

Microplásticos en la Bahía Collins (Península Fildes, Antártida) y su interacción con el zooplancton mediante un modelo experimental



Trabajo final de carrera
Licenciatura en Ciencias Biológicas
Profundización Ecología
Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Autora: **Evelyn Krojmal**

Tutora: **Dra. Gissell Lacerot**

Co-tutor: **Dr. Juan Pablo Lozoya**

2021

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	3
Plásticos en los océanos	3
Microplásticos y fauna	4
Plásticos y la Antártida	5
Objetivo general	6
Objetivos específicos	6
Hipótesis	7
MATERIALES Y MÉTODOS	7
Área de estudio	7
Objetivos I y II. Muestreo y análisis de las muestras	8
Puesta a punto de la metodología de análisis de microplásticos en muestras de agua	10
Objetivo III. Interacción con el zooplancton	11
RESULTADOS	14
1) Puesta a punto de la metodología de análisis de microplásticos	14
DISCUSIÓN	32
Metodología de análisis de microplásticos	32
Análisis de microplásticos en Bahía Collins	33
Experimento de interacción entre microplásticos y zooplancton	36
PERSPECTIVAS	39
BIBLIOGRAFÍA	39
AGRADECIMIENTOS	47

RESUMEN

La contaminación masiva por plásticos causa enorme preocupación debido a la facilidad de estos residuos para dispersarse, y a su persistencia en el medio ambiente. El sistema marino Antártico no escapa a esta problemática mundial, donde se ha detectado la presencia de macro y microplásticos en aguas superficiales y zonas marino-costeras, lo que puede resultar en una amenaza significativa para estos ecosistemas y su frágil biota. Sin embargo, la magnitud de este problema en la Antártica está lejos de ser comprendida, y por ello la generación de información de base ha sido identificada como una prioridad. Este estudio busca evaluar la presencia de microplásticos (MPs) en aguas superficiales de la Bahía Collins (Isla Rey Jorge, 62°11'4''S y 58°51'7''O), y el posible efecto de estos residuos sobre los organismos del zooplancton. Para ello se tomaron muestras de agua en tres zonas de la Bahía, frente al Glaciar Collins, a la Base Científica Antártica Artigas, y en la Caleta Norma (bahía contigua), una vez por año entre 2016 y 2018. Se analizó el tamaño, color, forma, y densidad de MPs bajo microscopio con filtro de luz polarizada. Se encontró un total de 11708 MPs en las 19 muestras, considerando únicamente 6452 de ellas para el cálculo de densidades (los mayores a 220 μm). La densidad de partículas plásticas en la Bahía Collins osciló en un rango entre 0,33 y 24,64 items/ m^3 . El promedio de densidades totales en cada año fue de $13,6 \pm 8,9$ items/ m^3 , $8,6 \pm 4,9$ items/ m^3 y $3,2 \pm 6,0$ items/ m^3 respectivamente para 2016, 2017 y 2018, lo cual representa una diferencia de al menos un orden de magnitud mayor respecto a otros estudios en la península antártica. Se encontraron diferencias significativas que indican menores densidades en 2018, en comparación con 2016. Nuevos muestreos son necesarios para demostrar si esta disminución se mantiene en el tiempo. No se encontraron diferencias espaciales en las densidades de MPs. Las fibras fueron el tipo de MP que presentó mayores densidades en todos los años y zonas. En general los porcentajes de fibras y fragmentos para cada zona y año tuvieron una relación de aproximadamente 90% y 10%, respectivamente. Los tamaños de las fibras encontradas oscilaron entre 0,001 y 4,92 mm mientras que los fragmentos lo hicieron entre 0,039 y 3,12 mm. El tamaño predominante de MPs fue el rango más pequeño (0,001-220 μm) el cual no fue considerado para el cálculo de densidades en este estudio, ya que poseían un tamaño por debajo al de las redes que se usaron. Aunque los controles indicaron contaminación nula durante el análisis de laboratorio, esto puede deberse a la agregación con otros elementos, ya sean MPs o materia orgánica, o la contaminación durante el muestreo o procesamiento. Experimentalmente se analizó la interacción entre MPs y *Daphnia sp.* Los MPs tuvieron formas irregulares y tamaños de 70 a 500 μm y los tratamientos incluyeron dos concentraciones (0,01 y 0,001 g/l), tanto en combinación con fitoplancton como en ausencia y un control con únicamente fitoplancton. En estos experimentos fue posible detectar ingestión de MPs por parte de este cladóceros y mortalidad a altas concentraciones (0,01 g/l). Se observaron diferencias significativas en las tasas de aclarado del fitoplancton para el tratamiento que combinó fitoplancton con MPs a altas concentraciones. Si bien las tasas de aclarado para MPs fueron mayores en los tratamientos solo con MPs, no se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos. Este trabajo aporta información de base sobre la problemática de los residuos plásticos en zonas remotas y contribuye directamente a los objetivos y desafíos actuales del Sistema del Tratado Antártico.

Palabras claves: Microplásticos, Antártida, Zooplancton, Luz polarizada, Bahía Collins, Bahía Maxwell

INTRODUCCIÓN

Plásticos en los océanos

“Plástico” es el nombre genérico para todo material sintético esencialmente constituido por cadenas de polímeros orgánicos, siendo los más usados hoy en día el polietileno (PE), polipropileno (PP), cloruro de polivinilo (PVC), poliestireno (PS) y tereftalato de polietileno (PET) (Andrady & Neal, 2009). Estos materiales que surgieron hace menos de un siglo, se popularizaron no solo por su bajo costo de producción sino por presentar también características prácticas como bajo peso, durabilidad y flexibilidad (Ratzsch *et al.*, 2006). A su vez, el aumento en la producción y consumo de este material ha generado una de las problemáticas mundiales más controversiales de estos tiempos y actualmente representa entre un 60% y un 80% del total de los residuos marinos (Derraik, 2002). La presencia de estos residuos ha sido ampliamente registrada a lo largo de todos los océanos y mares por numerosos estudios (Barnes *et al.*, 2009; Ivar do Sul & Costa, 2014; Eriksen *et al.*, 2014; Elías, 2015). Esta contaminación causa enorme preocupación debido a la facilidad de estos residuos para dispersarse, y a su persistencia en el medio ambiente, pudiendo tardar décadas y hasta siglos en degradarse (Cole *et al.*, 2014). Las ciudades o zonas industrializadas aportan la mayor cantidad de materiales plásticos, siendo en su mayoría envases (Derraik, 2002).

Si bien se desconoce la cantidad exacta de residuos plásticos en mares y océanos, algunos estudios señalan que podría estimarse en más de 50 billones de fragmentos (Varnhorn, 2012; Eriksen *et al.*, 2014), y los nuevos aportes entre 4,8 y 12,7 millones de toneladas por año (Jambeck *et al.*, 2015). Sin embargo, otro estudio evidencia como el aporte anual en 2015 superó estos números, alcanzando entre 60 y 99 millones de toneladas (Lebreton & Andrady 2019). El principal motivo de esta acumulación es el creciente consumo de este material, estimado en 320 millones de toneladas por año, y que sigue en aumento con el paso de los años (Lebreton *et al.*, 2018). A su vez, este consumo está acompañado de un aumento de la producción de materiales plásticos, especialmente los denominados “de un solo uso”, los cuales tienen una deficiente gestión, y sólo un bajo porcentaje entra en la cadena de reciclaje, siendo el principal destino los vertederos a cielo abierto (Varnhorn, 2012). Desde estos vertederos, los residuos plásticos son transportados y finalmente se acumulan en mares y océanos tanto por estar ubicados cerca de vías fluviales o a través de los sistemas de drenaje (Derraik, 2002; Jambeck *et al.*, 2015; Lozoya *et al.*, 2015). Otros aportes son el resultado de actividades económicas desarrolladas directamente en el mar como la pesca, la acuicultura, y el transporte marítimo (Moore, 2008; Andrady, 2011).

Una vez que ingresan a los sistemas acuáticos, los plásticos sufren un proceso de degradación por acción física y radiación UV, que los fragmenta en partículas cada vez más pequeñas, transformándose en microplásticos (partículas menores a 5 mm; Wagner *et al.*, 2014), o incluso nanoplásticos (partículas menores a 1µm; Dawson *et al.*, 2018; revisado por Botterell *et al.*, 2018; Kershaw *et al.*, 2019). Estos microplásticos generados por la fragmentación de residuos mayores (e.g. fibras o fragmentos) se definen como *secundarios*, a diferencia de los *primarios* que son aquellos producidos industrialmente en ese rango de tamaño (<5 mm), y utilizados generalmente como materia prima de la industria del plástico (e.g. pellets). Estos residuos pueden acumular, y transferir, sustancias químicas

potencialmente tóxicas que se utilizan en su fabricación (ftalatos, ignífugos y estabilizadores UV) y contaminantes presentes en el agua que pueden adsorberse a ellos (metales pesados y PCBs) (e.g. Andrady, 2011; Lee *et al.*, 2014).

Microplásticos y fauna

En los ecosistemas acuáticos, diversos organismos (aves, mamíferos y reptiles) interactúan con los residuos plásticos pudiendo quedar atrapados por ellos (redes, líneas de pesca, flejes), ingerirlos (fragmentos, bolsas), pudiendo asfixiarse o tener diversas consecuencias negativas a nivel gástrico e intestinal (Medina & Haro, 2016).

Al igual que los macropelásticos, los micropelásticos también pueden resultar nocivos para la fauna marina. Según Vegter *et al.*, (2014) existen reportes de que al menos 170 especies de vertebrados e invertebrados han ingerido restos plásticos, incluyendo consumidores primarios. Estos últimos tienen un papel fundamental en el transporte de energía hacia niveles superiores en las redes tróficas, por lo que resultan particularmente relevantes. Para estos organismos en posiciones inferiores de la red trófica, el consumo de micropelásticos puede generar distintos impactos negativos sobre su salud, tales como una reducción de las tasas de alimentación, pérdida de reservas energéticas, estrés hepático, y reducción de la fecundidad y supervivencia (Cole *et al.*, 2015; revisado por Koelmans, 2015). Según Browne *et al.* (2008) los mejillones pueden acumular los micropelásticos durante la filtración de partículas alimenticias, mientras que Setälä *et al.* (2014) indican que los crustáceos también ingieren estos residuos, pudiendo transferirlos a través de la red trófica. Según Cole *et al.* (2015) en el copépodo *Calanus helgolandicus* la ingesta de estos plásticos causaría una disminución en su rendimiento reproductivo. En el cladóceros *Daphnia magna*, se ha demostrado un efecto de inmovilización por exposiciones a altas concentraciones de PE (12.5 - 400 mg/L) en cortos plazos (96 hs) (Rehse *et al.*, 2016), y un aumento de su mortalidad cuando se la expone a fibras de PET por 48 hs a concentraciones 12.5 - 100 mg/l sin previa alimentación con algas (Jemec *et al.*, 2016). La evidencia en organismos antárticos aún es escasa, aunque se sabe que el krill *Euphausia superba* ingiere micropelásticos y durante su alimentación los degrada a fragmentos más pequeños (Dawson *et al.*, 2018).

La ingestión de micropelásticos por parte de los consumidores primarios (e.g. zooplancton) permitiría el ingreso de los plásticos a las redes tróficas acuáticas, pudiendo provocar procesos de bioacumulación y biomagnificación a niveles tróficos superiores (Farrell & Nelson, 2013). Esto resulta de especial importancia en la trama trófica acuática en el caso del zooplancton (e.g. copépodos, cladóceros) ya que representan la fuente de alimento principal para muchos consumidores secundarios (e.g. peces) y poseen una gran probabilidad de ingestión de estos plásticos al ser en su gran mayoría filtradores (Botterell *et al.*, 2018). La biodisponibilidad de estos plásticos para los organismos dependerá de su abundancia, tamaño, estado de degradación física y química, densidad, color, agregación y forma (revisado por Botterell *et al.*, 2018; Vroom *et al.*, 2017).

La gran mayoría de los estudios sobre los efectos de plásticos en el zooplancton tienen una aproximación experimental y suelen utilizar microbeads, partículas esféricas comerciales utilizadas en la calibración de equipamiento científico y en productos como cremas exfoliantes y dentífricos, que pueden afectar la dinámica natural de alimentación en estos organismos (Gorokhova *et al.*, 2017). Esto se debe a que las microbeads poseen formas más regulares y cargas más negativas que las partículas alimenticias que se encuentran naturalmente (e.g. fitoplancton), lo cual afecta positivamente la selectividad del organismo, ingiriendo más partículas, y en consecuencia sobreestimando su tasa de ingesta (Taghon, 1982). Cabe destacar además, que en los ecosistemas acuáticos los micropelásticos se recubren con

diversas sustancias orgánicas (carbohidratos o péptidos), y son colonizados por diversos microorganismos (bacterias, algas, hongos y protistas), que interactúan dentro de complejos denominados biopelículas, que son en sí misma una fuente energética para los organismos que los consumen (Gorokhova *et al.*, 2017). Estas comunidades microbianas diversas formadas por heterótrofos, autótrofos, depredadores y simbioses que viven sobre microplásticos se denomina plastisfera, y pueden presentar una mayor proporción de organismos patógenos oportunistas (Zettler *et al.*, 2013). Por ende, los microplásticos hallados en el ambiente podrían diferenciarse de los microbeads en las consecuencias que generan. A su vez, muchos estudios experimentales suelen utilizar concentraciones muy altas de microplásticos, con poca relación con las abundancias ambientales, por lo que resulta necesario determinar la relación dosis-respuesta entre la concentración de microplásticos y la absorción de alimentos (Cole *et al.*, 2013).

Plásticos y la Antártida

La contaminación por plásticos afecta con mayor intensidad a las zonas urbanas, sin embargo, estudios demuestran que esta contaminación se extiende también a ambientes remotos (Barnes *et al.*, 2009; Ivar do Sul *et al.*, 2009; Barnes *et al.*, 2010, Ivar do Sul *et al.*, 2011). El sistema marino Antártico, el cual es un lugar escasamente habitado, remoto, y rodeado por la corriente circumpolar antártica (CCA) que genera barreras de dispersión biológica (Waller *et al.*, 2017), no escapa a la problemática mundial de los plásticos, tanto macroplásticos como microplásticos, siendo los trabajos de Barnes *et al.* (2010), Lacerda *et al.* (2019), Suaria *et al.* (2020) evidencias de la presencia de macroplásticos, y los de Cincinelli *et al.* (2017), Munari *et al.* (2017), Waller *et al.* (2017), Isobe *et al.* (2017) y Lacerda *et al.* (2019) claros antecedentes de la presencia de microplásticos en la región. Un trabajo reciente incluso ha encontrado microplásticos en un área antártica especialmente protegida (González-Pleiter *et al.*, 2020)

La isla Rey Jorge junto con las demás islas (Islas Shetland del Sur, Antártida) es el área de la Antártida con mayor población, ya sea permanente o esporádica (Pertierra *et al.*, 2017). Parte de esto se debe al exclusivo turismo de cruceros y vuelos privados que sobrepasan las 40,000 personas en toda la Península Antártica durante el verano, y también a la presencia de 76 estaciones de investigación en todo el continente las cuales albergan un total de más de 1.100 personas en invierno y más de 4.000 en verano según el Consejo de administradores de programas antárticos nacionales (COMNAP, Retamales & Rogan-Finnemore 2011). Tanto las actividades turísticas como científicas han causado impactos ambientales que afectan el aire, el agua (marina y dulce), y la calidad del suelo incluyendo nieve y hielo, debido al movimiento de personas en el medio terrestre y marino, la gestión y eliminación de residuos y aguas residuales, y la contaminación por combustible (Tort *et al.*, 2017). Particularmente en la Base Científica Antártica Artigas (BCAA, zona de este estudio), se han evidenciado virus entéricos y esteroides fecales asociados a las aguas residuales domésticas, y contaminación por hidrocarburos vinculada al combustible diesel, combustión de residuos orgánicos y metales pesados (Tort *et al.*, 2017; Rodríguez *et al.*, 2018; Bueno *et al.*, 2018).

En términos de legislación este continente se rige por el Tratado Antártico desde 1961, en el cual se proclama al mismo como un lugar pacífico dedicado a la investigación entre todos los países (Waller *et al.*, 2017). A su vez, en 1991 se firmó el Protocolo de Madrid el cual es complementario al Tratado Antártico y en términos generales prohíbe actividades militares, explosiones nucleares, eliminación de desechos radiactivos y actividades mineras; mientras que actividades como el turismo y la pesca si bien no están prohibidas ni promocionadas se rigen también por este protocolo. El mismo posee 4 anexos adoptados en 1991, junto con el

Protocolo (entraron en vigor en 1998): sobre evaluación del impacto sobre el medio ambiente (I), sobre conservación de la fauna y flora antárticas (II), sobre eliminación y tratamiento de residuos (III) y sobre prevención de la contaminación marina (IV). Luego, en 2002 entró en vigor el anexo V sobre protección y gestión de áreas protegidas, y más tarde (2005) se adoptó el anexo VI sobre la responsabilidad emanada de emergencias ambientales (Protocolo de Madrid, 1991).

A partir de 1998 el Tratado Antártico incorporó un protocolo para la eliminación y gestión de los residuos (incluyendo macroplásticos), como forma de prevenir la contaminación marina en estas zonas. Sin embargo, no se obliga al tratamiento de aguas residuales que son liberadas desde las bases científicas, aunque sí se obliga a realizar evaluaciones de impacto ambiental para toda actividad realizada dentro del área de competencia (Waller *et al.*, 2017). A su vez, existe la Comisión para la Conservación de los Recursos Vivos Marinos Antárticos (CCAMLR) que desde 1984 ha estado intentando controlar y reducir la problemática de los residuos marinos, específicamente el impacto de pesquerías en el Área de la Convención (Barboza *et al.*, 2019). Por otro lado, los microplásticos no han sido considerados para este tratado hasta la cuadragésima segunda reunión consultiva del Tratado Antártico que ocurrió en Julio de 2019, aunque en 2018 se generó un Action Group de especialistas del Comité Científico de Investigación Antártica (SCAR) que ya incluía esta problemática. En ésta, la Coalición del Océano Austral (ASOC) decretó la importancia de explorar métodos para reducir la contaminación por microplásticos (Kennicutt *et al.*, 2019).

Las aguas antárticas se caracterizan por una alta biodiversidad de organismos que se alimentan de partículas en suspensión, como el plancton (Cincinelli *et al.*, 2017). Por lo tanto, estas aguas poseen gran cantidad de organismos que potencialmente pueden ingerir microplásticos. Si bien resulta fundamental conocer las posibles consecuencias de la presencia de plásticos sobre estos organismos, son muy escasos los trabajos y la información generada en estos ambientes marinos, especialmente aquellos marino-costeros. Ya se ha reportado la presencia de plásticos en el hielo marino (Kelly *et al.*, 2020), hielo en sistemas límnicos (González-Pleiter *et al.*, 2020), sedimentos marinos (Munari *et al.*, 2017; Reed *et al.*, 2018), en organismos como invertebrados marinos bentónicos (Sfriso *et al.*, 2020), en pingüinos (Bessa *et al.*, 2019) y en zooplancton de aguas oceánicas (Absher *et al.*, 2019), en aguas superficiales marinas u oceánicas (Cincinelli *et al.*, 2017; Lacerda *et al.*, 2019; Suaria *et al.*, 2020) y en playas (Anfuso *et al.*, 2020). Sin embargo, hasta la fecha no se reportaron estudios de plásticos en aguas superficiales de zonas marino-costeras antárticas.

Objetivo general

Evaluar la presencia de microplásticos en muestras de agua superficial de la zona costera de Península Fildes (Antártida), y sus efectos sobre organismos del zooplancton utilizando un organismo modelo.

Objetivos específicos

(I) Revisar y poner a punto la metodología de análisis de microplásticos en muestras de aguas marino-costeras.

(II) Analizar el tipo, abundancia, tamaño, y distribución espacial y temporal de microplásticos en muestras de agua superficial de la Bahía Collins en la Península Fildes (Isla Rey Jorge).

(III) Evaluar si la presencia y concentración de microplásticos tiene efectos sobre el consumo y la sobrevivencia de *Daphnia sp.*, solo y en combinación con su dieta natural.

Hipótesis

Las aguas de la Bahía Collins tendrán presencia de microplásticos en densidades bajas y similares a otros estudios realizados en la región (Océano Austral Occidental y Península Antártica), particularmente otras zonas marino-costeras. Su distribución será heterogénea, con máximos frente a la zona con mayor presencia y actividad humana (BCAA). Temporalmente habrá diferencias entre 2016, 2017 y 2018, siendo mayores las abundancias hacia la actualidad debido a la acumulación de los plásticos generados año a año, influenciado por la persistencia de estos materiales no biodegradables y la tendencia al aumento de su producción a escala global.

Las tasas de filtración de *Daphnia sp.* estarán relacionadas a la concentración de microplástico a la que están sometidas, siendo mayores al aumentar dicha concentración. Debido a que *Daphnia sp.* posee un tipo de alimentación por filtración no selectiva, las tasas de aclarado no presentarán diferencias cuando sean alimentadas sólo con microplástico o en combinación con alimento natural. La sobrevivencia de los organismos será mayor para los tratamientos con dieta natural que para aquellos con microplásticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó en la Península Fildes (Isla Rey Jorge, Shetland del Sur) y específicamente en la Bahía Collins, un afluente al norte de la Bahía Maxwell (Venturini *et al.*, 2020) frente a la Base Científica Antártica Artigas (BCAA-Uruguay, 62°11'4'' Sur y 58°51'7'' Oeste) (Fig. 1). La zona de muestreo (Bahía Collins) posee una circulación estuarina de dos capas dominante durante el verano austral que se contrarresta parcialmente con las mareas, y una mayor retención de agua de deshielo durante la marea de inundación (Llanillo *et al.*, 2019). Además, se ha determinado que existe un aumento de la flotabilidad en los 80 m superiores en la bahía debido al calentamiento y la renovación de la capa superficial (Llanillo *et al.*, 2019). Esta península, junto a la Isla Ardley y otro pequeño islote adyacente, forman el extremo suroeste de la Isla Rey Jorge. La zona se caracteriza por poseer precipitaciones anuales promedio entre 600 y 700 mm siendo en su mayoría nieve, y una temperatura promedio en verano superior a 0°C. Las mareas son semidiurnas y poseen gran relevancia en la circulación de la bahía Maxwell (Pruszek, 1980). La Bahía Maxwell se conecta con las aguas oceánicas del Mar de Bellingshausen y el Mar de Weddell hacia el sur, que conecta a su vez con el Estrecho de Bransfield (Rakusa-Suszczewski, 1980). Además de la BCAA en esta península se ubican estaciones de investigación de Chile, Rusia y China (Gao *et al.*, 2021).

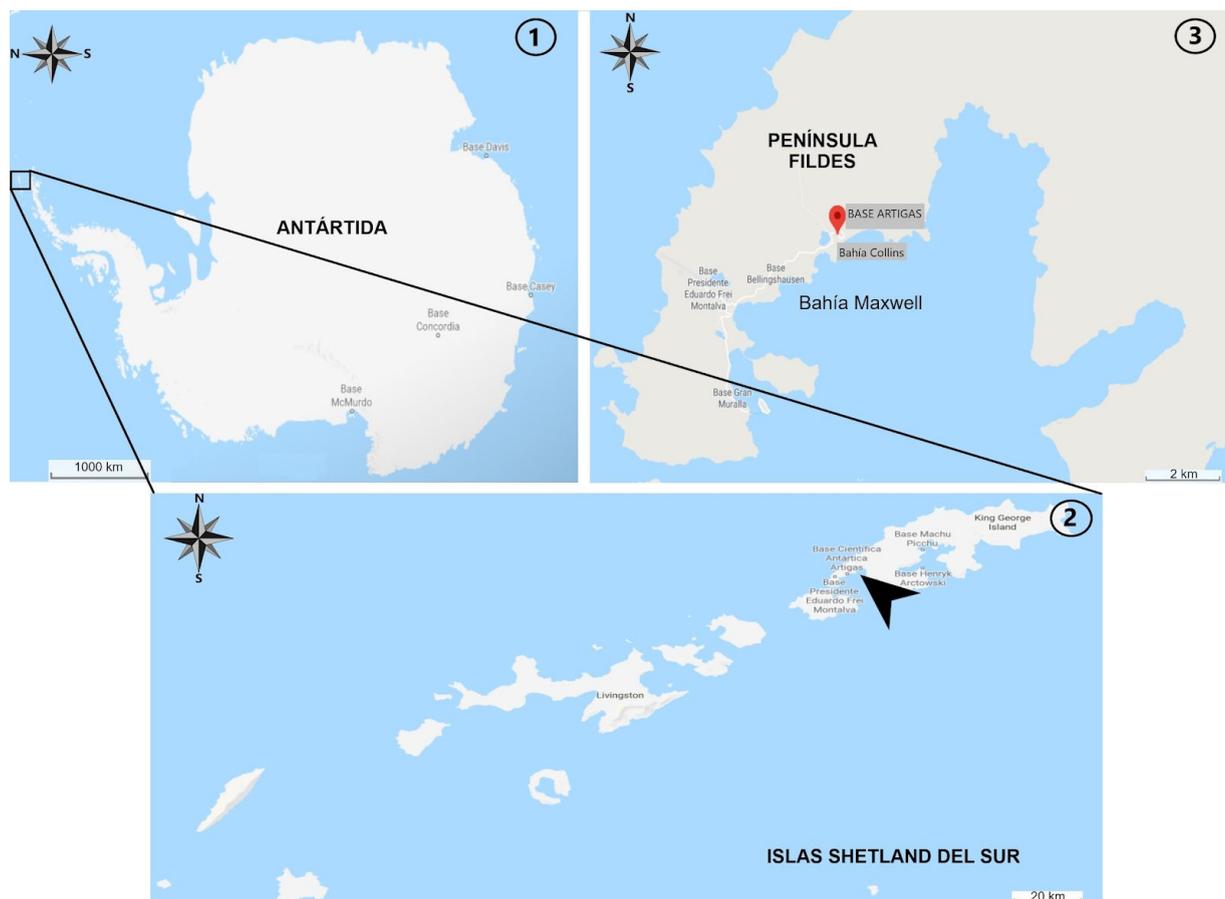


Figura 1. 1) y 2) Ubicación de la Isla Rey Jorge, en las Islas Shetland del Sur, y 3) Base Científica Antártica Artigas (BCAA) en la Bahía Collins al norte de la Bahía Maxwell (Península Fildes).

Esta tesis estuvo enmarcada en el proyecto *AntarPLAST*, el cual tiene como objetivo generar un diagnóstico integral de la contaminación por residuos de plásticos y microplásticos en zonas marino-costeras antárticas, con foco en la Península Fildes, pero ampliando el radio de estudio a otras islas de las Shetland del Sur y la Península Antártica. Para ello analiza la distribución y abundancia de estos contaminantes en distintos compartimentos ecosistémicos como costas, sedimento marino, y también su interacción con la fauna, particularmente aves y plancton. En el Verano de 2016 y 2017 los muestreos fueron realizados en el marco del proyecto "Impactos Humanos Globales sobre el Ecosistema Marino próximo a la Base Científica Antártica Artigas, Isla Rey Jorge, Antártida (IGHEMA)", del que en 2018 surge el proyecto *AntarPLAST*.

Objetivos I y II. Muestreo y análisis de las muestras

Para esta investigación la toma de muestras se realizó a lo largo de 3 zonas en la Bahía Collins, con 3 réplicas en cada una (ver abajo). La primera zona se ubicó frente al Glaciar Collins (Z_1), la segunda frente a la BCAA (Z_2) y la tercera frente a Caleta Norma o también llamada Caleta de North (Z_3) (Fig. 2). Estas zonas fueron elegidas debido a que difieren en el potencial aporte de residuos humanos, donde Z_2 es una zona con influencia directa de la BCAA, mientras que las otras dos están alejadas de esta zona y poseen poca actividad

humana. En cada zona la muestra de agua se tomó mediante arrastres superficiales con una red tipo Manta de 220 micras de malla (0,12 m² área de la boca), durante 10 minutos. El volumen filtrado por la red se estimó mediante un flujómetro colocado en su boca (Hydrobios Modelo 438110). Las muestras se colocaron en frascos previamente rotulados y fueron fijadas con formol 10%, previo a su análisis en los laboratorios de la sede Maldonado del Centro Universitario Regional del Este (CURE). Se analizaron un total de tres muestreos (Febrero 2016, Enero 2017 y Enero 2018), completando un total de 18 muestras. Las zonas difirieron en la cantidad de réplicas entre los años debido a limitaciones logísticas o climáticas durante las campañas; en 2016 se obtuvo un total de 3 réplicas por zona mientras que en 2018 únicamente 2 réplicas por zona, mientras que en 2017 no se obtuvieron réplicas.

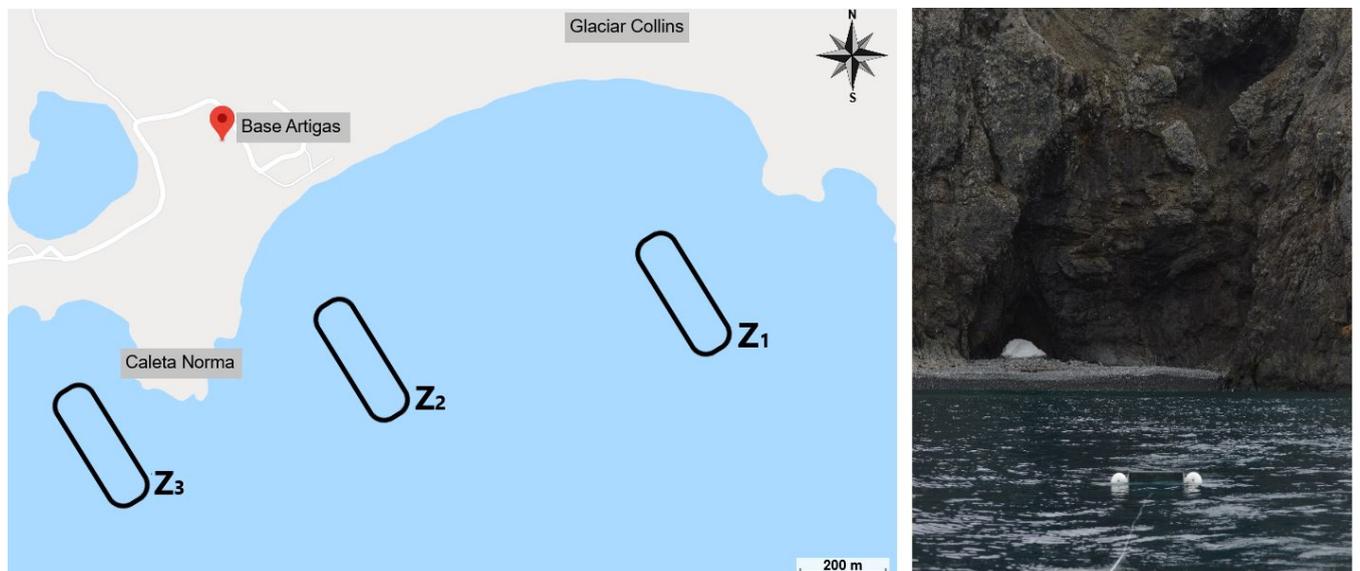


Figura 2. Mapa con la ubicación de las tres zonas de muestreo (Z_1 , Z_2 , Z_3) en la Bahía Collins. Derecha: Imagen de red tipo manta en Z_3 (Caleta Norma).

Puesta a punto de la metodología de análisis de microplásticos en muestras de agua

La puesta a punto de las técnicas para el procesamiento y análisis de muestras con microplásticos tuvo en cuenta tres aspectos críticos:

1. eliminar la materia orgánica presente en la muestra en forma efectiva, para facilitar la detección del microplástico
2. evitar la contaminación de la muestra por fibras presentes en el aire y en los materiales utilizados durante su manipulación (i.e. Song *et al.*, 2015)
3. facilitar la correcta identificación y conteo de los plásticos en relación a otras partículas presentes en la muestra (e.g. en comparación con fibras de algodón, arena, etc.).

Para los puntos 1 y 2 se realizó en primer lugar una búsqueda bibliográfica sobre metodologías de análisis de microplásticos en muestras de aguas marino-costeras que fuesen aplicables a las muestras obtenidas y acordes a sus características (sin sedimento, con poca materia orgánica). Para ello se utilizó la plataforma Google Scholar y las palabras claves “microplastics” o “microscopy polarized light” y “microplastics methodology”. En base a la bibliografía obtenida se ensayaron diferentes alternativas para poner a punto la técnica, las cuales se detallan en la sección resultados.

Para el punto 2 se tuvieron cuidados tales como el lavado de toda la superficie donde se trabajó con alcohol y revisiones regulares en microscopio de la solución KOH 10% y el agua mili-Q para detectar posible contaminación por esta vía. Las muestras estuvieron siempre cubiertas con papel de aluminio, y todas las manipulaciones fueron realizadas en una cámara de flujo laminar. Todo material usado fue de vidrio, el cual se lavó repetidas veces con abundante agua mili-Q previo a su uso, y no se utilizó papel para su secado.

Para atender el punto 3 las muestras ya procesadas fueron observadas en un microscopio óptico Nikon Eclipse 50i (type 104), con filtro de luz polarizada (Ascer, 2015), y cámara digital y con software de análisis de imagen (Micrometrics Standard Edition Premium 2000-2009). La microscopía de luz polarizada ha sido aceptada como una técnica para facilitar la identificación de microplásticos (Abbasi *et al.*, 2017, 2018, 2019; Collard *et al.*, 2017; Sierra *et al.*, 2019; von Moos *et al.*, 2012). Este instrumento posee dos polarizadores que dejan pasar únicamente la luz que vibra en un plano único (luz polarizada) la cual produce claridad u oscuridad, facilitando la identificación de materiales que extinguen la luz (birrefringentes anisotrópicos), como ser algunos minerales, colágeno, queratina, sílice, polen, y plásticos como el polietileno, polipropileno y tereftalato de polietileno (Sierra *et al.*, 2019). Como método de identificación adicional se utilizó el quemado con aguja caliente con visualización pre y post quemado de acuerdo a Lusher *et al.*, 2017 y De Witte *et al.*, 2014. En esta técnica se acerca una aguja caliente al objeto, y si se produce alguna deformación (derretimiento, agujero o marca) se lo considera plástico.

Los microplásticos encontrados en cada muestra fueron contados y medidos en base a su dimensión máxima. Además, fueron clasificados según tipo y color de acuerdo con la clasificación propuesta por Viršek *et al.* (2016) en espumas, fibras, fragmentos, pellets, gránulos y films (Fig.3).



Figura 3. Clasificación de microplásticos según Viršek *et al.*, 2016.

Se calculó el número total de microplásticos y número total de cada tipo de microplástico por metro cúbico de agua filtrada por la red, y se calcularon medias y desvíos para cada zona, cuando fue posible. Para estos cálculos se consideraron únicamente aquellos microplásticos mayores al tamaño de la malla del muestreo (220 μm). Luego se realizaron los análisis estadísticos para observar posibles diferencias entre años y zonas. Cabe destacar que solo se pudo observar la diferencia entre zonas en 2016 debido a que era el único año con tres o cuatro réplicas en cada zona. También se calculó el tamaño medio para cada tipo de plástico por año y por zona, y se realizó histograma con todos los tamaños encontrados tanto para fibras como fragmentos.

Los análisis estadísticos se ejecutaron en RStudio version 1.2.5042. Primero se corroboró la normalidad de los datos por Test de Shapiro-Wilk, y la homocedasticidad mediante Test Fligner-Killeen en casos de no normalidad, y mediante Test de Bartlett en casos de normalidad. Luego se analizaron las posibles diferencias con análisis de varianza de 1 vía (con post-hoc Test de Tukey HSD) para el caso de datos normales, mientras que para aquellos donde no se cumplió la normalidad se utilizó el Test de Kruskal-Wallis (con post-hoc Test de Dunn con corrección de Bonferroni). Los resultados fueron considerados significativos a un $p < 0.05$.

Objetivo III. Interacción con el zooplancton

Para este objetivo se utilizó una aproximación experimental, pero debido a la fecha de inicio de esta tesina, y la logística asociada a las campañas de verano en la Antártida, no fue posible realizarlo *in situ*, con organismos antárticos. Por lo tanto, se utilizó a *Daphnia sp.* como un organismo modelo. Si bien esta especie es límnic, sus hábitos tróficos (planctónico, filtrador no selectivo) permitieron su uso como modelo, comparable con otros organismos

zooplanctónicos con características tróficas similares. Su rol como consumidor primario, lo hace particularmente interesante también, ya que éstos pueden constituir la entrada de microplásticos a las tramas tróficas acuáticas (Gorokhova *et al.*, 2017). Por ejemplo, en la Antártida las salpas exhiben modos de alimentación similares, ya que también son organismos planctónicos filtradores no selectivos (Fiala-Medioni, 1978; Alldredge & Madin, 1982). Las salpas son además organismos clave en las comunidades planctónicas, y cada vez más abundantes (Plum *et al.*, 2020). Para el experimento se utilizó un cultivo monoclonal de *Daphnia sp.* y un cultivo de *Cryptomonas sp.* del laboratorio de cultivos de la sede Maldonado del CURE. El experimento contó con 5 tratamientos donde se expuso a *Daphnia sp.* a: concentraciones de microplásticos de 0,001 g/l (A), concentraciones de microplásticos de 0,01 g/l (B), a una mezcla de microplásticos y fitoplancton en iguales proporciones para cada concentración (C) y (D), y un tratamiento solo con fitoplancton (E) (Fig. 4). Además, se añadieron 5 controles para todos los tratamientos donde no se incluyó a *Daphnia sp.* Cada tratamiento y control tuvo 3 réplicas, exceptuando los controles con únicamente microplásticos, los cuales tuvieron 2 réplicas. Estudios experimentales que exploran la interacción zooplancton-MPs suelen utilizar elevadas concentraciones de MPs en sus diseños, y por lo tanto no representan adecuadamente potenciales escenarios naturales (Botterell *et al.*, 2019). Por lo tanto, para este estudio se utilizaron concentraciones de microplásticos de medias a bajas en relación a estudios similares (Frydkjær *et al.* 2017; Rocha *et al.*, 2020) y que en nuestro estudio representan condiciones de concentración baja (0,001 g/l) y alta (0,01 g/l). Los microplásticos se obtuvieron mediante el rayado manual de tereftalato de polietileno (PET) con papel de lija, y su posterior tamizado por un tren de tamices, reservando la fracción entre 20 y 80 μm . Como resultado se obtuvieron formas irregulares con un rango de tamaño de 70 a 600 μm , con un largo promedio de $180 \pm 117 \mu\text{m}$ y un área promedio de $15500 \pm 28536 \mu\text{m}^2$. Al observar una cámara Sedgewick Rafter al microscopio con luz polarizada, de la dilución elaborada para el experimento se determinó que el mayor porcentaje de tamaños de esta solución era entre 70-200 μm con un 54%, los cuales son valores similares a los tamaños máximos de alimentación para este género (Rosenkranz *et al.*, 2009), seguidos de aquellos entre 200-300 μm con un porcentaje de 16,2% al igual que aquellos entre 300-400 μm) Posteriormente los microplásticos fueron suspendidos en agua filtrada declorada, para así obtener las soluciones de acuerdo a las dos concentraciones utilizadas en el experimento. El experimento de alimentación se realizó por un período de 4 hrs en frascos de vidrio de 8 ml, tapados, en oscuridad y a $21^\circ\text{C} \pm 0.6^\circ\text{C}$, temperatura similar a las condiciones ambientales del laboratorio de cultivo. Cabe destacar que la sedimentación de los microplásticos se evitó mediante el uso de un agitador orbital a baja frecuencia que mantuvo un movimiento constante en las 4 horas del experimento (Gerdes *et al.*, 2018). Para los experimentos se utilizó una concentración inicial de fitoplancton de 294,06 mg/l, de forma de asegurar una concentración de alimento suficiente. A su vez, cada tratamiento tuvo una hembra adulta sin huevos ni efiopios, las que no fueron alimentadas durante las 96 hrs previas al experimento. Luego del experimento se observó la presencia de organismos muertos (no movilidad), se colectó cada organismo y se fijó en alcohol 90%, en eppendorfs previamente etiquetados. Cada organismo fue observado al microscopio con filtro de luz polarizada para medir sus tamaños, identificar la presencia de plásticos en su intestino, y tomar fotografías. El medio de cada tratamiento y control fue fijado con lugol para luego estimar la densidad (Items/ml) de microplásticos al microscopio con filtro de luz polarizada. En cada tratamiento y control que incluyese fitoplancton se midió al inicio y al final del experimento la concentración de clorofila-a en unidades de fluorescencia relativa (UFR) mediante un fluorómetro (AquaFluor Handheld Fluorometer) y luego mediante la

realización de una curva de calibración se determinó la concentración de clorofila-a en microgramos por litro (Anexo, fig.1). Con los datos obtenidos se estimó la Tasa de Aclarado, la cual se define como el volumen que un individuo limpia de células por hora (ml ind⁻¹ h⁻¹). Los cálculos se realizaron de acuerdo a Morales *et al.*, (2009):

$$TA = \frac{v}{N^{\circ}ind \times tiempo} \times Ln\left(\frac{\text{promedio } Cc}{Ce}\right)$$

donde v es el volumen experimental, C_e es la concentración final de la unidad experimental, C_c es la concentración final en la unidad control, $n^{\circ} ind$ es el número de individuos de *Daphnia sp.* y el *tiempo* es la duración en horas del experimento. Para cada tratamiento se calculó la tasa de aclarado para el fitoplancton (TA fito), o para el microplástico (TA micro). En aquellos tratamientos donde existió una combinación de ambos tipos de partículas, se calcularon ambas tasas de aclarado. Para el análisis estadístico en RStudio version 1.2.5042, se realizaron previamente pruebas de normalidad a la variable TA con el Test de Shapiro-Wilk, y luego de homocedasticidad con el Test de Bartlett cuando hay normalidad, y cuando no hay con el Test de Fligner-Killeen. Las diferencias entre los tratamientos se evaluaron utilizando ANOVA de 1 vía (con comparación *post-hoc* por Test de Tukey) en casos de normalidad. Mientras que las diferencias entre los datos no normales se evaluaron utilizando Test de Kruskal-Wallis (con comparación *post-hoc* por Test de Dunn). Los resultados fueron considerados significativos a un $p < 0.05$.

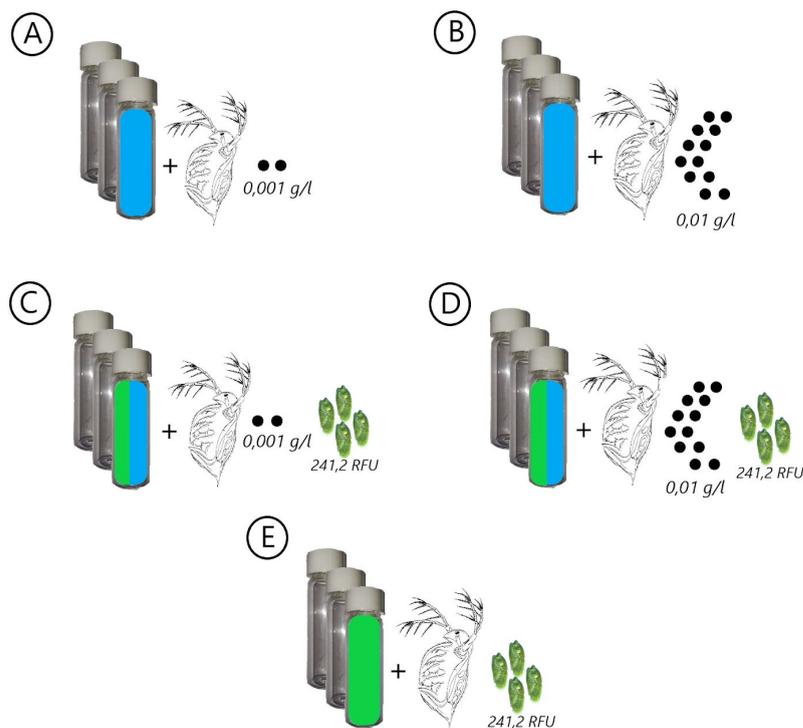


Figura 4. Esquema del diseño experimental con *Daphnia sp.* A) expuesta a microplásticos a concentraciones 0,001 g/l y a B) 0,01 g/l, C) expuesta en partes iguales a fitoplancton y microplásticos a concentraciones 0,001 g/l y D) 0,01 g/l, E) expuesta a fitoplancton. No se representan los controles, los cuales están descritos en el texto.

RESULTADOS

1) Puesta a punto de la metodología de análisis de microplásticos

A partir de la revisión bibliográfica se diseñaron una serie de pasos a seguir para el análisis de las muestras de agua, los cuales incluyeron la evaluación de diferentes técnicas para pasos críticos del procesamiento, como fueron la eliminación de la mayor cantidad posible de materia orgánica de la muestra, y la minimización de la contaminación durante el procesamiento (Tabla 1, Fig. 5).

Tabla 1. Tabla de pruebas realizadas en pasos clave del procesamiento de muestras de aguas marino-costeras superficiales a partir de recomendaciones y metodologías resumidas en Lusher *et al.*, 2017.

Paso	Pruebas	Elección
(1) Filtración de la muestra I	Malla 100 μm	✓
	Filtro de membrana de acetato de celulosa de 50 μm	
(2) Secado I	Estufa 12 hs a 60°C	
	Sin secado	✓
(3) Extracción material retenido I	Raspado con bisturí	
	Enjuague con agua Mili-Q en cámara de flujo laminar	
	Enjuague con KOH 10% en cámara de flujo laminar	✓
(4) Digestión de la MO en estufa 60°C	12 hs	
	Tiempo variable según cantidad de materia orgánica (12 hs mínimo)	✓
(5) Filtración II	Malla 100 μm	✓
	Filtro de membrana de acetato de celulosa de 50 μm	
(6) Secado II	Estufa 12 hs a 60°C	
	Sin secado	✓
(7) Extracción material retenido II	Raspado con bisturí	
	Enjuague con la menor cantidad de agua Mili-Q posible, en cámara de flujo laminar	✓

La filtración por la bomba de vacío el filtro de membrana de celulosa de 50 micrómetros se colmató muy rápido, impidiendo terminar la filtración, por esta razón la malla de 100 micrómetros fue la elegida, siendo que esta permitió rápidamente su filtración y se encuentra muy por debajo del tamaño del poro de la malla que se usó para extraer las muestras. Además, la manipulación de la malla para extraer la materia orgánica para su posterior digestión, fue más sencilla (Fig. 5.c). Los puntos clave de posible contaminación podrían ser la fibras provenientes de la malla de 100 μm utilizada para filtrar las muestras. Sin embargo, observaciones al microscopio permitieron confirmar que la malla tiene una construcción sólida

que evita que se desprendan fibras a la muestra, sobre todo si se tiene cuidado de quemar previamente los bordes para evitar desprendimientos. Mediante esta observación también se pudo comprobar que la muestra puede ser eficientemente recogida de la malla, mediante el lavado de la misma.

En la extracción de todo el material retenido en la malla de 100 μm no se observó diferencias entre el previo secado del filtro en estufa a 60°C por 12 hrs, y una extracción inmediata de la muestra fresca, por lo que se optó por esta última, ya que involucra un menor número de pasos y tiempo de manipulación, y por ende menor riesgo de posibles contaminaciones. La digestión de la materia orgánica se realizó en al menos 12 hrs ya que en ese plazo de tiempo fue posible observar una reducción considerable de la turbidez de la muestra.

El método que se utilizó para separar la materia orgánica de la malla fue mediante un embudo y dejando caer la mayor cantidad de materia sin manipular, y enjuagar bien el tamiz para evitar perder parte de la muestra en el mismo (Fig. 5.d). El cual se determinó como un método eficaz y rápido ya que al observar la malla bajo la lupa luego del procedimiento no se detectaron microplásticos. A su vez, se decidió enjuagar con KOH 10% directamente y evitar utilizar agua mili-Q, de forma de evitar la dilución del KOH utilizado para la digestión en el paso siguiente (Fig. 5.e). Observaciones posteriores al microscopio permitieron confirmar que el material puede ser extraído completamente de la malla mediante este procedimiento.

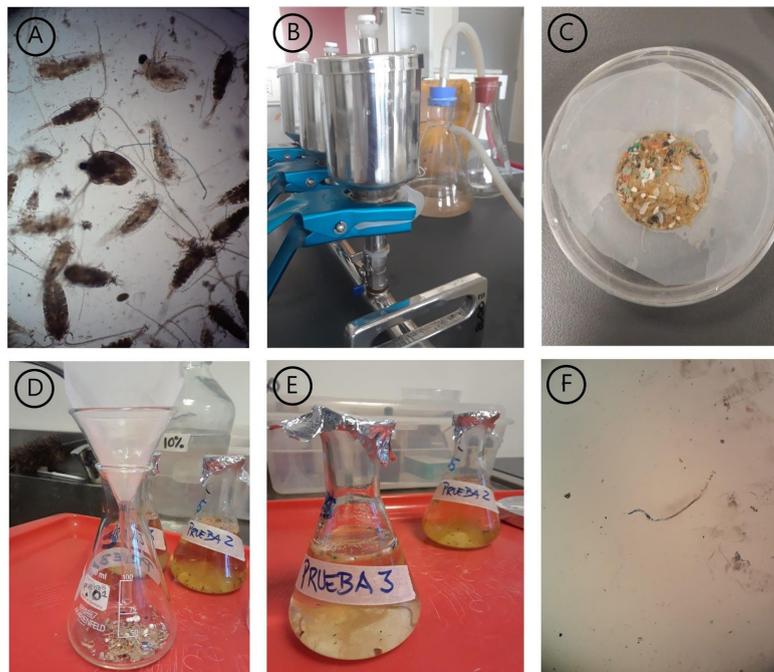


Figura 5. A) Muestra de prueba al microscopio óptico previa al procesamiento, B) Sistema de bombeo para filtración con mallas, C) Resultado de primera filtración de muestra de prueba con malla de 100 micrómetros, D) Sistema de extracción luego de un secado a 60°C por 24 hs de la muestra filtrada, E) Comparación de color post-digestión al haber digerido únicamente con KOH 10% (prueba 3) y con KOH y agua, F) Muestra de prueba al microscopio óptico luego del procesamiento.

A partir de los resultados obtenidos se definió la metodología a utilizar para el procesamiento de las muestras de agua antárticas, la cual se resume en los siguientes pasos:

Las muestras se filtran por una bomba de vacío a una malla de 100 micrómetros (vasos de filtración tapados), y el material retenido es enjuagado con KOH 10% a un erlenmeyer de 100 ml (bajo cámara de flujo, y con ayuda de un embudo de vidrio). La muestra se lleva a un volumen final de 100 ml, utilizando un total de 100 ml de KOH, se tapa el erlenmeyer con papel aluminio, y la digestión se realiza en una estufa a 60°C durante al menos 12 hs. Luego de la digestión, la muestra se filtra nuevamente por una malla de 100 micrómetros y el material retenido se enjuaga con la menor cantidad posible de agua mili-Q a un frasco de vidrio, luego de lo cual la muestra se preserva tapada hasta el momento del análisis óptico. Todas las muestras se observan en su totalidad en cámaras de conteo de Sedgewick Rafter cubiertas por cubreobjetos. (Fig. 6)

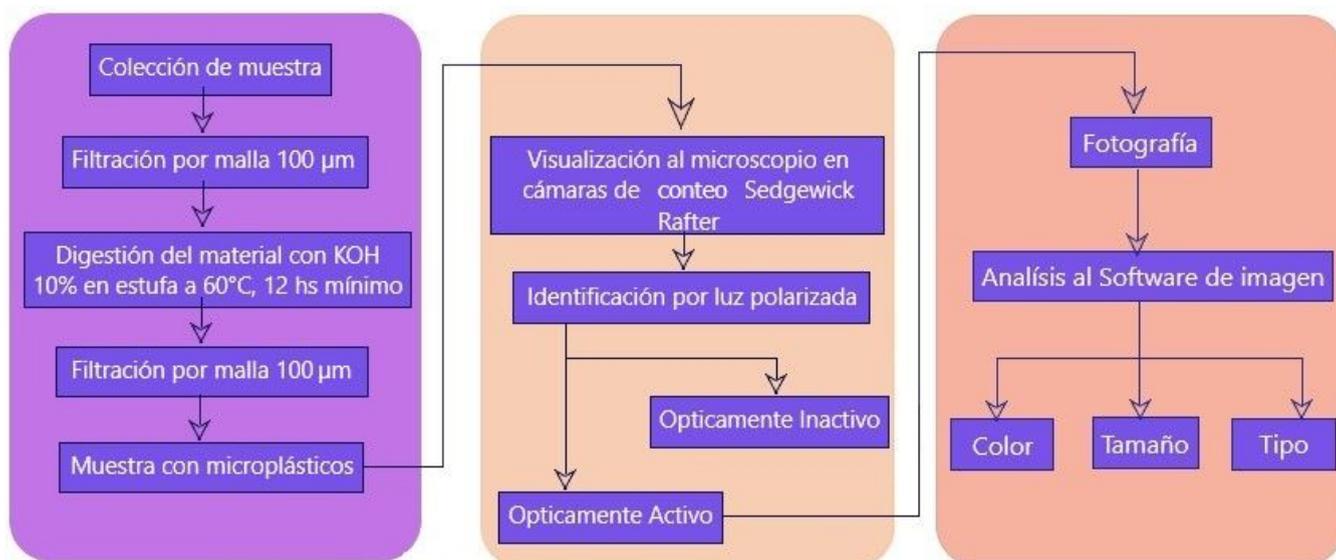


Figura 6. Esquema general de la metodología final utilizada para el análisis de las muestras de microplásticos en aguas superficiales antárticas.

Durante el análisis óptico de las muestras de agua de la Bahía Collins se comprobó la presencia de partículas de origen mineral que fueron ópticamente activas bajo el microscopio de luz polarizada, lo que llevó a confusión inicial sobre su origen (Fig. 7). Para distinguirlas se realizó una prueba que consistió en observar al microscopio una muestra de arena, lo que logró identificar similitudes y diferencias con aquellos fragmentos encontrados en las muestras de la bahía, pudiendo así facilitar el descarte de origen plástico por su patrón de colores, y sus formas. A su vez, se pudo observar que el método de digestión no digirió totalmente todo aquello que no fuera plástico, ya que se pudieron observar algunos restos de exoesqueleto de zooplankton (Fig.8), los cuales están compuestos por minerales que también son ópticamente activos bajo este tipo de luz. Sin embargo, en su gran mayoría pudieron diferenciarse claramente de los microplásticos, exceptuando algunos restos de antenas o patas. Por otro lado, se observaron diferencias en la coloración de las partículas entre la observación al microscopio y las fotografías tomadas con cámara y software de análisis de imágenes, por lo que las partículas se observaron de ambas formas. También se pudo

identificar que colores rojos, azules y violetas de fibras y fragmentos no se observaron como partículas ópticamente activas en el análisis de imágenes, aunque sí fueron identificados como plásticos en observación directa al microscopio (Fig.9).

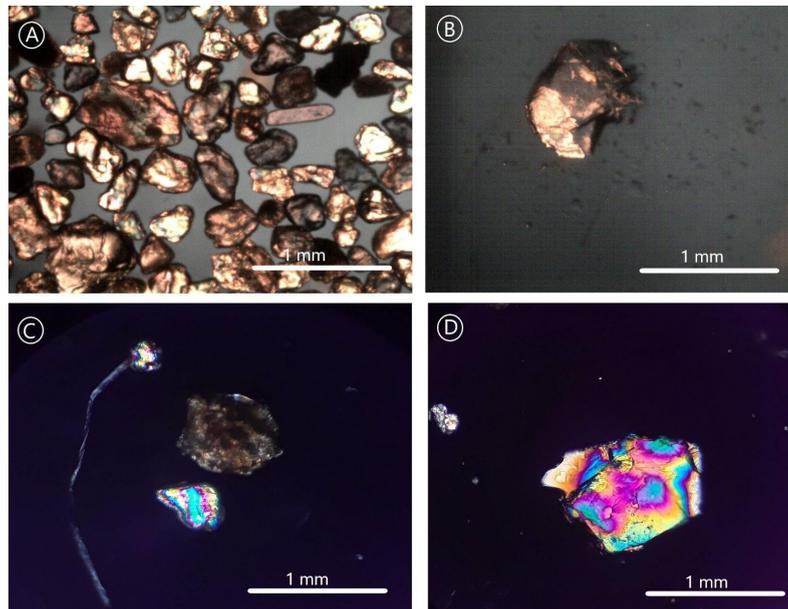


Figura 7. Partículas de arena bajo microscopio con filtro de luz polarizada a 40x. (A) Arena de muestra de prueba tomada con Software de análisis de imágenes (B) Grano de arena en muestra de Bahía Collins sacado con Software de análisis de imágenes (C) y (D) grano de arena en muestra de la Bahía Collins tomado con cámara de celular sobre objetivo del microscopio.



Figura 8. Fotografías al microscopio (40X) con filtro de luz polarizada (derecha) y sin filtro (izquierda) de exoesqueletos persistentes a la digestión con KOH al 10%.

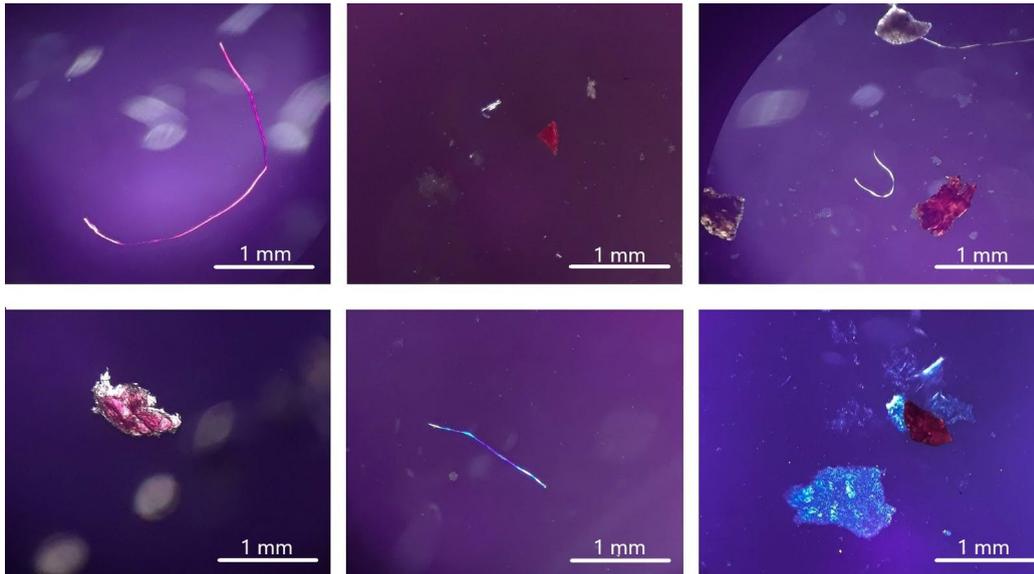


Figura 9. Imágenes de microplásticos azules, rojos y violetas tomadas con celular a través del objetivo del microscopio de luz polarizada de las muestras de Bahía Collins.

A pesar de la digestión realizada se encontraron objetos ópticamente inactivos como se observa en la figura 10, señalados con flechas. En aquellos casos donde se observaron fragmentos ópticamente inactivos a través de PLM e igualmente se sospechó que podían ser microplásticos se realizó la prueba del aguja caliente, prueba que resultó positiva en casos tales como fragmentos de pintura y otros fragmentos de gran espesor. En la Figura 11 y en Anexo (Fig.2) se observan ejemplos de estas pruebas. En la Figura 11 las imágenes de la izquierda (A y B) muestran dos fragmentos sospechosos de ser microplásticos. Las imágenes de la derecha (C y D) muestran esos fragmentos, luego la prueba donde puede observarse el derretimiento.

Finalmente, no se observaron microplásticos presentes ni en la solución de KOH 10%, ni en el agua destilada utilizada durante el procesamiento de las muestras.

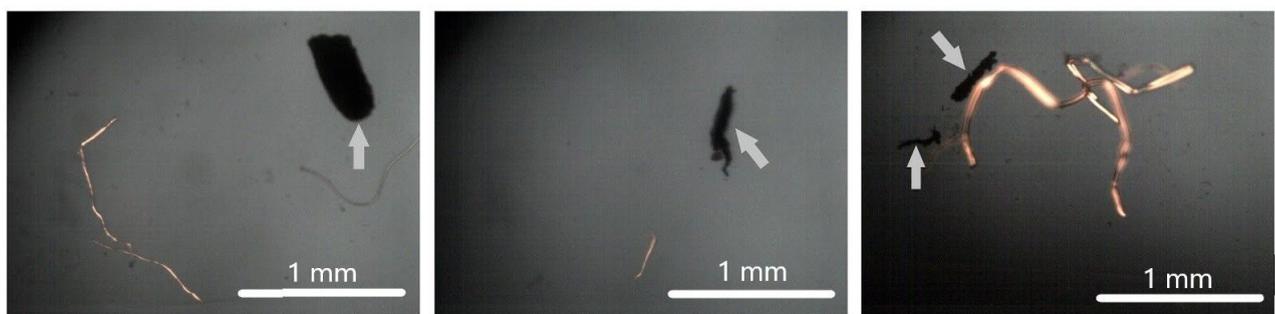


Figura 10. Fotografías comparativas de objetos ópticamente activos e inactivos (color negro opaco), tomadas con el software de análisis de imagen al microscopio (40X) con filtro de luz polarizada.

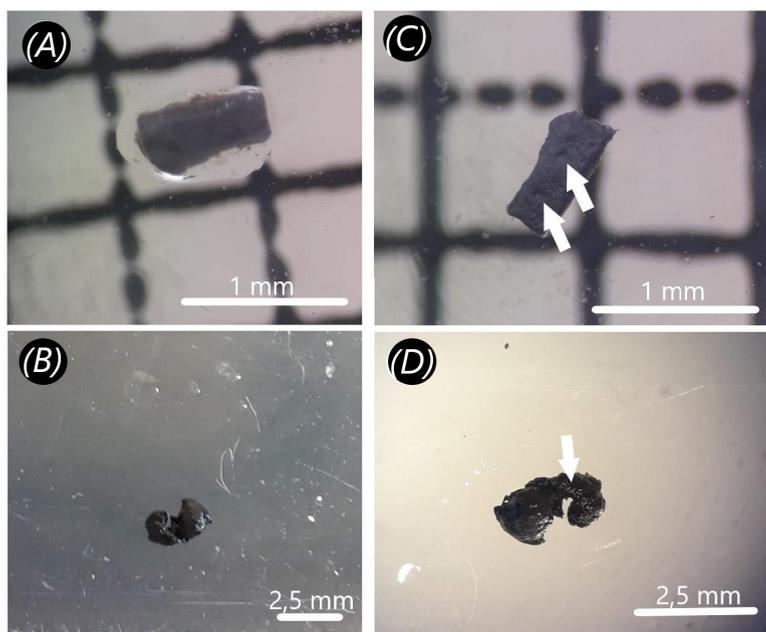


Figura 11. Fotografías de microplásticos a la lupa antes (A y B, izquierda) y después (C y D, derecha) de la prueba de quemado. (A) Fragmento de prueba, (B) Fragmento hallado en muestra de zona 3 en 2016.

2) Análisis microplásticos Bahía Collins

Se contabilizaron un total de 11708 microplásticos entre las 19 muestras, del cual se consideró únicamente 6452 (55%) de ellas para el cálculo de densidades (aquellos mayores a 220 μm). El promedio de densidades totales en cada año fue de $13,6 \pm 8,9$ ítems/ m^3 , $8,6 \pm 4,9$ ítems/ m^3 y $3,2 \pm 6,0$ ítems/ m^3 respectivamente para 2016, 2017 y 2018 (Fig. 12). Las densidades de fibras variaron en un rango de 0,3 a 24 ítems/ m^3 , mientras que las de fragmentos lo hicieron entre 0,0 y 1,8 ítems/ m^3 . A su vez, se observó que en el año 2017 las densidades más altas fueron en Z_1 y Z_2 , mientras que en 2018 fue en Z_3 (Fig. 12). En el año 2016 se reportaron las densidades mayores, con un pico en la Z_1 y otro más pequeño en Z_3 (Fig.12).

Se observó que con el paso de los años hubo una disminución significativa de las densidades de MPs y que en 2018 hay un pico de densidad en Z_3 de 15,5 ítems/ m^3 (Fig. 13). Estadísticamente mediante el Test de Kruskal-Wallis se pudo determinar que las densidades totales de MPs presentaron diferencias significativas ($X^2=6,144$, $p=0,046$, $df=2$), particularmente entre los años 2018 y 2016 ($p=0,0198$). El mismo patrón es observable para fibras ($X^2=6,144$, $p=0,046$, $df=2$) y para fragmentos ($X^2=6,643$, $p=0,036$, $df=2$) (Fig. 13). A su vez, se pudo corroborar estadísticamente, por Test ANOVA, que las densidades totales durante el 2016 no presentaron diferencias significativas entre zonas (Z_1 , Z_2 y Z_3 ; $F=1,56$, $p=0,27$), así como las densidades de fragmentos ($F=4,33$, $p=0,059$) y de fibras ($F=1,49$, $p=2,29$; Fig.13). Se observó también que las zonas con mayores o menores

densidades variaron entre años (Anexo: Tabla I).

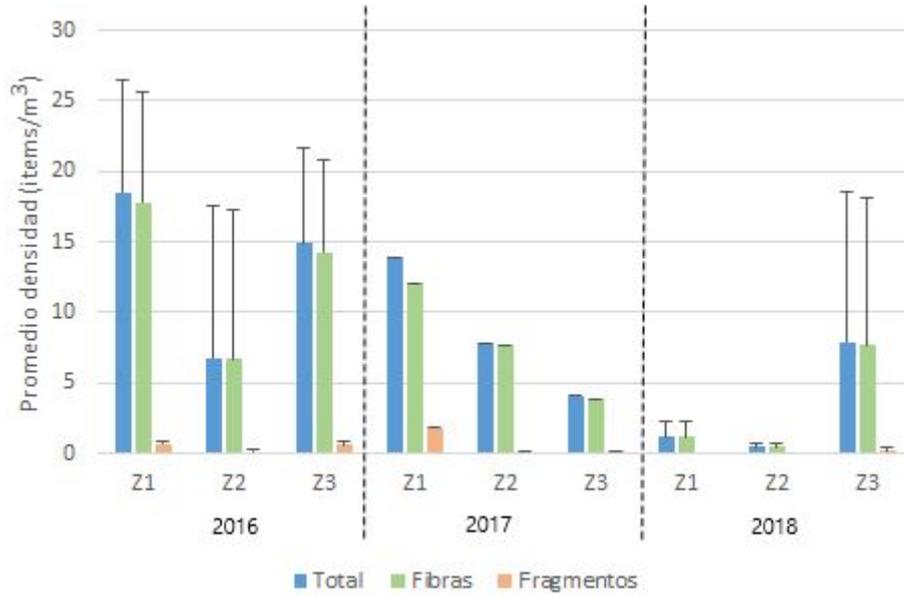


Figura 12. Gráfico de promedio de densidades en ítems/m³ para cada zona (Z₁ Glaciar Collins, Z₂ BCAA, Z₃ Caleta Norma) y cada año muestreado, con sus respectivos desvíos.

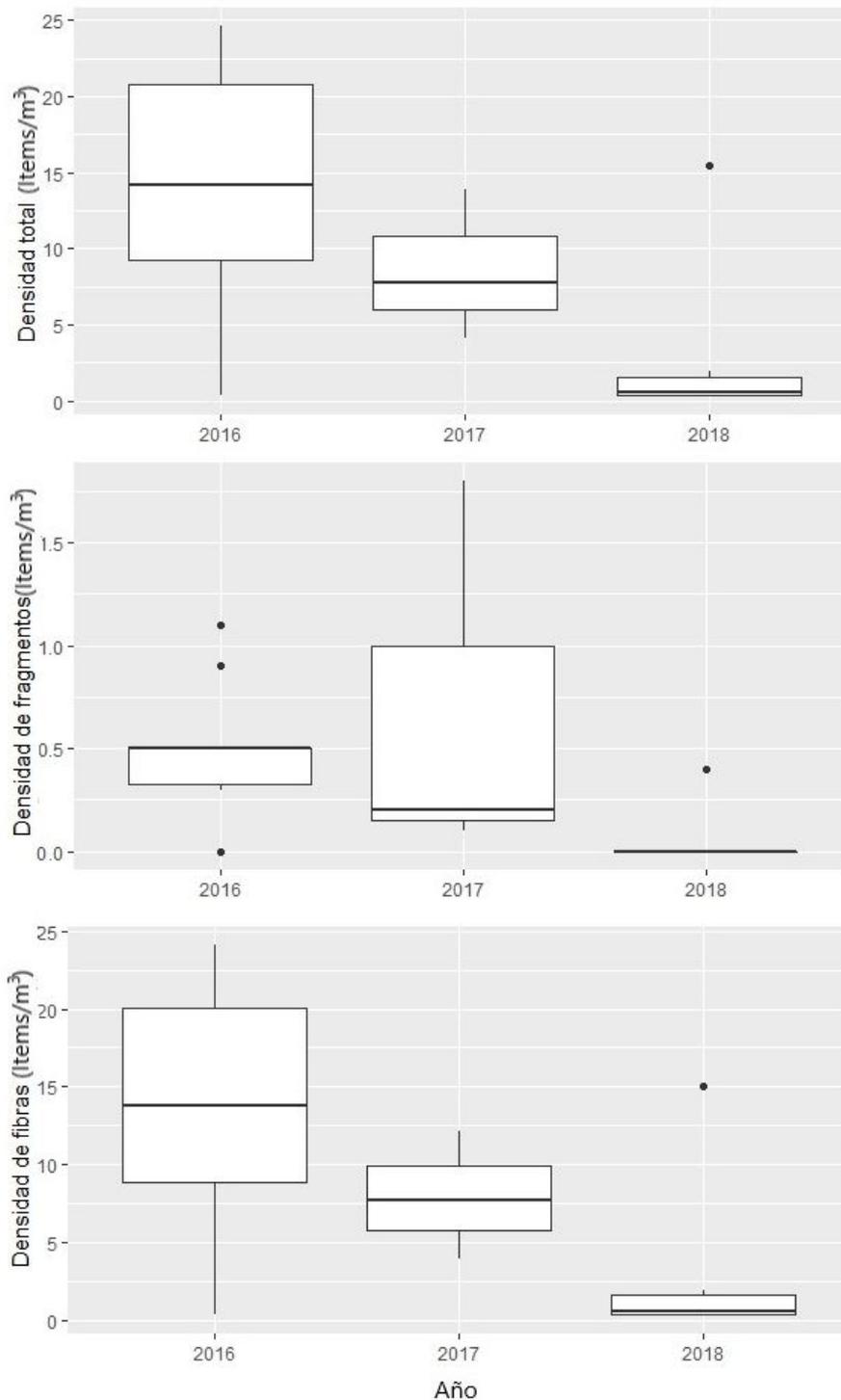


Figura 13. Densidades de microplásticos (220-5000 μm) en Bahía Collins para muestras del 2016 (tres réplicas en zona 1 y 2, y 4 en zona 3), 2017 (sin réplicas) y 2018 (dos réplicas por cada zona). La línea horizontal oscura representa la mediana de los datos y los extremos de la caja los cuantiles 25% y 75%. Las líneas verticales representan el rango de distribución, exceptuando los valores extremos que se representan con un punto. Note la diferencia en la escala del eje y del primer gráfico respecto a los otros.

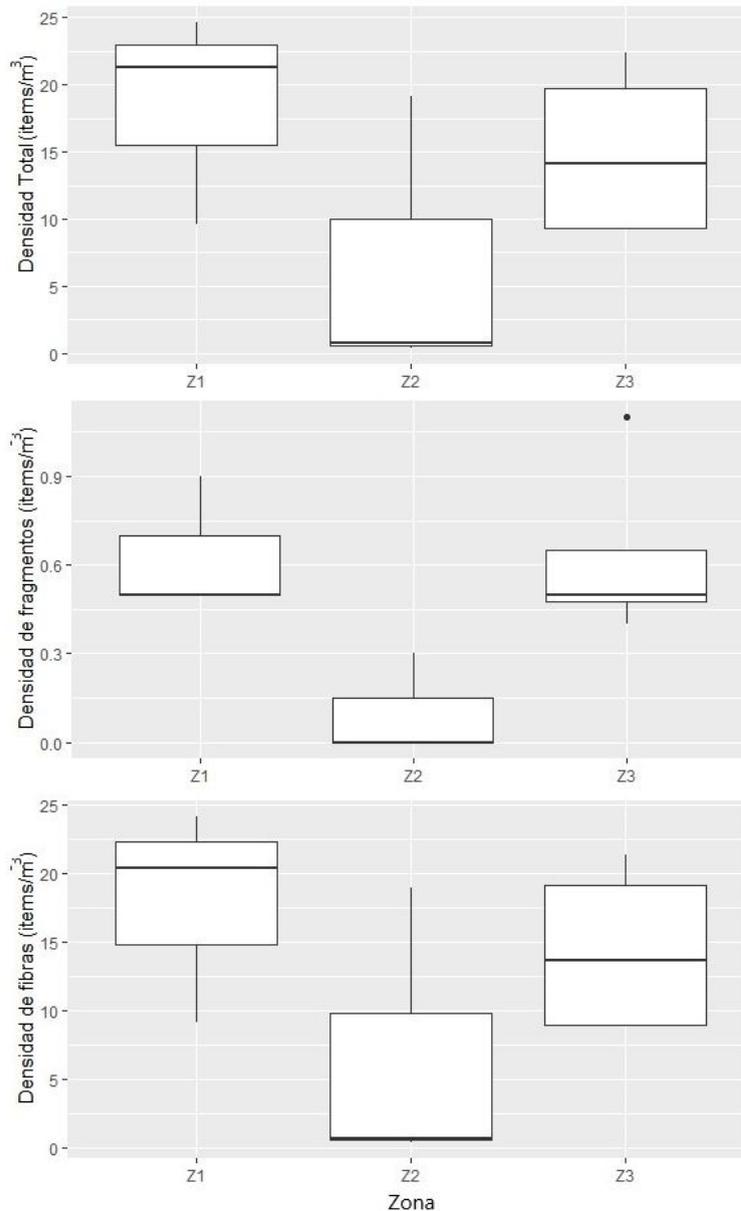


Figura 14. Densidades de microplásticos en las tres zonas en Bahía Maxwell, frente al Glaciar Collins (Z_1 , tres réplicas), frente a la Base Artigas (Z_2 , tres réplicas) y frente a Caleta Norma (Z_3 , cuatro réplicas), para muestras del 2016. La línea horizontal oscura representa la mediana de los datos y los extremos de la caja los cuantiles 25% y 75%. Las líneas verticales representan el rango de distribución, exceptuando los valores extremos que se representan con un punto. Note la diferencia en la escala del eje y del primer gráfico respecto a los otros.

Las fibras presentaron las mayores densidades en todos los años y zonas, excediendo en general el 96% de presencia en la muestra (100% en la Zona 1, 2018), excepto en la Zona 1 durante el 2017, donde su porcentaje relativo fue del 87,1%. Por otro lado, los fragmentos representaron cerca del 3% de los ítems plásticos encontrados en cada muestra, excepto en la Zona 1 durante el 2017, donde representaron el 12,9% (Anexo:, Tabla II).

Al considerar todos los MPs encontrados se evidenció una gran variabilidad en los tamaños de las fibras y fragmentos, algunos ejemplos se muestran en la Figura 16 (ver también Anexo: Fig.III, IV y V). Si bien no se contabilizaron todos los colores, los mas dominantes fueron fibras rojas, azules, violetas, verdes y transparentes, y fragmentos marrones, negros, amarillos, rojos, azules y naranjas (Fig. 16; Anexo: Fig.III, IV y V).

Se pudo observar que las fibras presentaron un mayor longitud que los fragmentos en todos los años, y 2018 fue el año que presentó los tamaños más pequeños de MPs (Fig. 17 C). Sin embargo, no se observó un patrón claro en la variabilidad de tamaños durante el período de estudio (Fig. 17 A,B). Los tamaños de las fibras variaron dentro de un rango entre 1 y 4920 μm , y los fragmentos dentro de un rango entre 3,9 y 3120 μm (Fig. 17, Anexo, tabla III). Siendo que el promedio de tamaños de fragmentos fue de $377 \pm 202 \mu\text{m}$, $565 \pm 59 \mu\text{m}$, y 98 ± 124 , respectivamente para 2016, 2017 y 2018, y el promedio de tamaño de fibras fue de $663 \pm 321 \mu\text{m}$, $799 \pm 61 \mu\text{m}$, $177 \pm 262 \mu\text{m}$, respectivamente para 2016, 2017 y 2018. Además, la mayor cantidad de fibras y fragmentos fueron representadas por los tamaños más pequeños, entre 1 - 1000 μm , y más específicamente por el rango de 0,001- 200 micrómetros, tamaños que se encuentran por debajo del tamaño de malla utilizado (Fig. 18).

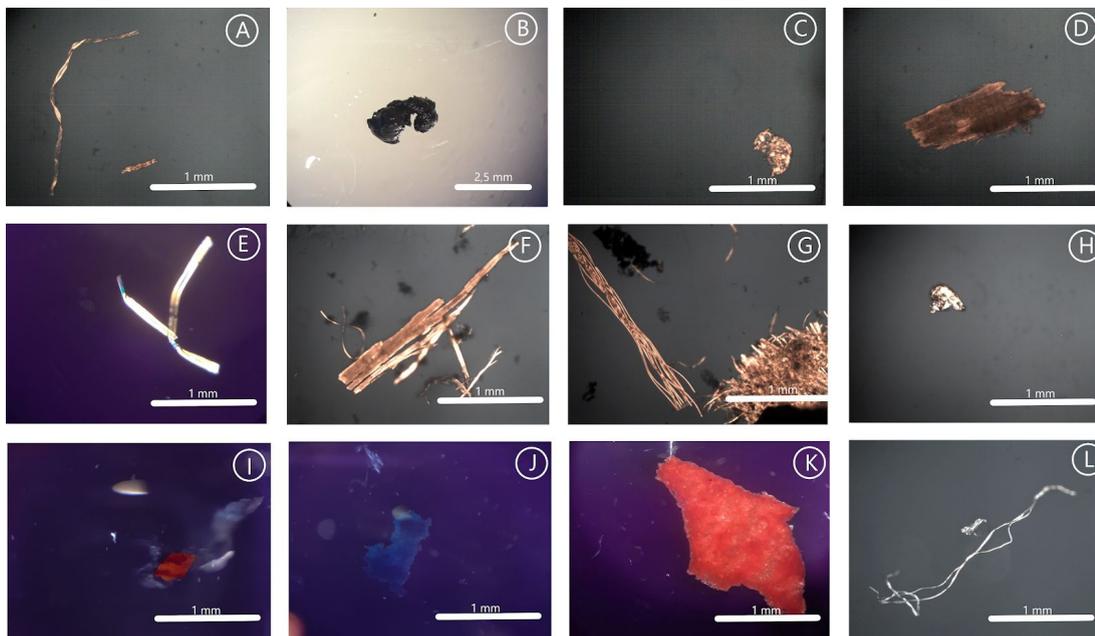


Figura 15. Imágenes de microplásticos (fibras y fragmentos) tomadas por software y con cámara directo al microscopio óptico con filtro de luz polarizada de muestras 2016 (A-E), 2017 (F-H) y 2018 (I-L).

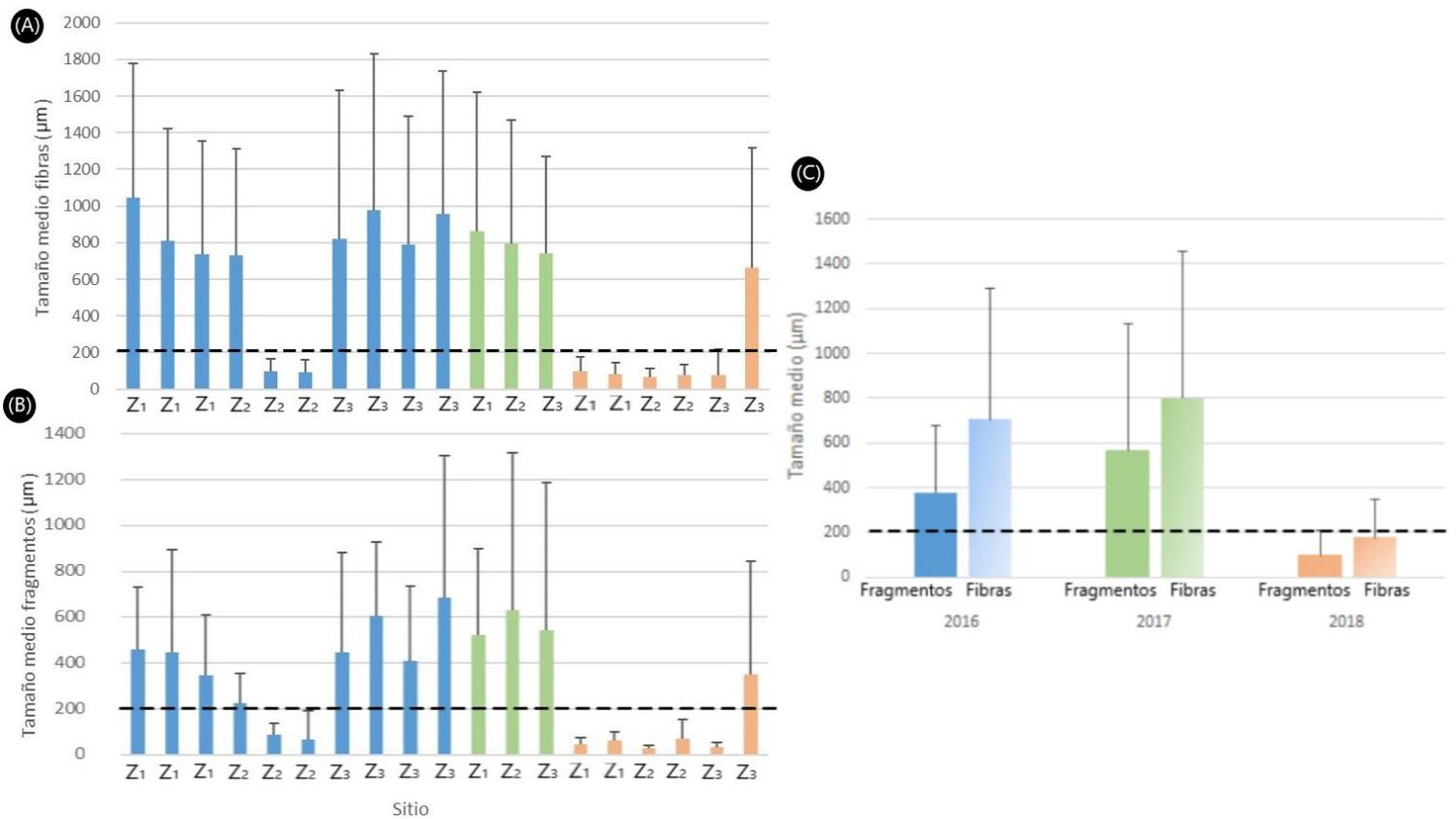


Figura 16. Tamaño promedio (y desvío standard) de microplásticos en micrómetros para 2016 (azul), 2017 (verde) y 2018 (naranja) y zonas (Z₁=Glaciar Collins, Z₂=BCAA, Z₃=Caleta Norma) fibras (A) y fragmentos (B) y tamaño promedio por año (C). La línea punteada marca el tamaño de red utilizada en el muestreo (220 µm). Note las diferencias en las escalas del eje entre las gráficas.

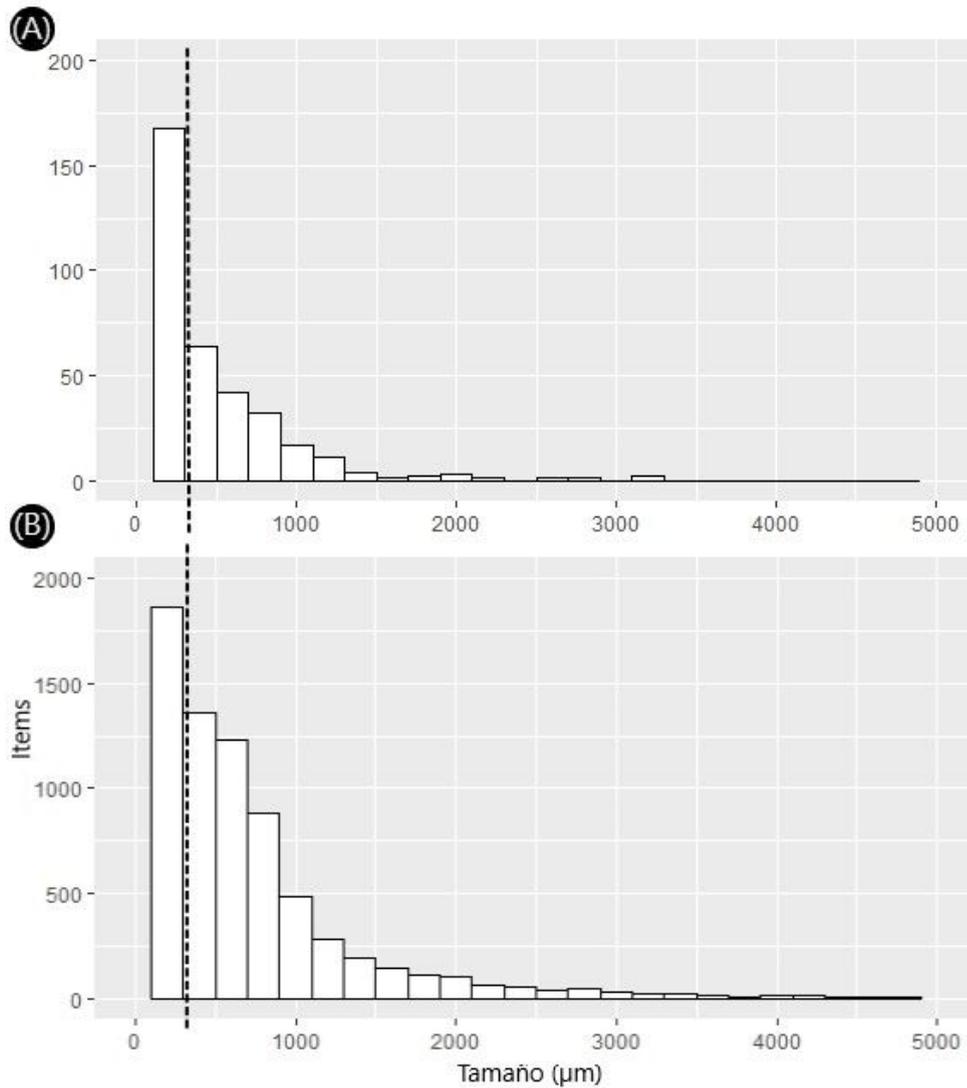


Figura 17. Histogramas del tamaño de fragmentos (A) y fibras (B) en micrómetros para todos las zonas y años. Nótese las diferencias en la escala del eje y entre ambas gráficas, y que la línea punteada marca el tamaño de la red utilizada en el muestreo (220 µm).

3) Experimento ingestión microplásticos y zooplancton

Todos los organismos utilizados para el experimento fueron similares en tamaño, variando entre 1,1 y 1,7 mm, y con una talla promedio de 1,5 mm. Según el Test de Kruskal-Wallis se pudo determinar que no hubo diferencias significativas entre los tamaños de las *Daphnia sp.* utilizadas en cada tratamiento ($X^2=1,370$, $p=0,85$, $df=4$; Fig. 19). Si bien para el experimento se seleccionaron solo hembras adultas sin huevos, se detectó *a posteriori* una hembra con un huevo en una de las réplicas del tratamiento con fitoplancton y microplásticos a altas concentraciones (F+M10).

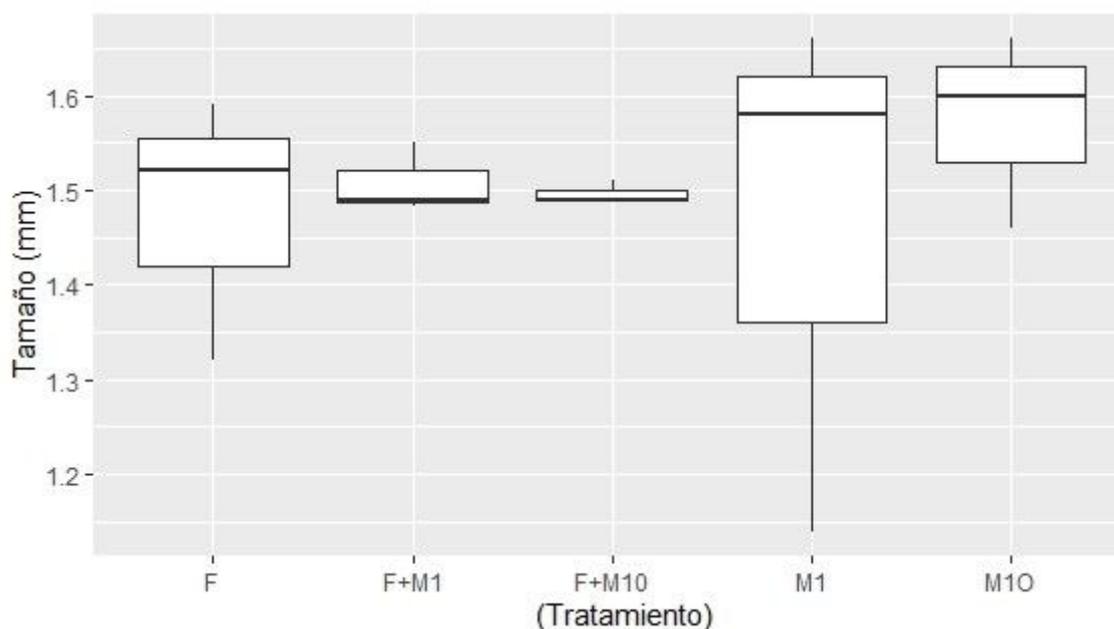


Figura 18. Tamaño en milímetros de los individuos (*Daphnia sp.*) de cada tratamiento: únicamente fitoplancton (F), mezcla de fitoplancton y microplásticos en iguales proporciones para ambas concentraciones (F+M1, F+M10), y únicamente microplásticos a concentraciones bajas (M1) y altas (M10). La línea horizontal oscura representa la mediana de los datos y los extremos de la caja los cuantiles 25% y 75%. Las líneas verticales representan el rango de distribución.

Al observar las *Daphnia sp.* de los tratamientos con microplásticos (M1, M10, F+M1 y F+M10) al microscopio con filtro de luz polarizada, se pudo confirmar la presencia de microplásticos en sus intestinos, lo cual se observó únicamente en los tratamientos con microplásticos a concentraciones bajas (M1, 0,001 g/l) (Fig. 20 A, B y C). Los organismos de los tratamientos con microplásticos a concentraciones altas (M10, 0,01 g/l) no presentaron microplásticos en su intestino (Fig. 20 D y E). Los tratamientos que incluyeron fitoplancton en combinación con microplásticos (F+M1, F+M10) presentaron un intestino con contenido más oscuro, por lo que no fue posible identificar ítems plásticos que reluzcan bajo luz polarizada (Fig. 20 F, G, H e I).

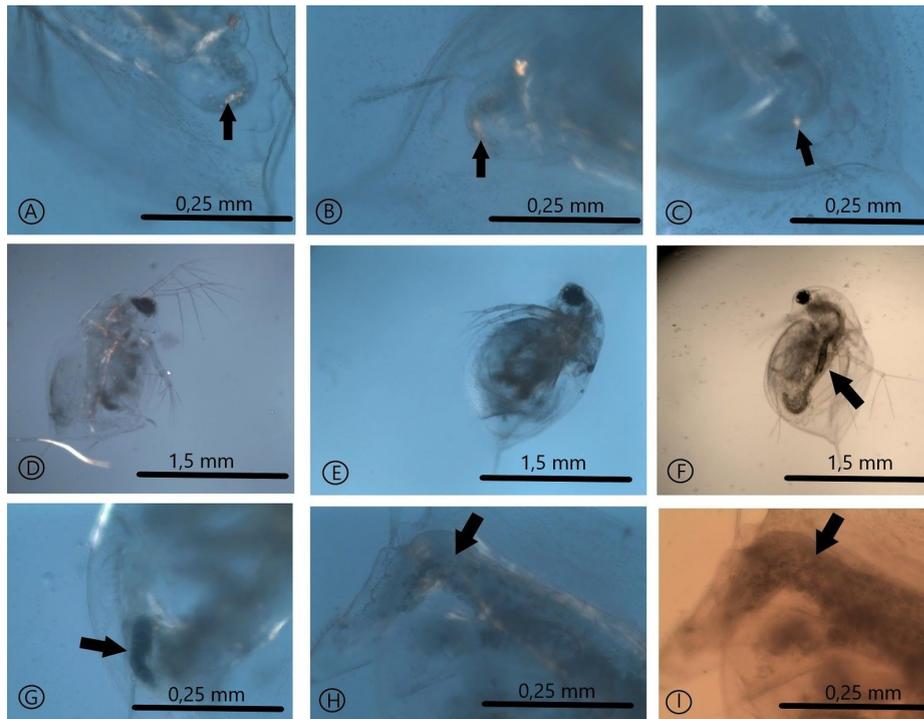


Figura 19. Imágenes de *Daphnia* sp. en diferentes tratamientos del experimento con microplásticos vistas al microscopio a 100x y 40x, con (A,B,C,D,E,G,H) y sin (F,I) filtro de luz polarizada. (A,B,C) corresponden a réplicas de los tratamientos con microplásticos a bajas concentraciones (M1), (D, E) réplicas del tratamiento con microplásticos a altas concentraciones (M10), (F) réplica de tratamiento de fitoplancton y microplásticos a bajas concentraciones (F+M1), (G,H,I) réplicas de tratamiento de fitoplancton y microplásticos a altas concentraciones (F + M10).

A su vez, se observó que todos los organismos sobrevivieron, a excepción de los organismos en tratamientos con únicamente microplásticos a altas concentraciones (M10), y un organismo en una de las réplicas del control con únicamente fitoplancton (F) (Anexo, tabla VIII).

La tasa de aclarado promedio para el fitoplancton de los tratamientos sin MPs fue de $0,13 \pm 0,04$ ml/ind.h, mientras que la de los tratamientos combinando fitoplancton y microplásticos fue de $0,08 \pm 0,06$ ml/ind.h a bajas concentraciones de MPs (F+M1) y de $0,25 \pm 0,02$ ml/ind.h a altas concentraciones de MPs (F+M10) (Fig. 21; Anexo, tabla 4, 5 y 6). Según el test ANOVA ($F=10,56$; $p=0,011$) existieron diferencias significativas entre las tasas de aclarado de fitoplancton (TA fito) de los diferentes tratamientos. Particularmente, la tasa de aclarado para el fitoplancton en el tratamiento F+M10 fue significativamente mayor que la del tratamiento F+M1 ($p=0,04$) y la del control únicamente con fitoplancton ($p=0,01$) (Fig. 21).

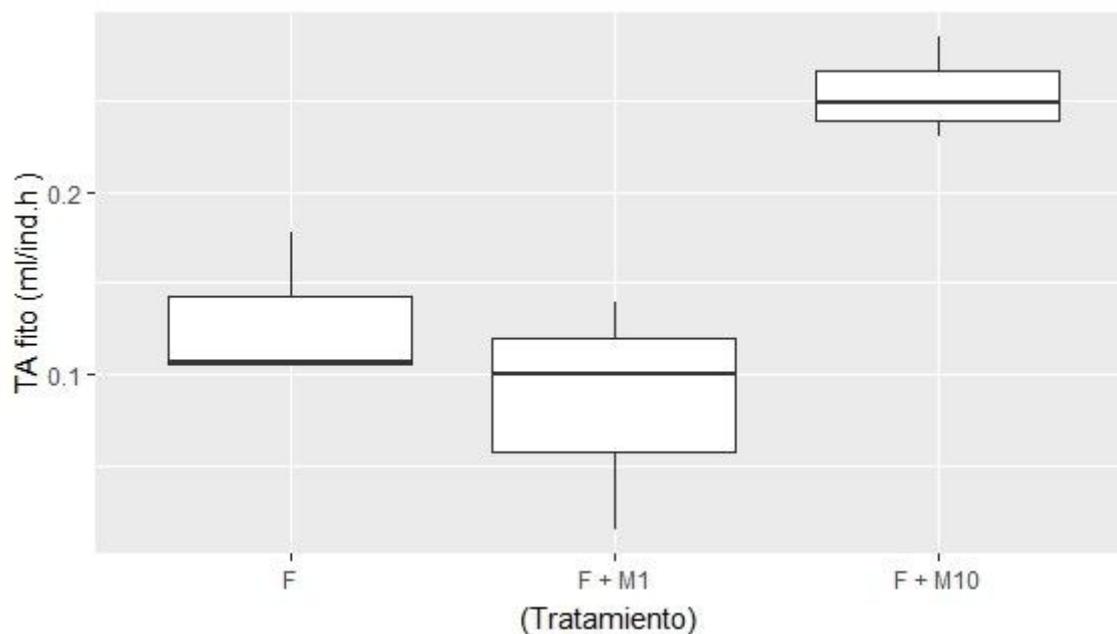


Figura 20. Boxplot de tasas de aclarado para el fitoplancton (TA fito, en ml/individuo.hora) consumido por *Daphnia sp.* en los tratamientos con fitoplancton (F) y con fitoplancton y microplásticos a concentraciones bajas (F+M1) y altas (F+M10). La línea horizontal oscura representa la mediana de los datos y los extremos de la caja los cuantiles 25% y 75%. Las líneas verticales representan el rango de distribución..

Según los cálculos realizados la tasa de aclarado promedio para los microplásticos (TA micro) de los tratamientos únicamente con MPs fue de $0,69 \pm 0,44$ ml/ind.h a bajas concentraciones (M1) y de $0,91 \pm 0,54$ ml/ind.h a altas concentraciones (M10). Mientras tanto, los tratamientos que tuvieron una combinación de fitoplancton y MPs a bajas concentraciones (F+M1) presentaron una TA micro de $0,48 \pm 0,45$ ml/ind.h, y los de fitoplancton y MPs a altas concentraciones (F+M10) una de $0,28 \pm 0,93$ ml/ind.h (Fig. 22; Anexo tabla VII, VIII y IX). Nótese que algunas tasas de aclarado fueron negativas, debido a que la concentración final registrada en los controles fue levemente menor a la de los tratamientos (Anexo, Tabla VII, VIII y IX) Si bien las tasas de aclarado de los tratamientos donde solo se ofreció microplástico a bajas o altas concentraciones (M1 y M10 respectivamente) fueron superiores a las de los tratamientos con combinación de fitoplancton y MPs, estas diferencias no fueron significativas ($F=3,6$, $p=0,06$) (Fig. 22).

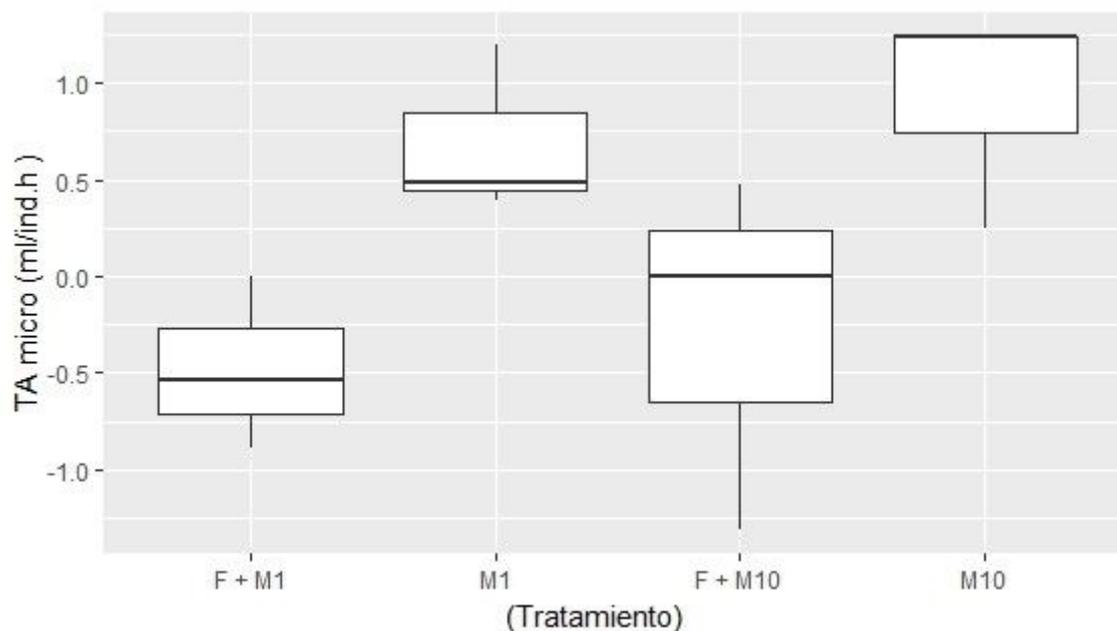


Figura 21. Boxplot de tasas de aclarado de microplásticos (TA micro, en ml/individuo.hora) consumido por *Daphnia sp.* en los diferentes tratamientos; fitoplancton y microplásticos a concentraciones bajas (F+M1), únicamente microplásticos a bajas (M1), fitoplancton y microplásticos a concentraciones altas (F+M10) y únicamente microplásticos a concentraciones altas (M10). La línea horizontal oscura representa la mediana de los datos y los extremos de la caja los cuantiles 25% y 75%. Las líneas verticales representan el rango de distribución.

Al comparar las tasas de aclarado de fitoplancton y de microplásticos, no se encontraron diferencias significativas ($X^2=5,570$, $p=0,13$, $df=3$; Fig.22) (Fig. 23, Anexo tablas IV-IX).

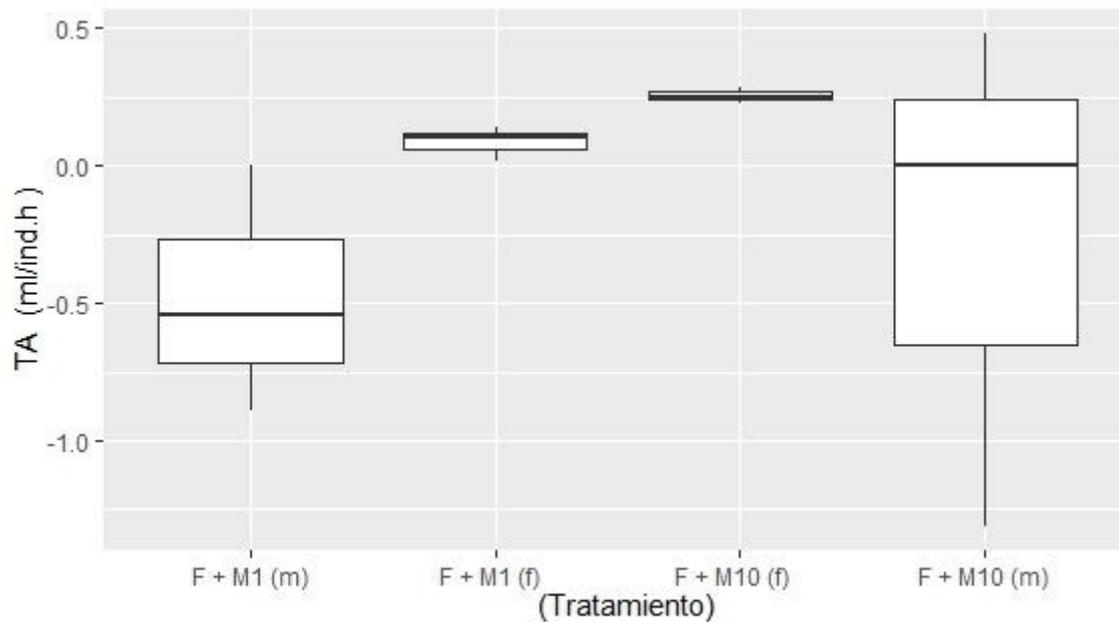


Figura 22. Boxplot de tasas de aclarado de microplásticos (m) y de fitoplancton (f), (en ml/individuo.hora) consumido por *Daphnia sp.* en los tratamientos con fitoplancton y microplásticos a concentraciones bajas y altas (F+M1, F+M10). La línea horizontal oscura representa la mediana de los datos y los extremos de la caja los cuantiles 25% y 75%. Las líneas verticales representan el rango de distribución.

DISCUSIÓN

Este estudio detectó por primera vez la presencia de microplásticos (MPs) en aguas superficiales de la Bahía Collins, Antártida, sin diferencias significativas en las densidades de MPs halladas en las tres zonas estudiadas (Z_1 , Z_2 y Z_3). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas que indicaron menores densidades en 2018, en comparación con 2016. Por otro lado, experimentalmente se observó ingestión de MPs por parte de *Daphnia sp.* aunque existieron diferencias entre los diferentes tratamientos utilizados. Además, se observó una mortalidad del 100% en *Daphnia sp.* a altas concentraciones de MPs..

Metodología de análisis de microplásticos

La puesta a punto de la metodología basada principalmente en von Moos *et al.*,(2012) y la revisión metodológica de Lusher *et al.*,(2017), junto a las modificaciones realizadas durante este trabajo permitieron procesar y analizar las muestras de agua antárticas de la Bahía Collins rápidamente y con un bajo costo. Si bien estas muestras provienen de aguas oligotróficas, la digestión con KOH 10% a 60°C durante un mínimo de 12 hs pudo eliminarla casi en su totalidad, permaneciendo únicamente algunos restos de exoesqueletos. Sin embargo, los remanentes de exoesqueleto fueron fácilmente diferenciables durante la observación de los microplásticos, por lo que no representó una desventaja, frente a la practicidad de la utilización del KOH. Cabe destacar sin embargo, que la utilización de KOH 10% puede degradar algunos plásticos de PC y PET según indican Dehaut *et al.*,(2016) y Cole *et al.*,(2014). Pese a esta desventaja, este método de digestión parece ser el más eficaz para este tipo de muestras ya que además posee un bajo costo y fácil accesibilidad (Thiele *et al.*, 2019). Muestras con mayor contenido de materia orgánica podrían precisar del tratamiento con otras sales (NaOH, etc) u otros ajustes en tiempos y temperaturas de digestión. Respecto a la identificación de MPs, se detectaron falsos positivos en la luz polarizada por presencia de arena en algunas muestras. Si bien fue posible descartarlas como plásticos mediante un análisis comparativo con muestras de arena, futuras investigaciones podrían incorporar una previa separación de MPs por densidad utilizando sales como $ZnCl_2$ o NaCl las cuales incrementan su flotabilidad y facilitan su posterior separación (Cole *et al.*,2014).

Mediante esta metodología fue también posible minimizar la contaminación por fibras plásticas en el ambiente, o la pérdida de microplásticos de las muestras, ya que todas las muestras se procesaron ya sea tapadas o en una cámara de flujo, además de la previa limpieza con alcohol del sitio donde se manipuló la muestra. Minimizar la posibilidad de contaminación por fibras plásticas presentes en los laboratorios es considerado uno de los desafíos mayores en el análisis de microplásticos, ya que puede llevar a sobreestimaciones sustanciales de las concentraciones ambientales (Prata *et al.*, 2020). Cabe destacar que las muestras fueron analizadas por un único investigador, por lo que se garantizaron procesamientos igualitarios para todas las muestras y se evitó las diferencias entre observadores durante el análisis. En general, no se observaron MPs en ninguno de los controles utilizados durante el procesamiento de las muestras, por lo que se concluye que los métodos de tapado de muestras durante las diversas etapas del análisis, el uso de cámara de

flujo, y el lavado del material, fue exitoso para prevenir la contaminación. Para futuras investigaciones sería recomendable lavar todo el material de vidrio utilizado, y el tren de filtración de agua con ácido clorhídrico previo a la manipulación de las muestras para asegurar una mayor limpieza de fibras plásticas de los materiales utilizados, así como filtrar 1 litro de agua mili-Q por la malla como una forma de control extra. A su vez, sería recomendable que quienes manipulen la muestra utilicen ropa 100% algodón al analizar las muestras. Cabe destacar además que el uso de la malla de 100 micras resultó útil para evitar contaminaciones provenientes de los filtros utilizados durante el procesamiento de la muestra, como los filtros de fibra de vidrio, ya que estos pueden desprenderse y podrían considerarse una fuente de contaminación (observación personal).

A pesar de estos cuidados existe la posibilidad de considerar por error fragmentos o fibras que no son plásticas. Esto se evitó con la prueba de la aguja caliente y teniendo en cuenta criterios del manual de identificación de plásticos del Marine & Environmental Research Institute (Lusher *et al.*, 2017; De Witte *et al.*, 2014) lo cual se consideró efectivo y relevante en el caso de los fragmentos. A su vez, también se registraron agregados de fibras enredadas, donde no fue posible diferenciar y cuantificar el número de fibras que constituye cada agregado, ni determinar sus tamaños, por lo que en futuras investigaciones se deberá resolver esta problemática en la metodología. Sin embargo, existen técnicas para la confirmación de la identidad como la Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (micro FT-IR) (e.g. Kuklinski *et al.*, 2019), que permiten caracterizar la composición polimérica y así diferenciar ítems que aún siendo ópticamente activos tienen otro origen, como las fibras de algodón o estructuras de sílice de diatomeas (algas planctónicas). También podrían usarse técnicas como la identificación con microscopía confocal Raman (Zhao *et al.*, 2017) para confirmar microplásticos o por tinción con Nile Red basado en fluorescencia (Maes *et al.*, 2017). Si bien son equipos muy costosos, sería interesante incorporar este tipo de metodologías en futuras investigaciones.

Análisis de microplásticos en Bahía Collins

Esta investigación registró densidades elevadas (hasta 24,64 items/m³) de MPs en un sitio remoto como la Antártida. A modo de ejemplo, otras investigaciones en aguas superficiales de zonas costeras urbanizadas a lo largo del mundo, han encontrado densidades entre 1,05 a 105 items/m³ (Liebezeit & Dubaish, 2012; Desforges *et al.*, 2014; Frias *et al.*, 2014; Lima *et al.*, 2014; Auta *et al.*, 2017).

Las densidades encontradas por esta investigación, además, son al menos un orden de magnitud superior con respecto a estudios en aguas superficiales de zonas cercanas en la Península Antártica, en el Estrecho de Bransfield y las Shetland como la investigación de Lacerda *et al.*, (2019) que registró densidades de $3,5 \times 10^{-3}$ a $0,75 \times 10^{-3}$ items/m³ ($3524-755$ items.km⁻²). A su vez, otras investigaciones han encontrado densidades entre 0,046-0,099 items/m³ (Isobe *et al.*, 2017), $1,88 \times 10^{-4}$ - $7,77 \times 10^{-4}$ items/m³ (188 ± 589 items.km², Suaria *et al.*, 2020), y de 0,0032 a 1,18 items/m³ en el Mar de Ross (Cincinelli *et al.*, 2017). Las diferentes aproximaciones metodológicas de estas investigaciones dificultan la comparación de los resultados obtenidos. Diferentes metodologías pueden influir en las densidades de MPs halladas, ya sea por la utilización de diferentes redes para la extracción de las muestras, como de mallas de filtrado durante el análisis de laboratorio (Wang *et al.*, 2020). Estudios como Lindeque *et al.*, (2020) afirman que pueden existir subestimaciones de las

concentraciones de microplásticos marinos según el tamaño de la malla de las redes usadas, siendo más efectivas aquellas de menor tamaño. Por ejemplo, esta investigación utilizó una red tipo manta de 220 μm y una malla para filtración de 100 μm , mientras que en el estudio de Lacerda *et al.*, 2019 se utilizó una red tipo manta con tamaño de malla de 330 μm , sin filtración de las muestras y Suaria *et al.*, 2020 una red para neuston de 200 μm . En ese sentido, nuestro estudio utilizó los tamaños más pequeños y por lo tanto potencialmente más efectivos, sin embargo, resulta necesario avanzar hacia una estandarización de las metodologías utilizadas, incluyendo no solo el muestreo, sino también la separación, identificación y cuantificación de los MPs considerando la diversidad de polímeros, tamaños formas y densidades (Twiss, 2016; Lv *et al.*, 2019).

Por otro lado, los estudios mencionados fueron realizados en zonas marinas diferentes a la de este estudio, siendo Absher *et al.* (2019) el único estudio encontrado que fue realizado en una zona marino-costera. Este estudio se realizó en los veranos de 2010 y 2011 en Bahía Almirantazgo, una zona similar a la Bahía Collins, sin embargo en este estudio se centró únicamente en las microfibras presentes en muestras de zooplancton, por lo cual su comparación con este estudio no es posible.

Por lo tanto, las densidades encontradas también pueden ser explicadas por las características de la zona de estudio, ya que una bahía puede tener una mayor probabilidad de retención de plásticos que otros sitios de la Península Antártica, más alejados de la costa, expuestos y menos protegidos. Cabe destacar además, que en la Península de Fildes se desarrollan una gran cantidad de actividades antrópicas, asociadas a las bases científicas pero también a las actividades del turismo. Esto hace que además de los plásticos que puedan estar llegando por circulación del agua marina desde otras zonas e incluso latitudes menores, exista una mayor probabilidad de aportes desde tierra debido justamente a estas actividades humanas que pueden no ser tan frecuentes en zonas de la Antártida más alejadas y menos frecuentadas (Waller *et al.*, 2017; Kuklinski *et al.*, 2019). En el estudio de Lacerda *et al.* (2019) el sitio de muestreo N°4 tendría características más similares a la de este estudio, ya que está ubicado en un área cercana a la península. En este sitio los autores registraron concentraciones de MPs de al menos un orden de magnitud inferior a las observadas en Bahía Collins, sugiriendo que sitios con estas características podrían estar influenciados por corrientes costeras que retienen plásticos, y presentar influencia de fuentes terrestres. Complementando esta hipótesis, Llanillo *et al.*, 2019 describe a la Bahía Collins como un fuerte fiordo estratificado y con un aumento reciente de la flotabilidad a través del calentamiento y la renovación de la capa superficial, relacionado con el progreso del verano austral, la cual afecta a los 80 m superiores. Además, este estudio demuestra una mayor retención de agua de deshielo en la zona. Ambos aspectos podrían indicar un mayor aporte de MPs terrestres, y una mayor flotabilidad de los mismos en el agua superficial, pero no explicaría la reducción en la densidad de MPs entre los años muestreados.

Al considerar todos los plásticos encontrados, se pudo observar que la mayor parte estaba representada por los tamaños más pequeños entre 1 y 1000 μm . Aquellos menores a 220 μm no fueron considerados para el cálculo de las densidades en este estudio ya que este fue el tamaño de la malla de la red utilizada para la extracción de las muestras. Además, para el procesamiento de las muestras se utilizó un tamaño más pequeño (100 μm). La alta presencia de las fracciones de menor tamaño se podría asociar a tres hipótesis. La primera se enfoca en la formación de agregados de partículas del mismo tipo, en este caso MPs, resultando en tamaños mayores que son retenidos por la red o malla (homoagregados *sensu*

Alimi *et al.*, 2018). La segunda hipótesis se enfoca en la formación de agregados de MPs y materia orgánica, ya sea vegetal o animal (heteroagregados *sensu*, Alimi *et al.*, 2018). Por ejemplo, varias muestras presentaron salpas y/o macro algas que obstruyen la red, pudiendo quedar pegados los MPs más pequeños en su superficie. Sin embargo, entre estas dos hipótesis se ha visto que la más probable en ambientes acuáticos naturales es la segunda, debido a procesos de sedimentación, filtración y resuspensión (revisado en Wang *et al.*, 2020). Por último, también podría deberse a algún tipo de contaminación ya sea durante el muestreo donde no fue posible su evaluación por no haber sido considerada en el diseño, o durante el procesamiento de las muestras, en este caso prescindió a los controles y blancos utilizados.

Las fibras estuvieron presentes en todas las zonas muestreadas, y fueron las más abundantes. Los fragmentos fueron escasos, y no se encontraron en 5 muestras (1 de 3 muestras de 2016 Z_1 , todas las muestras de 2018 Z_1 y una de dos muestras tanto para aquellas de 2018 Z_2 como de Z_3). A su vez dos muestras presentaron únicamente un ítem (en 2016 Z_1 y en 2018 Z_2). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas para ninguno de estos tipos de plástico entre zonas. En este sentido la hipótesis propuesta no tuvo apoyo en base a la evidencia, ya que no se registraron mayores abundancias en aquellas zonas con mayor población permanente (i.e. Zona 2 BCAA). Esto podría deberse a que la fuente principal de MPs en esta zona sea (similar con el paso de los años) difusa y la escala espacial del transporte de estos residuos sea mayor y no pueda detectarse con el diseño de muestreo realizado. En este sentido, cabe destacar la gran presencia humana que tiene la Península Fildes especialmente en verano, no solo debido a actividades en tierra sino a la presencia de embarcaciones científicas y cruceros turísticos en Bahía Maxwell, pudiendo aportar una gran cantidad de MPs como por ejemplo pintura, que podrían dispersarse fácilmente (Lacerda *et al.*, 2019; Suaria *et al.*, 2020). Por lo que las fuentes terrestres antárticas pueden ser significativas. En las inmediaciones de la BCAA se han detectado contaminación por metales pesados, virus entéricos, esteroides fecales, entre otros, ya que la fase líquida de las aguas residuales en las fosas sépticas ocasionalmente se filtra a los arroyos o cañadas de deshielo que desembocan en la Bahía Collins (Tort *et al.*, 2017). Debido a que el agua de lavandería también desemboca en estas fosas, es probable que exista un aporte de microfibras plásticas a la bahía por las filtraciones mencionadas. Estudios como el de Waller *et al.*, (2017) y Cincinelli *et al.*, 2017 destacan que las microfibras de la ropa sintética lavada en bases y barcos ingresan a las aguas antárticas, especialmente debido a los sistemas de tratamiento de desechos inadecuados y la inspección in situ limitada. Sin embargo, también podría deberse al hecho de que el mayor aporte de microplásticos no venga de la Antártida, sino de descartes de barcos que no necesariamente llegan a la Antártida, o por MPs transportados por corrientes marinas hasta este continente. Asimismo, podrían ser aportados por transporte atmosférico desde diversas zonas (Evangelidou *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2019), y también podría ser transportado por el hielo (Pfirman *et al.*, 1995).

En cuanto a la evolución temporal, la hipótesis inicial planteaba diferencias entre años (2016, 2017 y 2018) con mayores abundancias hacia la actualidad, pero tampoco se constató un aumento de densidades de MPs en los 3 años estudiados, sino una disminución. De confirmarse esta tendencia con el monitoreo que se está realizando, esto indicaría un desacople temporal entre el aumento de actividades en la Península Fildes y posibles generadoras de residuos plásticos, que puede ser sumamente relevante en zonas remotas

como la estudiada. Cabe destacar que para este estudio no fue posible determinar diferencias entre zonas para cada año, excepto para 2016, ya que 2018 presentó únicamente 2 réplicas en cada zona y 2017 no presentó réplicas. Por lo que, de igual manera, la falta de réplicas podría estar influenciando la disminución de MPs registrada con el paso de los años. También puede ser parte de cierta variabilidad atmosférica asociada a la temperatura y el patrón e intensidad de vientos. Por ejemplo, Venturini *et al.* (2020) detectó un mayor aporte de materia orgánica en Z_2 de 2017 que en Z_2 de 2016, estudio el cual utiliza las mismas 3 zonas de muestreo. De acuerdo a los aportes de Stuecker *et al.* (2017) esta diferencia pudo deberse a que en 2017 se produjo un mayor derretimiento de los glaciares y un aumento de la escorrentía de agua de deshielo debido a un aumento en la temperatura. Además, González-Pleiter *et al.* (2020) detectaron la presencia de MPs en hielo del Lago Ionosférico, ubicado en las inmediaciones de la BCAA y conectado con la Bahía Collins a través de distintas cañadas de deshielo. Sin embargo, nuestro estudio encontró las mayores densidades de MPs en el verano de 2016 que fue el menos cálido, con la densidad máxima en la zona influenciada por el Glaciar Collins (Z_1) y una alta densidad la zona sin influencia del glaciar y de la BCAA (Z_3). A pesar de esto, sí se pudieron observar densidades altas en las zonas influenciadas por el retroceso de glaciares y entradas de agua de deshielo (Z_1 , Z_2) en 2017. Resulta necesario por lo tanto continuar con el monitoreo para observar si la tendencia a la disminución de densidades se mantiene, y si existe una correlación entre la cantidad de MPs encontrado en las diferentes zonas y la temperatura ambiente registrada para cada año.

Si bien no fue posible en este estudio identificar con exactitud la composición de los MPs encontrados, se podría inferir que gran parte de los fragmentos encontrados pertenecerían a restos de pintura, debido a que sus colores (rojo, negro y azul) son de los que más abundan en las bases antárticas, siendo un indicador del aporte terrestre antes mencionado. El estudio se realizó en la Península Fildes, la cual es una zona cercana a América del Sur y además donde hay mayor concentración de población por superficie (Waller *et al.*, 2017; Kuklinski *et al.*, 2019), por lo que sería esperable que se obtengan las mayores densidades de microplásticos que en zonas más lejanas como el Mar de Ross. Por lo que se puede especular que los microplásticos encontrados en Bahía Collins puedan provenir de América del Sur, aunque otra parte también pueda deberse a residuos provenientes de las bases científicas o turismo. Debido a la función tipo barrera que genera la ACC, puede que el aporte desde otros continentes sea bajo, sin embargo no es un sistema cerrado y pueden haber eventuales entradas de materiales desde latitudes menores (Lacerda *et al.*, 2017). Estas entradas podrían explicar mejor la gran cantidad de fibras plásticas, las cuales pueden provenir mayoritariamente de la industria textil. Probablemente las actividades terrestres en la Península estén aportando más fragmentos provenientes de la degradación de macroplásticos que ya se han detectado tanto en playas como en agua (Laganà *et al.*, 2019; Bergami *et al.*, 2020), los cuales han denotado un origen mayoritariamente antártico (espumas, bolsas, envoltorios, gomas y botellas). Nuestros resultados confirman que esta región no está exenta de la contaminación plástica marina y que posiblemente esto se deba a la falta de medidas para el correcto tratamiento y gestión de residuos en la zona, incluyendo por ejemplo aguas residuales, residuos de macroplásticos, materiales de aislamiento y construcción, y artes de pesca, tanto de tierra como del mar. En particular, la presencia de una gran variedad de posibles pinturas, otros fragmentos y fibras plásticas que provengan de las actividades científicas y turísticas que se realizan en este continente, debería ser un llamado de atención urgente para la implementación de una mejora en la gestión y tratamiento de residuos.

Experimento de interacción entre microplásticos y zooplancton

Las tasas de aclarado calculadas muestran que *Daphnia sp.* consumió MPs en tratamientos donde solo se les ofreció MPs en concentraciones bajas y altas, y también en combinación con alimento natural (fitoplancton). Además, la mortalidad de *Daphnia sp.* en el tratamiento con MPs a altas concentraciones fue del 100%, tratamiento donde también se presentó la tasa de aclarado más alta de todo el experimento.

Para el análisis de las tasas de aclarado, es pertinente tener en cuenta que estas pueden verse afectadas por el tamaño del organismo, temperatura, y tipo y concentración de alimento ofrecido (Bämstedt et al., 2000; Reynolds, 2006). El tamaño no debería haber afectado las tasas de aclarado debido a que los organismos no poseían tamaños significativamente diferentes (promedio 1,5 mm) entre los tratamientos. A su vez, la temperatura no influyó en de estas tasas ya que el experimento se realizó a 21°C en oscuridad durante toda su duración. Por otro lado, se utilizaron *Cryptomonas sp.* las cuales son un alimento palatable para cladóceros, y se encuentran dentro del rango de tamaños de los cuales se alimentan (Reynolds, 2006).

El promedio de tasa de aclarado de fitoplancton para el tratamiento con únicamente fitoplancton fue de $0,13 \pm 0,04$ ml/ind.h, siendo considerablemente baja comparado con otras investigaciones que utilizaron individuos de *Daphnia* con tamaños similares. Por ejemplo Müller, M. F. (2018) obtuvo tasas de aclarado en *Daphnia magna* de alrededor de 1,59 ml/ind.h en individuos de igual tamaño al utilizado por este experimento. Sin embargo, este obtuvo tasas mucho mayores, lo cual se puede deber a que el fitoplancton utilizado no es el mismo, y que se utilizaron concentraciones iniciales bastante superiores a este estudio (1000 mg/l).

Las tasas de aclarado de fitoplancton en el tratamiento con microplásticos a bajas concentraciones (F+M1) fueron similares al tratamiento con únicamente fitoplancton ($0,081 \pm 0,061$ ml/ind.h). Sin embargo, en el tratamiento con microplásticos a concentraciones altas (F+M10) las tasas de aclarado fueron significativamente mayores ($0,242 \pm 0,027$ ml/ind.h). Esto puede deberse a una mayor cantidad de partículas totales en el tratamiento (F+M10), ya que se espera que a mayor concentración de partículas ocurra mayor filtración por parte de *Daphnia*, o a la formación de agregados entre fitoplancton y microplásticos, siendo la existencia de estos demostrada por Lagarde *et al.*, 2016, los cuales facilitan la ingestión de microplásticos. Según la primera explicación, es pertinente tener en cuenta que *Daphnia* como especie planctónica dulceacuícola posee una respuesta funcional de tipo II, esto quiere decir que a corto plazo responden a un incremento de la concentración de alimento a través del aumento de la tasa de ingesta, la cual aumenta hasta un nivel máximo (I_{max}), y ocurre a una concentración del recurso umbral (Concentración Limitante Incipiente, CLI) (Gentleman & Neuheimer, 2008). A mayores concentraciones de la CLI, la tasa de ingesta se mantiene constante mediante la disminución de la actividad de filtración y por el rechazo del exceso de partículas (Martínez, 2000). Por lo tanto, *Daphnia* consume más fitoplancton en presencia de mayores concentraciones de microplásticos por el hecho de que existe una mayor concentración de partículas totales y/o por la formación de agregados entre fitoplancton y microplásticos. Otro estudio como el de Colomer *et al.* (2019) sí encontró diferencias

significativas entre las tasas de aclarado con microplásticos y aquellas que no los poseían (solo fitoplancton), siendo mayores en el último caso.

El promedio de tasa de aclarado de MPs en los tratamientos con únicamente microplásticos fue de $0,69 \pm 0,44$ ml/ind.h a bajas concentraciones (M1) y $0,91 \pm 0,54$ ml/ind.h a altas concentraciones (M10), mientras que los que poseen fitoplancton y microplásticos a bajas concentraciones (F+M1) fue de $0,48 \pm 0,45$ ml/ind.h, y a altas concentraciones (F+M10) de $0,28 \pm 0,93$ ml/ind.h, siendo que no hay diferencias significativas entre ninguna de estas. Esto nos indica que *Daphnia* consumiría los microplásticos de igual manera, indiferentemente de las concentraciones de MPs ni de la presencia de fitoplancton. Sin embargo, estudios como Colomer *et al.* (2019) encontraron diferencias, siendo que aclara más microplásticos cuando está en conjunto con el fitoplancton. Cabe destacar que, este experimento expuso a *Daphnia magna* de 2.0 ± 0.2 mm y 2.4 ± 0.2 mm por un día a una concentración de 0,09 g/l MPs y aproximadamente obtuvo tasas de 2,3 ml/ind.h cuando se encontraba en la misma relación con fitoplancton (*Spirulina sp.*, $8,4 \pm 0,5$ mg/L) y de 2,1 ml/ind.h aproximadamente cuando hay únicamente microplásticos. Por lo que este utilizó concentraciones de MPs de un orden o dos de magnitud mayores a nuestro experimento y menor concentración inicial de fitoplancton, lo que puede explicar tanto estas diferencias como las encontradas en tasas de aclarado de fitoplancton.

Cabe destacar que se encontró una gran variabilidad en los datos de las tasas de aclarado para los tratamientos con MPs. Esto se debe a que en la mayoría de los tratamientos, una de las tres réplicas siempre obtuvo tasas de aclarado de un orden de magnitud menor a las otras dos. A su vez, se detectaron valores negativos en las tasas de aclarado de MPs, lo cual se debió a que la concentración final de microplásticos de los controles fue menor a la de esos tratamientos. La causa de esto podría ser debido al uso de una solución general de la dilución de los plásticos, del cual se extrajo lo necesario para cada unidad experimental, y que a pesar de que se homogeneizó antes de extraer, las concentraciones podrían diferir entre el control y los tratamientos. También podría deberse a la agregación de MPs, y que en el conteo final no puedan diferenciarse como varios ítems, por lo cual pudo haberse subestimado la cantidad de MPs presente en los controles (Anexo, Figura VI). Un aumento del volumen de experimentación utilizado puede contribuir también a mejorar la precisión en los conteos.

Por otro lado, el tratamiento con mayor tasa de aclarado (MPs a alta concentración, M10) tuvo una mortalidad del 100% en todas sus réplicas. Otros estudios han comprobado mayor mortalidad o inmovilidad cuando los MPs son de formas irregulares, debido a las mayores dificultades de los organismos para excretarlos, pudiendo generar bloqueos intestinales con implicaciones para la nutrición de los organismos (Frydkjær *et al.*, 2017; Wright *et al.*, 2013). Además, se podría hipotetizar que la acción de limpieza de las setas alimenticias podría provocar un aumento del consumo de oxígeno, lo que en el caso de nuestro experimento podría haber llevado a una depleción total del mismo en los viales utilizados, los cuales fueron de pequeño volumen (8 ml). Nuevos experimentos serían necesarios para evaluar esta hipótesis. Por otro lado, no se observó mortalidad en aquellos tratamientos en presencia de fitoplancton y MPs a altas concentraciones (F+M10). Otros estudios han confirmado que la mortalidad en *Daphnia* parece ser menor cuando los MPs se combinan con alimento natural (Yu *et al.*, 2020). Además, la mortalidad puede ser explicada por el tipo de microplásticos utilizado el cual es irregular (no comerciales, tipo microbeads) y que a mayores

concentraciones más probabilidad de que se generen aglomeraciones, y por lo tanto partículas de mayor tamaño, que obstruyan el sistema digestivo.

CONCLUSIONES

(1) La metodología propuesta permitió un análisis rápido de microplásticos encontrados en muestras de agua marinas. La microscopía de luz polarizada (PLM) demostró ser una herramienta útil para la detección de partículas plásticas de tamaños entre 220 y 5000 μm en muestras de agua de la Bahía Collins, las cuales poseen, en general, baja cantidad de materia orgánica y arena.

(2) La densidad de microplásticos en la Bahía Collins, Antártida observada con la metodología propuesta presentó valores de densidad elevados en comparación a otras investigaciones en aguas superficiales marinas u oceánicas de este continente. Esto podría estar relacionado a la cercanía con fuentes terrestres, aporte a través de cañadas de deshielo, y procesos de deshielo. Las densidades fueron mayores en 2016 y 2017 que en 2018, hallándose diferencias significativas entre 2018 y 2016, por lo que se encontró una distribución temporal con una tendencia a la disminución de densidades con el paso de los años, contrario a lo que se esperaba. Sin embargo, se encontraron mayores densidades en las zonas de muestreo influenciadas por hielo y deshielo durante 2017, que fue el verano más cálido. Nuevos muestreos son necesarios para evaluar si esta tendencia se mantiene en el tiempo, y si existe una correlación con otras variables ambientales como la temperatura. Las fibras fueron el tipo de MPs más abundante, y no se observaron patrones de distribución espacial heterogénea (no hubo diferencias entre las densidades entre zonas). A su vez, el tamaño predominante de MPs fue el rango más pequeño (0,001-220 μm) el cual no fue considerado para el cálculo de densidades en este estudio, ya que poseían un tamaño por debajo al de las redes que se usaron. Aunque los controles indicaron ausencia de contaminación durante el análisis de laboratorio, esto puede deberse a la agregación con otros elementos, ya sean MPs o materia orgánica, o la contaminación durante el muestreo o procesamiento.

(3) Se corroboró que *Daphnia sp.* ingirió microplásticos y que altas concentraciones (M10, 0,01 g/l) fueron letales (movilidad). A su vez, se encontró que las concentraciones más altas de MPs conducen a un aumento de la filtración de fitoplancton de *Daphnia*, y que ingirieron indiscriminadamente tanto MPs como *Cryptomonas sp.* En general, se puede concluir que organismos con características funcionales similares a *Daphnia sp.* (filtrador generalista) pueden ingerir MPs, y registrar mortalidad en casos de altas concentraciones debido a bloqueos intestinales, lo que podría afectar a poblaciones de estos organismos, con consecuencias para las tramas tróficas acuáticas. Para poder evaluar el impacto en organismos antártico será necesario una adecuación de la metodología utilizada a temperaturas, tamaños de MPs y unidades de experimentación.

PERSPECTIVAS

En próximas investigaciones sería ideal generar a partir de los resultados obtenidos un nuevo experimento con organismos zooplanctónicos filtradores antárticos marinos con las mismas concentraciones utilizadas por el experimento ya realizado, pero adecuando las condiciones de muestreo a las características de estos organismos, incluyendo temperatura, rangos de tamaño de MPs que consumen y tamaño de unidades de experimentación. Utilizando la misma metodología, pero sumándole mediciones de oxígeno para observar posibles

relaciones con un aumento del consumo de oxígeno cuando el organismo está en presencia de únicamente microplásticos a altas concentraciones.

A su vez, sería ideal ampliar la zona de muestreo en la Península Fildes. De esta manera se generará información sobre las densidades de MPs en otras costas de la Península para evaluar posibles patrones de distribución y movimiento de estas partículas. A su vez, sería necesario generar información sobre las características de las corrientes a mediana y pequeña escala en la Península, lo cual ayudará a comprender la distribución de estos plásticos, especialmente aquellos que provengan de la Antártida.

BIBLIOGRAFÍA

Abbasi S, Keshavarzi B, Moore F, Delshab H, Soltani N, Sorooshian A (2017) Investigation of microrubbers, microplastics and heavy metals in street dust: a study in Bushehr city. *Iran Environ Earth Sci* 76:1–19.

Abbasi S, Soltani N, Keshavarzi B, Moore F, Turner A, Hassanaghaei M (2018) Microplastics in different tissues of fish and prawn from the Musa Estuary, Persian Gulf. *Chemosphere* 205:80–87.

Abbasi S, Keshavarzi B, Moore F, Turner A, Kelly FJ, Dominguez AO, Jaafarzadeh N (2019) Distribution and potential health impacts of microplastics and microrubbers in air and street dusts from Asaluyeh County, Iran. *Environ. Pollut.* 244:153–164.

Absher, T. M., Ferreira, S. L., Kern, Y., Ferreira, A. L., Christo, S. W., & Ando, R. A. (2019). Incidence and identification of microfibers in ocean waters in Admiralty Bay, Antarctica. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(1), 292-298.

Alimi, O. S., Farner Budarz, J., Hernandez, L. M., & Tufenkji, N. (2018). Microplastics and nanoplastics in aquatic environments: aggregation, deposition, and enhanced contaminant transport. *Environmental science & technology*, 52(4), 1704-1724.

Allredge, A. L., & Madin, L. P. (1982). Pelagic tunicates: unique herbivores in the marine plankton. *Bioscience*, 32(8), 655-663.

Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine pollution bulletin*, 62(8), 1596-1605.

Andrady, A. L. & Neal, M. A. (2009) Applications and societal benefits of plastics. *Phil. Trans. R. Soc. B* 364,1977–1984.

Anfuso, G., Bolívar-Anillo, H. J., Asensio-Montesinos, F., Manzolli, R. P., Portz, L., & Daza, D. A. V. (2020). Beach litter distribution in Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. *Marine Pollution Bulletin*, 160, 111657.

Ascer, L. G (2015). Efeitos de microplástico na fisiologia do mexilhão *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae) (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Bergami, E., Rota, E., Caruso, T., Birarda, G., Vaccari, L., & Corsi, I. (2020). Plastics everywhere: first evidence of polystyrene fragments inside the common Antarctic collembolan *Cryptopygus antarcticus*. *Biology letters*, 16(6), 20200093.

Bessa, F., Ratcliffe, N., Otero, V., Sobral, P., Marques, J. C., Waluda, C. M., ... & Xavier, J. C. (2019). Microplastics in gentoo penguins from the Antarctic region. *Scientific reports*, 9(1), 1-7.

Barnes, D.K.A., Galgani, F., Thompson, R.C., Barlaz, M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol Sci.* 364, 1985-1998.

Barnes, D. K., Walters, A., & Gonçalves, L. (2010). Macroplastics at sea around Antarctica. *Marine environmental research*, 70(2), 250-252.

Barnes, D. K. A. & Milner, P (2005). Drifting plastic and its consequences for sessile organism dispersal in the Atlantic Ocean. *Mar. Biol.* 146, 815–825, <https://doi.org/10.1007/s00227-004-1474-8>.

Barboza, L. G. A., Cózar, A., Gimenez, B. C. G., Barros, T. L., Kershaw, P. J., & Guilhermino, L. (2019). Macroplastics Pollution in the Marine Environment. *World Seas: An Environmental Evaluation*, 305–328. doi:10.1016/b978-0-12-805052-1.00019-x

Bämstedt, U., Gifford, D. J., Irigoien, X., Atkinson, A., & Roman, M. (2000). Feeding. In R. Harris, P. Wiebe, J. Lenz, H. R. Skjoldal, & M. Huntley (Eds.), *ICES Zooplankton Methodology Manual* (10 ed., pp. 297–399). Academic Press.

Botterell, Z. L., Beaumont, N., Dorrington, T., Steinke, M., Thompson, R. C., & Lindeque, P. K. (2018). Bioavailability and effects of microplastics on marine zooplankton: A review. *Environmental pollution*.

Browne, M. A., Dissanayake, A., Galloway, T. S., Lowe, D. M., & Thompson, R. C. (2008). Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environmental science & technology*, 42(13), 5026-5031.

Cincinelli, A., Scopetani, C., Chelazzi, D., Lombardini, E., Martellini, T., Katsoyiannis, A., ... & Corsolini, S. (2017). Microplastic in the surface waters of the Ross Sea (Antarctica): occurrence, distribution and characterization by FTIR. *Chemosphere*, 175, 391-400.

Cole, M., Lindeque, P., Fileman, E., Halsband, C., Goodhead, R., Moger, J., & Galloway, T. S. (2013). Microplastic ingestion by zooplankton. *Environmental science & technology*, 47(12), 6646-6655.

Cole, M., Webb, H., Lindeque, P. K., Fileman, E. S., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2014). Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. *Scientific reports*, 4, 4528.

Cole, M., Lindeque, P., Fileman, E., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2015). The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod *Calanus helgolandicus*. *Environmental science & technology*, 49(2), 1130-1137.

Collard F, Gilbert B, Compère P, Eppe G, Das K, Jauniaux T, Parmentier E (2017) Microplastics in livers of European anchovies (*Engraulis encrasicolus*, L.). *Environ Pollut* 229:1000–1005.

Colomer, J., Müller, M. F., Barcelona, A., & Serra, T. (2019). Mediated food and hydrodynamics on the ingestion of microplastics by *Daphnia magna*. *Environmental Pollution*, 251, 434-441.

COUNCIL OF MANAGERS OF NATIONAL ANTARCTIC PROGRAMS (COMNAP) (2017). *Antarctic Station Catalogue*. ISBN 978-0-473-40409-3

Dawson, A. L., Kawaguchi, S., King, C. K., Townsend, K. A., King, R., Huston, W. M., & Nash, S. M. B. (2018). Turning microplastics into nanoplastics through digestive fragmentation by Antarctic krill. *Nature communications*, 9(1), 1001.

Dehaut, A., Cassone, A. L., Frère, L., Hermabessiere, L., Himber, C., Rinnert, E., ... & Duflos, G. (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.' (La contaminación del medio marino por los desechos de plástico: revisión), *Marine Pollution Bulletin*, 44, 842–85.

De Witte, B.; Devriese, L.; Bekaert, K.; Hoffman, S.; Vandermeersch, G.; Cooreman, K.; Robbens, K. (2014) – Quality assessment of the blue mussel (*Mytilus edulis*): Comparison between commercial and wild types. *Marine Pollution Bulletin*, 85(1):146-155.

Elías, R. (2015). Mar del plástico: una revisión del plástico en el mar.[Plastic Sea: a review of plastic at sea]. *Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero*, 27, 83-105.

Eriksen, M., Lebreton, L. C., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C. J., Borerro, J. C., ... & Reisser, J. (2014). Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. *PloS one*, 9(12), e111913.

Evangelidou, N., Grythe, H., Klimont, Z., Heyes, C., Eckhardt, S., Lopez-Aparicio, S., & Stohl, A. (2020). Atmospheric transport is a major pathway of microplastics to remote regions. *Nature communications*, 11(1), 1-11.

Fiala-Médioni, A. (1978). Filter-feeding ethology of benthic invertebrates (ascidians). IV. Pumping rate, filtration rate, filtration efficiency. *Marine Biology*, 48(3), 243-249.

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

Frydkjær, C.K., Iversen, N., Roslev, P., (2017). Ingestion and egestion of microplastics by the cladoceran *Daphnia magna*: effects of regular and irregular shaped plastic and sorbed phenanthrene. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* <https://doi.org/10.1007/s00128-017-2186-3>.
<http://link.springer.com/10.1007/s00128-017-2186-3>.

Gao, Y., Li, R., Gao, H., Hou, C., Jin, S., Ye, J., & Na, G. (2021). Spatial distribution of cumulative impact on terrestrial ecosystem of the Fildes Peninsula, Antarctica. *Journal of Environmental Management*, 279, 111735.

Gentleman, W. C., & Neuheimer, A. B. (2008). Functional responses and ecosystem dynamics: how clearance rates explain the influence of satiation, food limitation and acclimation. *Journal of Plankton Research*, 30(11), 1215–1231.

Gerdes, Z., Hermann, M., Ogonowski, M., & Gorokhova, E. (2018). A serial dilution method for assessment of microplastic toxicity in suspension. *bioRxiv*, 401331.

González-Pleiter, M., Edo, C., Velázquez, D., Casero-Chamorro, M. C., Leganés, F., Quesada, A., ... & Rosal, R. (2020). First detection of microplastics in the freshwater of an Antarctic Specially Protected Area. *Marine Pollution Bulletin*, 161, 111811.

González-Pleiter, M., Lacerot, G., Edo, C., Pablo-Lozoya, J., Leganés, F., Fernández-Piñas, F., ... & Teixeira-de-Mello, F. (2020). Brief communication: Atmospheric dry deposition of microplastics and mesoplastics in an Antarctic glacier: The case of the expanded polystyrene. *The Cryosphere Discussions*, 1-11.

Gorokhova, E., Konnecke, O., Ogonowski, M., Gerdes, Z., & Wiklund, A. K. E. (2018). Alterations in swimming behavior of *Daphnia* exposed to polymer and mineral particles: towards understanding effects of microplastics on planktonic filtrators. bioRxiv, 406587.

IAATO. (Octubre de 2018). Who is IAATO? Disponible en: <https://iaato.org/who-is-iaato>
<https://iaato.org/history-of-iaato>

Isobe, A., Uchiyama-Matsumoto, K., Uchida, K., & Tokai, T. (2017). Microplastics in the southern ocean. *Marine pollution bulletin*, 114(1), 623-626.

Ivar do Sul, J.A., Spengler, A., Costa, M.F., (2009). Here, there and everywhere. Small plastic fragments and pellets on beaches of Fernando de Noronha (Equatorial Western Atlantic). *Marine Pollution Bulletin* 58, 1236-1238.

Ivar do Sul JA, Barnes DKA, Costa MF, Convey P, Costa ES, Campos L (2011). Plastics in the Antarctic environment: Are we looking only at the tip of the iceberg? *Oecol Aust* 15: 150–170

Ivar do Sul, J. A., & Costa, M. F. (2014). The present and future of microplastic pollution in the marine environment. *Environmental pollution*, 185, 352-364.

Jambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., ... & Law, K. L. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, 347(6223), 768-771.

Jemec, A., Horvat, P., Kunej, U., Bele, M., & Kržan, A. (2016). Uptake and effects of microplastic textile fibers on freshwater crustacean *Daphnia magna*. *Environmental Pollution*, 219, 201-209.

Jespersen, A.M. & Christoffersen, K. (1987). Measurements of chlorophyll-a from phytoplankton using ethanol as extraction solvent. *Archiv für Hydrobiologie*, 109, 445-454.

Kelly, A., Lannuzel, D., Rodemann, T., Meiners, K. M., & Auman, H. J. (2020). Microplastic contamination in east Antarctic sea ice. *Marine Pollution Bulletin*, 154, 111130.

Kennicutt II, M. C., Bromwich, D., Liggett, D., Njåstad, B., Peck, L., Rintoul, S. R., ... & Cassano, J. (2019). Sustained Antarctic Research: A 21st century imperative. *One Earth*, 1(1), 95-113.

Kershaw, P., Turra, A., & Galgani, F. (2019). Guidelines for the Monitoring and Assessment of Plastic Litter in the Ocean-GESAMP Reports and Studies No. 99. GESAMP Reports and Studies.

Kuklinski, P., Wicikowski, L., Koper, M., Grala, T., Leniec-Koper, H., Barasiński, M., ... & Małecki, W. (2019). Offshore surface waters of Antarctica are free of microplastics, as revealed by a circum-Antarctic study. *Marine pollution bulletin*, 149, 110573.

Koelmans, A.A., (2015). 'Modeling the role of microplastics in bioaccumulation of organic chemicals to marine aquatic organisms.' A critical review. In *Marine anthropogenic litter*, 309–324. Springer, Berlin.

Lacerda, A. L. D. F., Rodrigues, L. D. S., Van Sebille, E., Rodrigues, F. L., Ribeiro, L., Secchi, E. R., ... & Proietti, M. C. (2019). Plastics in sea surface waters around the Antarctic Peninsula. *Scientific reports*, 9(1), 3977.

Lagarde, F., Olivier, O., Zanella, M., Daniel, P., Hiard, S., & Caruso, A. (2016). Microplastic interactions with freshwater microalgae: hetero-aggregation and changes in plastic density appear strongly dependent on polymer type. *Environmental pollution*, 215, 331-339.

- Laganà, P., Caruso, G., Corsi, I., Bergami, E., Venuti, V., Majolino, D., ... & Cappello, S. (2019).** Do plastics serve as a possible vector for the spread of antibiotic resistance? First insights from bacteria associated to a polystyrene piece from King George Island (Antarctica). *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 222(1), 89-100.
- Llanillo, P. J., Aiken, C. M., Cordero, R. R., Damiani, A., Sepúlveda, E., & Fernández-Gómez, B. (2019).** oceanographic Variability induced by tides, the intraseasonal cycle and Warm Subsurface Water intrusions in Maxwell Bay, King George island (West-Antarctica). *Scientific reports*, 9(1), 1-17.
- Lebreton, L., & Andrady, A. (2019).** Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. *Palgrave Communications*, 5(1), 1-11.
- Lebreton, L., Slat, B., Ferrari, F., Sainte-Rose, B., Aitken, J., Marthouse, R., ... & Noble, K. (2018).** Evidence that the Great Pacific Garbage Patch is rapidly accumulating plastic. *Scientific reports*, 8(1), 1-15.
- Lindeque, P. K., Cole, M., Coppock, R. L., Lewis, C. N., Miller, R. Z., Watts, A. J., ... & Galloway, T. S. (2020).** Are we underestimating microplastic abundance in the marine environment? A comparison of microplastic capture with nets of different mesh-size. *Environmental Pollution*, 114721.
- Lozoya, J. P., Carranza, A., Lenzi, J., Machín, E., de Mello, F. T., González, S., ... & Sciandro, J. (2015).** Management and research on plastic debris in Uruguayan Aquatic Systems: update and perspectives. *Revista de Gestão Costeira Integrada-Journal of Integrated Coastal Zone Management*, 15(3), 377-393.
- Lusher, A. L., Welden, N. A., Sobral, P., & Cole, M. (2017).** Sampling, isolating and identifying microplastics ingested by fish and invertebrates. *Analytical Methods*, 9(9), 1346-1360.
- Lv, L., Yan, X., Feng, L., Jiang, S., Lu, Z., Xie, H., ... & Li, C. (2019).** Challenge for the detection of microplastics in the environment. *Water Environment Research*.
- Maes, T., Jessop, R., Wellner, N., Haupt, K., & Mayes, A. G. (2017).** A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red. *Scientific Reports*, 7(1), 1-10.
- Martínez, G. (2000).** Conducta alimentaria de *Daphnia ambigua* Scourfield 1947, *Moina micrura* Kurz 1874 y *Ceriodaphnia dubia* Richard 1895 (Cladocera) frente a un gradiente de concentración de alimento. *Revista chilena de historia natural*, 73(1), 47-54.
- Medina, L. O., & Haro, V. M. (2016).** Informe proyecto piloto: evaluación del grado de ingestión de microplásticos en el recurso anchoveta (*Engraulis ringens*) frente a las costas de la IV región de Coquimbo-Chile, durante el invierno de 2016 (pp. 1).
- Moore, C. J. (2008).** Synthetic polymers in the marine environment: a rapidly increasing, long-term threat. *Environmental research*, 108(2), 131-139.
- Morales, C.E., Vargas, C.A., & Böttjer, D. (2009).** Ingestión y Consumo. In Alder, V. & Morales, C.E. (Eds). *Manual de métodos para el estudio de sistemas planctónicos marinos* (Primera Ed., pp. 177-200). Buenos Aires
- Müller, M. F. (2018).** *Daphnia magna* responses to zero-mean flow turbulence.

- Munari, C., Infantini, V., Scoponi, M., Rastelli, E., Corinaldesi, C., & Mistri, M. (2017).** Microplastics in the sediments of Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica). *Marine pollution bulletin*, 122(1-2), 161-165.
- Pertierra, L. R., Hughes, K. A., Vega, G. C., & Olalla-Tárraga, M. Á. (2017).** High resolution spatial mapping of human footprint across Antarctica and its implications for the strategic conservation of avifauna. *PloS one*, 12(1).
- Pfirman, S. L., Eicken, H., Bauch, D., & Weeks, W. F. (1995).** The potential transport of pollutants by Arctic sea ice. *Science of the Total Environment*, 159(2-3), 129-146.
- Plum, C., Hillebrand, H. & Moorthi, S. (2020).** Krill vs salps: dominance shift from krill to salps is associated with higher dissolved N:P ratios. *Scientific Reports* 10: 5911.
- Préndez Bolívar, M. M., Muñoz, V., Villanueva, V., Montero, J. C., & Godoy, J. (1996).** Estudio químico de las aguas continentales de Península Flides, Isla Rey Jorge, Antártica.
- Prata, J. C., Reis, V., da Costa, J. P., Mouneyrac, C., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. (2020).** Contamination issues as a challenge in quality control and quality assurance in microplastics analytics. *Journal of Hazardous Materials*, 403, 123660.
- Protocolo de Madrid, Madrid 4 de octubre de 1991,** Sistema del Tratado Antártico. Disponible en: <https://web.archive.org/web/20170806100259/http://www.ats.aq/s/ep.htm>
- Pruszk CZ (1980)** Current circulation in the waters of the Admiralty Bay (region of Arctowski Station on King George Island). *Pol Polar Res* 1:55–74
- Ratzsch, M., Haider, A., Muller, U., & Gosweiner, A. (2006).** Plastic products with high strength and flexibility. U.S. Patent Application No. 10/565,354.
- Reed, S., Clark, M., Thompson, R., & Hughes, K. A. (2018).** Microplastics in marine sediments near Rothera research station, Antarctica. *Marine pollution bulletin*, 133, 460-463.
- Rehse, S., Kloas, W., & Zarfl, C. (2016).** Short-term exposure with high concentrations of pristine microplastic particles leads to immobilisation of *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 153, 91-99.
- Retamales, J., & Rogan-Finnemore, M. (2011).** The Role of the Council of Managers of National Antarctic Programs. *Science Diplomacy: Antarctica, Science, and the Governance of International Spaces*.
- Reynolds, C. S. (2006).** *Ecology of Phytoplankton* (Second Edi., pp. 250–292). New York: Cambridge University Press.
- Rocha, R. J. M., Rodrigues, A. C. M., Campos, D., Cícero, L. H., Costa, A. P. L., Silva, D. A. M., ... & Silva, A. P. (2020).** Do microplastics affect the zoanthid *Zoanthus sociatus*?. *Science of The Total Environment*, 713, 136659.
- Rosenkranz, P., Chaudhry, Q., Stone, V., & Fernandes, T. F. (2009).** A comparison of nanoparticle and fine particle uptake by *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 28(10), 2142-2149.
- Setälä, O., Fleming-Lehtinen, V., & Lehtiniemi, M. (2014).** Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. *Environmental pollution*, 185, 77-83.

- Sfriso, A. A., Tomio, Y., Rosso, B., Gambaro, A., Sfriso, A., Corami, F., ... & Munari, C. (2020).** Microplastic accumulation in benthic invertebrates in Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica). *Environment International*, 137, 105587.
- Sierra, I., Chialanza, M. R., 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*, 1-11.
- Suaria, G., Perold, V., Lee, J. R., Lebouard, F., Aliani, S., & Ryan, P. G. (2020).** Floating macro-and microplastics around the Southern Ocean: Results from the Antarctic Circumnavigation Expedition. *Environment International*, 136, 105494.
- Song, Y. K., Hong, S. H., Jang, M., Han, G. M., Rani, M., Lee, J., & Shim, W. J. (2015).** A comparison of microscopic and spectroscopic identification methods for analysis of microplastics in environmental samples. *Marine Pollution Bulletin*, 93(1-2), 202-209.
- Stuecker, M. F., Bitz, C. M., & Armour, K. C. (2017).** Conditions leading to the unprecedented low Antarctic sea ice extent during the 2016 austral spring season. *Geophysical Research Letters*, 44(17), 9008-9019.
- Taghon, G. L. (1982).** Optimal foraging by deposit-feeding invertebrates: roles of particle size and organic coating. *Oecologia*, 52(3), 295-304.
- Thiele, C. J., Hudson, M. D., & Russell, A. E. (2019).** Evaluation of existing methods to extract microplastics from bivalve tissue: Adapted KOH digestion protocol improves filtration at single-digit pore size. *Marine pollution bulletin*, 142, 384-393.
- Tort, L. F. L., Iglesias, K., Bueno, C., Lizasoain, A., Salvo, M., Cristina, J., ... & Taniguchi, S. (2017).** Wastewater contamination in Antarctic melt-water streams evidenced by virological and organic molecular markers. *Science of the Total Environment*, 609, 225-231.
- Twiss, M. R. (2016).** Standardized methods are required to assess and manage microplastic contamination of the Great Lakes system. *Journal of Great Lakes Research*, 42(5), 921-925.
- Varnhorn, A. (2016).** Plásticos en el pescado y el marisco. Departamento Científico de Greenpeace
- Vegter, A. C., Barletta, M., Beck, C., Borrero, J., Burton, H., Campbell, M. L., ... & Gilardi, K. V. (2014).** Global research priorities to mitigate plastic pollution impacts on marine wildlife. *Endangered Species Research*, 25(3), 225-247.
- Venturini, N., Zhu, Z., Bessonart, M., García-Rodríguez, F., Bergamino, L., Brugnoli, E., ... & Zhang, J. (2020).** Between-summer comparison of particulate organic matter in surface waters of a coastal area influenced by glacier meltwater runoff and retreat. *Polar Science*, 26, 100603.
- Viršek, M. K., Palatinus, A., Koren, Š., Peterlin, M., Horvat, P., & Kržan, A. (2016).** Protocol for microplastics sampling on the sea surface and sample analysis. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (118), e55161

Vroom, R.J., Koelmans, A.A., Besseling, E., Halsband, C., (2017). Aging of microplastics promotes their ingestion by marine zooplankton. *Environ. Pollut.* 231, 987e996. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.088>

von Moos N, Burkhardt-Holm P, Koehler A (2012) Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the blue mussel *Mytilus edulis* L. after an experimental exposure. *Environ Sci Technol* 46:327–335

Wagner, M., Scherer, C., Alvarez-Muñoz, D., Brennholt, N., Bourrain, X., Buchinger, S., ... & Rodriguez-Mozaz, S. (2014). Microplastics in freshwater ecosystems: what we know and what we need to know. *Environmental Sciences Europe*, 26(1), 12.

Waller, C. L., Griffiths, H. J., Waluda, C. M., Thorpe, S. E., Loaiza, I., Moreno, B., ... & Hughes, K. A. (2017). Microplastics in the Antarctic marine system: an emerging area of research. *Science of the Total Environment*, 598, 220-227.

Wang, X., Bolan, N., Tsang, D. C., Sarkar, B., Bradney, L., & Li, Y. (2020). A review of microplastics aggregation in aquatic environment: Influence factors, analytical methods, and environmental implications. *Journal of Hazardous Materials*, 402, 123496.

Wright SL, Thompson RC, Galloway TS (2013). The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review. *Environ Pollut* 178:483–492. doi:10.1016/j.envpol.2013.02.031

Yu P.S, Cole M., Chan B.K.K (2020). Review: Effects of microplastics in zooplankton survival and sublethal responses. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, Volume 58. https://books.google.com.uy/books?hl=en&lr=&id=Mp4FEAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA351&ots=Y-QNuSw3Qh&sig=HNv-Vuyq5sqXqsL1Oy9eu9_z6r4#v=onepage&q&f=false

Zhang, Y., Gao, T., Kang, S., & Sillanpää, M. (2019). Importance of atmospheric transport for microplastics deposited in remote areas. *Environmental Pollution*, 254, 112953.

Zhao, S., Danley, M., Ward, J. E., Li, D., & Mincer, T. J. (2017). An approach for extraction, characterization and quantitation of microplastic in natural marine snow using Raman microscopy. *Analytical Methods*, 9(9), 1470-1478.

Zettler, E. R., Mincer, T. J., & Amaral-Zettler, L. A. (2013). Life in the “plastisphere”: microbial communities on plastic marine debris. *Environmental science & technology*, 47(13), 7137-7146.

AGRADECIMIENTOS

Primero que nada le agradezco a todo el grupo de *AntarPLAST* por haberme recibido y haberme dado tantas oportunidades excepcionales que me han ayudado a formarme como estudiante en el área que realmente resultó ser de lo que más disfruto investigar y divulgar. También al Instituto Antártico Uruguayo que permitió este estudio y nuestra campaña del verano 2020.

Un agradecimiento especial a el grupo de la campaña de verano antártica del 2020 por escucharme, asesorarme y trabajar juntos (Franco, Gige, Fio, Barbi y Migue).

A mis tutores Gige y Juan Pablo que me ayudaron a entender como es realizar una investigación de tesis, y que siempre estuvieron a disposición para todo rápidamente. Y al tribunal de la Dra. Natalia Venturini y el Dr. Angel Segura por asesorarme y hacer de mi tesis un mejor trabajo.

También a todas las chicas del lab del CURE siempre a atentas y a disposición para ayudar en lo que sea (Margenny, Maites) y especialmente al team plástico de Cami Vidal y Barbi.

Sin dudas que mis amigos y familia me dieron un gran apoyo en toda esta etapa que fue esencial para seguir avanzando. Gracias a mis padres, mi hermana Karin y a Gastón. Le agradezco también a todos mis grupos de amigos (Franco, Barbi, China, Dami, Sofa, Bel, Vicky, Flo, Tato, Jelu, Pache, Nacho, Dani, Juan, Pepe, Mery, Cata, Cance, Vico, Pau y Polo).

Gracias a todos, y ya nos veremos en la próxima etapa!

ANEXO

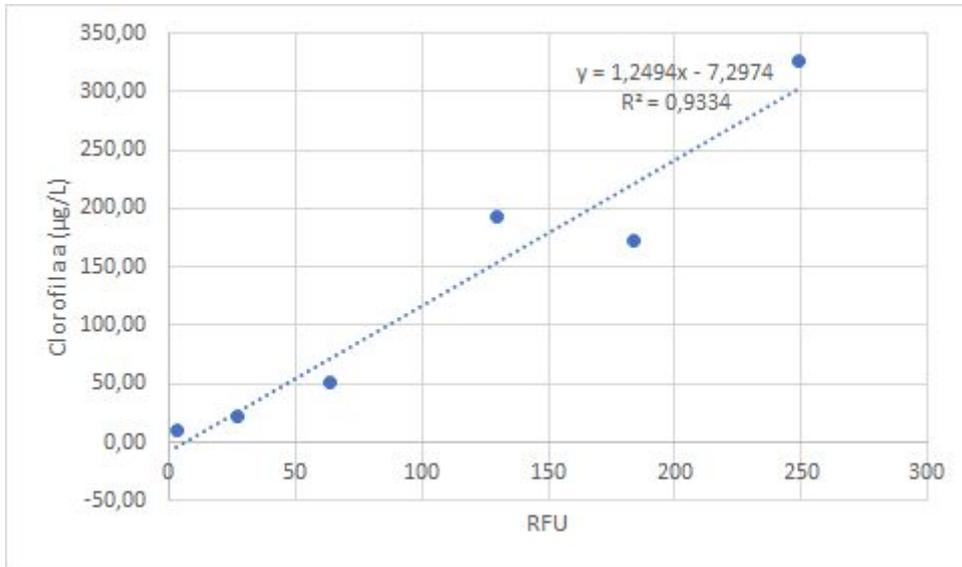


Figura I. Curva de calibración de clorofila-a ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, método químico Jespersen & Christoffersen, 1987) y fluorimetría in vivo (RFU).

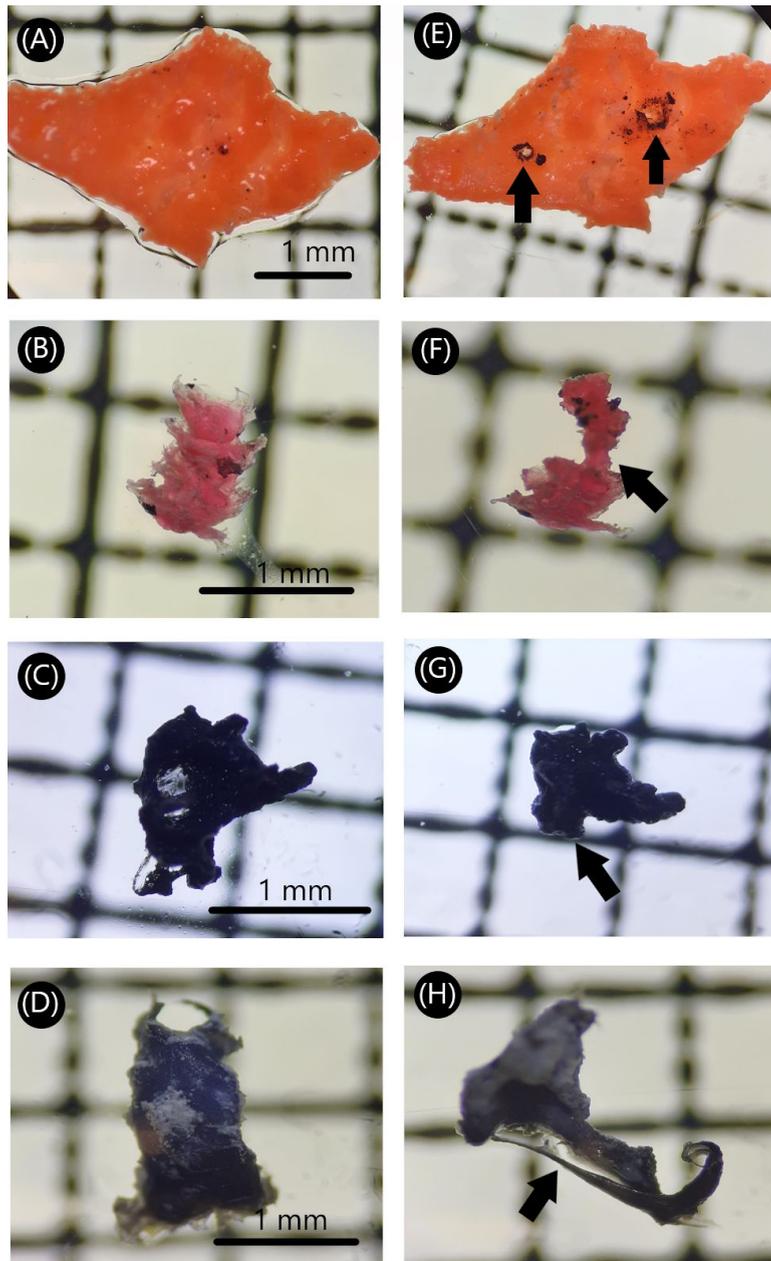


Figura II. Fotografías de fragmentos microplásticos a la lupa antes (A, B, C, D) y luego (E, F, G, H) de la prueba de quemado.

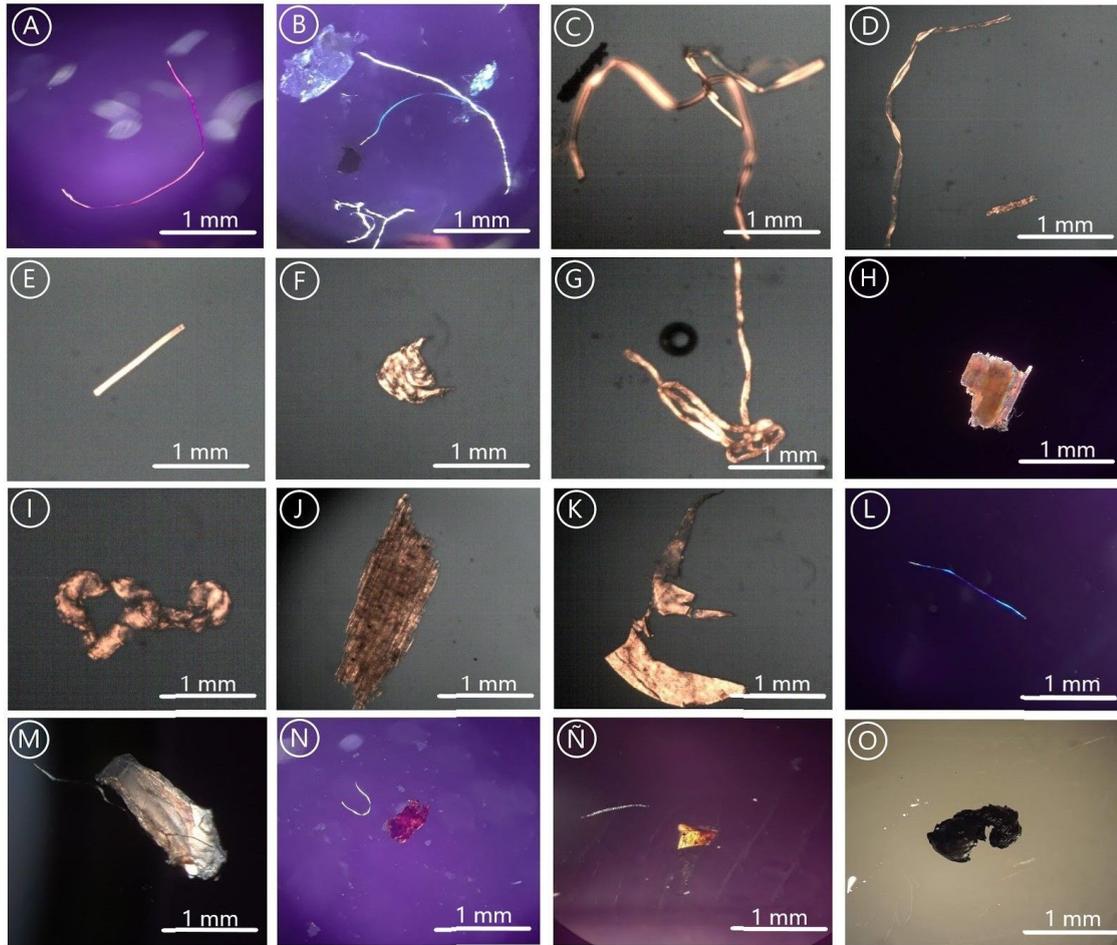


Figura III. Imágenes de microplásticos (fibras y fragmentos) tomadas por software y con cámara directo al microscopio óptico con filtro de luz polarizada de muestras 2016; pertenecen (A - F) a zona 1 (G-I) a zona 2 y (J-O) a zona 3.



Figura IV. Imágenes de microplásticos (fibras y fragmentos) tomadas por software al microscopio óptico con filtro de luz polarizada de muestras 2017; pertenecen todas a la zona 1 exceptuando C que pertenece a la zona 2 y D a zona 3.

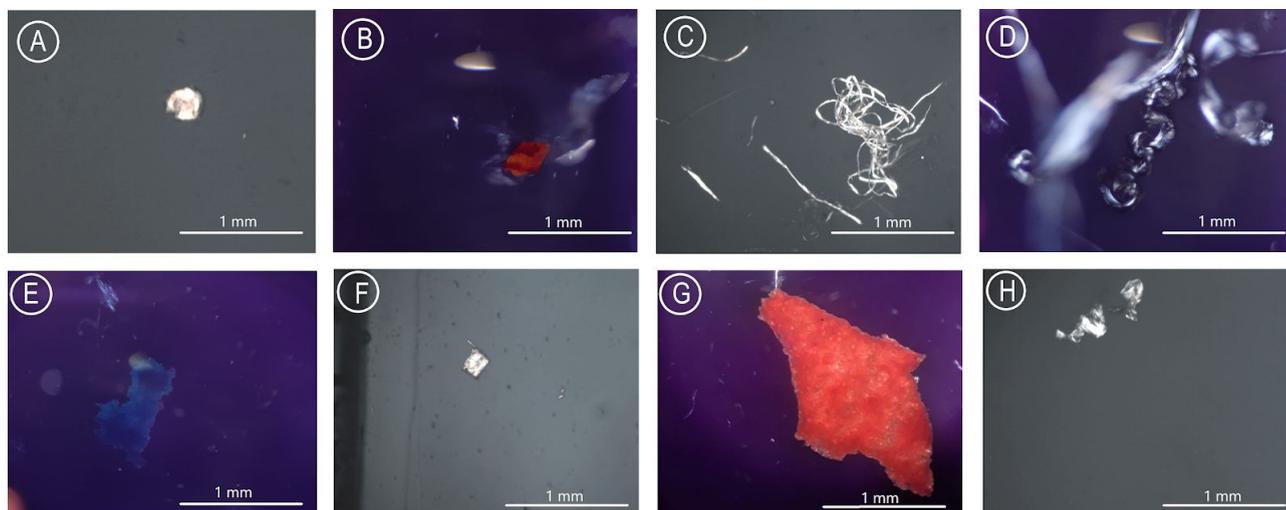


Figura V. Imágenes de microplásticos (fibras y fragmentos) tomadas por software al microscopio óptico con filtro de luz polarizada de muestras 2018; pertenecen (A), (C), (E) a zona 1, (B), (D), (H) a zona 2 y (F), (G) a zona 3.

Tabla I. Promedios de densidad de fibras, fragmentos y ambos con sus respectivos desvíos, de cada zona en cada año, considerando MPs desde 220 a 5000 μm .

Fecha, Zona	Promedio Densidad total (items/ m^3)	Promedio Densidad fibras (items/ m^3)	Promedio Densidad fragmentos (items/ m^3)
2016, Z1	18,5 \pm 8,0	17,8 \pm 7,9	0,7 \pm 0,2
2016, Z2	6,8 \pm 10,7	6,7 \pm 10,6	0,1 \pm 0,2
2016, Z3	14,9 \pm 6,7	14,3 \pm 6,5	0,6 \pm 0,3
2017, Z1	13,9 \pm 0,0	12,1 \pm 0,0	1,8 \pm 0,0
2017, Z2	7,8 \pm 0,0	7,7 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0
2017, Z3	4,1 \pm 0,0	3,9 \pm 0,0	0,2 \pm 0,0
2018, Z1	1,2 \pm 1,1	1,2 \pm 1,1	0,0 \pm 0,0
2018, Z2	0,5 \pm 0,2	0,5 \pm 0,2	0,0 \pm 0,0
2018, Z3	7,9 \pm 10,7	7,7 \pm 10,4	0,2 \pm 0,3

Tabla II. Porcentaje de densidades medias de microplásticos (fibras y fragmentos) y sus desvíos para cada zona y año, considerando MPs desde 220 a 5000 μm .

Fecha, Zona	Porcentaje de Fibras	Porcentaje de Fragmentos	Desvío Porcentaje de Fibras	Desvío Porcentaje de Fragmentos
2016, Z1	96,5	3,5	98,8	3,0
2016, Z2	98,3	1,7	98,4	1,6
2016, Z3	95,8	4,2	96,8	5,0
2017, Z1	87,1	12,9	0,0	0,0
2017, Z2	98,2	1,8	0,0	0,0
2017, Z3	95,2	4,8	0,0	0,0
2018, Z1	100,0	0,0	100,0	0,0
2018, Z2	97,9	2,1	108,1	8,1
2018, Z3	97,2	2,8	97,1	2,9

Tabla III. Tamaños medios de todos los microplásticos registrados (fragmentos y fibras) con sus desvíos, y tamaños mínimos y máximos para cada réplica de cada zona en muestreos 2016, 2017 y 2018.

Año, Zona	Tamaño medio frag. (µm)	Tam. Min. Frag. (µm)	Tam. Max. Frag. (µm)	Tamaño medio fibras (µm)	Tam. Min. Fibras (µm)	Tam. Max. Fibras (µm)
2016, Z1	458,0 ± 271,6	52,8	1028,4	1047,0 ± 729,7	101,8	4057,9
2016, Z1	446,0 ± 450,0	41,4	1679,4	810,0 ± 613,7	37,9	4656,2
2016, Z1	348,0 ± 261,9	34,2	1232,3	734,0 ± 621,9	58,6	4880,7
2016, Z2	226,0 ± 128,5	75,2	607,6	729,0 ± 581,7	63,3	4747,6
2016, Z2	86,0 ± 50,8	14,2	210,5	95,3 ± 70,7	14,4	461,1
2016, Z2	65,6 ± 125,7	7,7	704,7	93,2 ± 68,2	17,3	386,6
2016, Z3	448,0 ± 434,8	35,5	1936,8	789,3 ± 702,7	44,4	4816,3
2016, Z3	606,0 ± 320,7	151,1	1372,7	958,8 ± 779,7	105,7	4920,2
2016, Z3	409,0 ± 328,2	139,2	1201,7	679,0 ± 825,9	42,2	4625,5
2016, Z3	686,0 ± 618,9	140,1	2000,0	700,0 ± 470,5	61,3	3239,0
2017, Z1	521,0 ± 377,0	69,7	2556,4	864,0 ± 760,1	49,9	4650,8
2017, Z2	632,0 ± 685,4	215,4	2133,2	793,0 ± 678,2	83,3	4016,1
2017, Z3	542,0 ± 644,7	107,4	2781,5	742,0 ± 527,5	114,0	3244,2
2018, Z1	43,2 ± 29,3	3,9	100,9	99,78 ± 73,6	10,8	606,3
2018, Z1	62,8 ± 35,5	13,9	155,1	83,6 ± 58,7	11,9	505,7
2018, Z2	28,1 ± 15,0	7,3	56,6	65,0 ± 46,9	1,1	370,1
2018, Z2	71,6 ± 82,1	16,5	308,0	76,8 ± 58,1	13,2	370,6
2018, Z3	33,0 ± 20,3	8,5	72,4	75,3 ± 140,5	1,1	2444,3
2018, Z3	349,0 ± 495,0	13,2	3120,8	662,1 ± 653,1	13,8	4628,5

1) TA FITO

A) Fito+Daphnia

Tabla IV.

Tratamiento	Réplica	Concentraciones finales de Clorofila (mg/l)	Supervivencia Tf	TA fito	Tamaño Daphnia (um)	Volumen experimental (ml)	Tiempo (hs)	N°ind	Promedio Control	Promedio TA	Desvío TA
F+ D1	1	267,1	MUERTA	0,107	1594	8	4	1	281,8	0,130	0,041
F+ D2	2	257,8	VIVA	0,178	1321						
F+ D3	3	267,3	VIVA	0,105	1497						
C. F1	1	285,3									
C. F2	2	281,1									
C. F3	3	278,9									

B)Fito+M1+Daphnia

Tabla V.

Tratamiento	Réplica	Concentraciones finales de Clorofila (mg/l)	Supervivencia Tf	TA fito	Tamaño Daphnia (um)	Volumen experimental (ml)	Tiempo (hs)	N°ind	Promedio Control	Promedio TA	Desvío TA
F+ M1 + D1	1	144,6	VIVA	0,015	1483	8	4	1	145,7	0,085	0,064
F + M1 + D2	2	138,6	VIVA	0,100	1546						
F + M1 + D3	3	135,9	VIVA	0,140	1491						
C. F + M1 1	1	145,6									
C. F + M1 2	2	144,5									
C. F + M1 3	3	147,0									

C)Fito+M10+Daphnia

Tabla VI.

Tratamiento	Réplica	Concentraciones finales de Clorofila (mg/l)	Supervivencia Tf	TA fito	Tamaño Daphnia (um)	Volumen experimental (ml)	Tiempo (hs)	N°ind	Promedio Control	Promedio TA	Desvío TA
F + M10 + D1	1	130,8	VIVA	0,249	1489	8	4	1	148,1	0,255	0,028
F + M10 + D2	2	132,0	VIVA	0,230	1509						
F + M10 + D3	3	128,4	VIVA	0,285	1487						
C. F + M10 1	1	142,4									
C. F + M10 2	2	151,1									
C. F + M10 3	3	150,8									

2) TA MICRO

A)M1+Daphnia

Tabla VII.

Tratamiento	Réplica	Concentraciones finales de microplásticos (items/ml)	Supervivencia Tf	TA Micro	Tamaño Daphnia (um)	Volumen experimental (ml)	Tiempo (hs)	N°ind	Promedio Control (ug)	Promedio TA	Desvío TA
M1 + D1	1	1,40	VIVA	1,20	1138	8	4	1	2,55	0,69	0,44
M1 + D2	2	2,00	VIVA	0,49	1663						
M1 + D3	3	2,10	VIVA	0,39	1575						
C M1 (1)	1	2,50									
C M1 (2)	2	2,6									

B)M10+Daphnia

Tabla VIII.

Tratamiento	Réplica	Concentraciones finales de microplásticos (items/ml)	Supervivencia Tf	TA Micro	Tamaño Daphnia (um)	Volumen experimental (ml)	Tiempo (hs)	N°ind	Promedio Control (ug)	Promedio TA	Desvío TA
M10 + D1	1	46	MUERTA	0,25	1457	8	4	1	52,1	0,91	0,57
M10 + D2	2	28	MUERTA	1,24	1598						
M10 + D3	3	28	MUERTA	1,24	1653						
C M10 (1)	1	42,2									
C M10 (2)	2	62									

C)Fito+M1+Daphnia

Tabla IX.

Tratamiento	Réplica	Concentraciones finales de microplásticos (items/ml)	Supervivencia Tf	TA Micro	Tamaño Daphnia (um)	Volumen experimental (ml)	Tiempo (hs)	N°ind	Promedio Control	Promedio TA	Desvío TA
F+ M1 + D1	1	2,1	VIVA	-0,54	1483	8	4	1	1,6	-0,48	0,45
F + M1 + D2	2	1,6	VIVA	0,00	1546						
F + M1 + D3	3	2,5	VIVA	-0,89	1491						
C. F + M1 1	1	1,7									
C. F + M1 2	2	1,6									
C. F + M1 3	3	1,5									

D)Fito+M10+Daphnia

Tabla X.

Tratamiento	Réplica	Concentraciones finales de microplásticos (items/ml)	Supervivencia Tf	TA Micro	Tamaño Daphnia (um)	Volumen experimental (ml)	Tiempo (hs)	N°ind	Promedio Control	Promedio TA	Desvío TA
F + M10 + D1	1	54	VIVA	-1,31	1489	8	4	1	28	-0,28	0,93
F + M10 + D2	2	22	VIVA	0,48	1509						
F + M10 + D3	3	28	VIVA	0,00	1487						
C. F + M10 1	1	34									
C. F + M10 2	2	20									
C. F + M10 3	3	30									

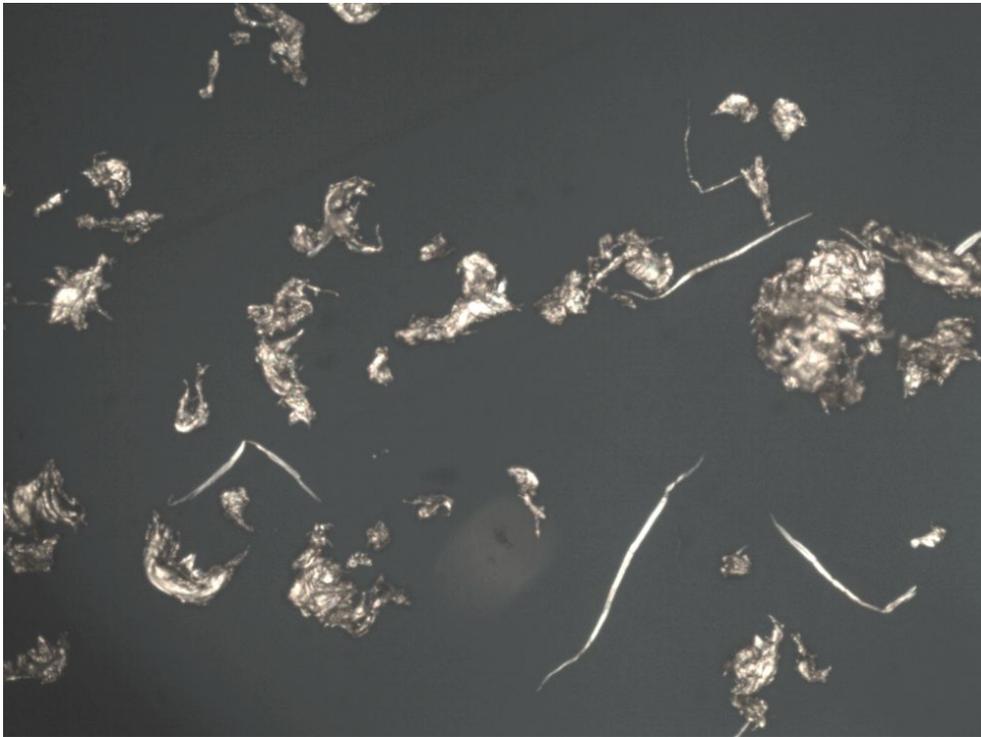


Figura VI. Fotografía mediante software de los microplásticos utilizados para el experimento con zooplancton.