. Microplastics in freshwater systems: A review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs. Water research. 75: 63-82.

Farrell, P. & Nelson, K. 2013. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). Environmental Pollution. 177:1-3.

Fischer, E. 2019. Final report: Distribution of microplastics in marine species of Wadden Sea along the coastline of Schleswig-Holstein, Germany. University of Hamburg.

Foley, C.J., Feiner, Z.S., Malinich, T.D. & Höök T.O. 2018. A meta-analysis of the effects of exposure to microplastics on fish and aquatic invertebrates. Science of the Total Environment 631-632.

Galloway, T. S., Cole, M & Lewis, C. 2017. Interactions of microplastic debris throughout the marine ecosystem. Nature, ecology & evolution. 1: 0116.

Garcia, T.D., Cardozo, A.L.P., Quirino, B.A., Yofukuji, K.Y., Ganassin, M., dos Santos, N. & Fugi, R. 2020. Ingestion of microplastic by fish of different feeding habits in urbanized and non-urbanized streams in Southern Brazil. Water air soil pollut, Springer, 231 : 434.

GESAMP (2019). Guidelines or the monitoring and assessment of plastic litter and microplastics in the ocean (Kershaw P.J., Turra A. and Galgani F. editors), (IMO/FAO/UNESCO-IOC/UNIDO/WMO/IAEA/UN/UNEP/UNDP/ISA Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection). Rep. Stud. GESAMP No. 99, 130p.

Goldstein, M.C., Rosenberg, M. & Cheng, L. 2012. Increased oceanic microplastic debris enhances oviposition in an endemic pelagic insect. Biology letters. 8: 817-820.

Güven, O., Gökdağ, K., Jovanović, B. & Kideyş, A.E. 2017. Microplastic litter composition of the Turkish territorial waters of the Mediterranean Sea, and its occurrence in

the gastrointestinal tract of fish, Environmental Pollution, http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.025.

Hammer, Ø., 2019. PAST: Paleontological Statistics, Version 3.25, Reference manual. Natural History Museum, University of Oslo.

Hartmann, N.B., Hüffer, T., Thompson, R.C., Hassellöv, M., Verschoor, A., Daugaard, A.E., Rist, S., Karlsson, T., Brennholt, N., Cole, M., Herrling, M.P., Hess, M.C., Ivelva, N.P., Lusher, A.L. & Wagner, M. 2019. Are we speaking the same language? Recommendations for a definition and categorization framework for plastic debris. Environ, Sci. Technol. 2019, 53, 1039-1047.

Herrera, A., Ŝtindlová, A., Martínez, I., Rapp, J., Romero-Kutzner, V., Samper, M.D., Montoto, T., Aguiar-González, B., Paclard, T. & Gómez, M. 2019. Microplastic ingestion by Atlantic chub mackerel (*Scomber colias*) in the Canary Islands coast. Marine Pollution Bulletin. 139:127-135.

Hidalgo-Ruiz, V., Gutow, L., Thompson, R.C. & Thiel, M. 2012. Microplastics in the Marine Environment: A review of the Methods Used for Identification and Quantification. Environmental Science & Technology. 46: 3060-3075.

Horton, A.A. & Dixon, S.J. 2017. Microplastics: an introduction to environmental transport processes. WIREs Water, 1268.

Hu, L., Chernick, M., Hinton, D.E. & Shi, H. 2018. Microplastics in small waterbodies and tadpoles from Yangtze River Delta, China. Environmental Science & Technology, 52 (15): 8885-8893.

Jambeck, J.R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T.R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R. & Law, K.L. 2015. Plastic waste inputs from land into the ocean. Science, Marine Pollution, 347, 768-771.

Jovanović, B. 2017. Ingestion of microplastics by fish and it's potential consequences from a physical perspective. Integrated environmental assessment and management. 13:3, 510-515.

Jung, M.R., Horgen, F.D., Orski, S. V., Rodriguez, V., Beers, K.L., Balazs, G.H., Jones, T.T., Work, T.M., Brignac, K.C., Royer, S.J., Hyrenbach, K.D., Jensen, B.A. & Lynch, J.M. 2018. Validation of ATR FT- IR to identify polymers of plastic marine debris, including those ingested by marine organisms. Marine Pollution Bulletin. 127: 704-716

Lenzi, J., Burgues, M.F., Carrizo, D., Machín, E. & Teixeira- de Mello, F. 2016. Plastic ingestion by a generalist seabird on the coast of Uruguay. Marine Pollution Bulletin. 107: 71-76.

Lozoya, J.P., Teixeira de Mello, F., Carrizo, D., Weinstein, F. Olivera, Y, Cedrés, F., Pereira, M & Fossati, M. 2016. Plastic and microplastics on recreational beaches in Punta del Este (Uruguay): Unseen critical residents?. Environmental Pollution. 218: 913-941.

Lusher. A., Welden, N.A. & Cole, M. 2016. Sampling, isolating and identifying microplastics ingested by fish and invertebrates. Analytical Methods, 9, 1346.

Lusher, A., Holloman, P., & Mendoza-Hill, J. (Ed). 2017. Microplastics in fisheries and aquaculture: Status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, UN). Roma, 2017.

Mason, S.A., Daily, J., Aleid, G., Ricotta, R., Smith, M., Donnelly, K., Knauff, R., Edwards, W. & Hoffman, M.J. 2020. High levels of pelagic plastic pollution within the surface waters of Lakes Erie and Ontario. Journal of Great Lakes Research, 2 : 277- 288.

Mizraji, R., Ahrendt, C., Perez-Venegas, D., Vargas, J., Pulgar, J., Aldana, M., Ojeda, F.P., Duarte, C. & Galbán-Malagón, C. 2017. Is the feeding type related with the content of microplastics in intertidal fish gut? Marine Pollution Bulletin, 1-2: 498-500.

Murphy, F., Russell, M., Ciaran, E. & Quinn, B. (2017). The uptake of macroplastic & microplastic by demersal & pelagic fish in the Northeast Atlantic around Scotland. Marine Pollution Bulletin. 122: 353- 359.

Organización para las Naciones Unidas, Medio Ambiente. (2018). El estado de los plásticos: perspectiva del día mundial del medio ambiente 2018.

Pazos, R.S., Maiztegui, T., Colautti, D.C. & Paracampo, A.H. 2017. Microplastics in gut contents of coastal freshwater fish from Río de la Plata estuary. Marine Pollution Bulletin.

Pedà, C., Caccamo, L., Fossi, M.C., Gai, F., Andaloro, F., Genovese, L., Perdichizzi, A., Romeo, T. & Marcchiolo, G. 2016. Intestinal alterations in European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) exposed to microplastics: Preliminary results. Environmental pollution. 212: 251-256.

Phillips, M.B. & Bonner, T.H. 2015. Occurrence and amount of microplastic ingested by fishes in watersheds of the Gulf of Mexico. Marine Pollution Bulletin. http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.08.042,

Roch, S., Friedrich, C. & Brinker, A. 2020. Uptake routes of microplastics in fishes: practical and theoretical approaches to test existing theories. Scientific Reports, 10:3896.

Rochman, C.M., Hoh, E., Kurobe, T. & Teh, S.J. 2013. Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. Scientific reports. 3: 3263.

Sá, L.C., Oliveira, M., Ribeiro, F., Lopes Rocha, T. & Futter, M.N. 2018. Studies of the effects of microplastics on aquatic organisms: What do we know and where should we focus our efforts in the future?. Science of the Total Environment. 645: 1029-1039.

Sierra, I., Rodríguez Chialanza, M., Faccio, R., Carrizo, D., Fornaro, L. Pérez-Parada, A. 2019. Identification of microplastics in wastewater samples by means of polarized light optical microscopy. Environmental Science and Pollution Research. DOI: https://doi.org/10.1007/s11356-019-07011-y

Silva-Cavalcanti, J.S., Silva, J.D., Jose de França, E., Barbosa de Araújo, M.C & Gusmão, F. 2016. Microplastics ingestion by common tropical freshwater fishing resource. Environmental Pollution.

Teixeira de Mello, F., González-Bergonzoni, I. & Loureiro, M. 2011. Peces de agua dulce del Uruguay. PPR-MGAP. 188 pp

Teixeira-de Mello, F., Kristensen, E.A., Meerhoff, M., González- Bergonzoni, I., Baattrup-Pedersen, A., Iglesias, C., Kristensen, P.B., Mazzeo, N. & Jeppesen, E. 2014. Monitoring fish communities in wadeable lowland streams: comparing the efficiency of electrofishing methods at contrasting fish assemblages. Environmental Monitoring and Assessment. 186: 1665-1677.

Tosetto, L., Williamson, J.E. & Brown, C. 2017. Trophic transfer of microplastics does not affect fish personality. Animal Behaviour, 123: 159-167.

Valderrama, J.C., 1981. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. Marine Chemistry, 10(2), pp.109–122

Wagner, M., Scherer, C., Alvarez-Muñoz, D., Brennholt, N., Bourrain, X., Buchinger, S., Fries, E., Grosbois, C., Klasmeier, J., Marti, T., Rodriguez-Mozaz, S., Urbatzka, R., Vethaak, A.D., Winther-Nielsen, M. & Reifferscheud, G. 2014. Microplastics in freshwater ecosystems: what we know and what we need to know. Environmental Sciences Europe. 26: 12.

Wagner, M. & Lambert, S. (Ed). 2018. Freshwater microplastics, emerging environmental contaminants?. The Handbook of environmental chemistry, volume 58. Springer Open.

Wang, W., Ge, J. & Yu, X. 2019. Bioavailability and toxicity of microplastics to fish species: A review. Ecotoxicology and Environmental Safety.

Wen, X., Du, C., Xu, P., Zeng, G., Huang, D., Yin, L., Tin, Q., Hu, L., Wan, J., Zhang, J., Tan, S. & Deng, R. 2018. Microplastic pollution in surface sediments of urban water areas in Changsha, China: Abundance, composition, surface textures. Marine Pollution Bulletin, 136: 414- 423.

Wetzel, R.G. & Likens, G.E. 2000. Limnological Analyses, third edition. Springer.

Wright, S.L., Ulke, J., Font, A., Chan, K.L.A. & Kelly, F.J. 2019. Atmospheric microplastic deposition in an urban environment and an evaluation of transport. Environment International. https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105411

World Economic Forum, Ellen MacArthur Foundation and McKinsey & Company, The New Plastics Economy — Rethinking the future of plastics (2016, http://www.ellenmacarthurfoundation.org/publications)

Yin, L., Wen, X., Du, C., Jiang, J., Wu, L., Zhang, Y., Hu, Z., Hu, S., Feng, Z., Zhou, Z., Long, Y. & Gu, Q. (2020). Comparison of the abundance of microplastics between rural and urban areas: A case study from East Dongting Lake. Chemosphere: 244.