
Microplásticos y su interacción con el zooplancton: ¿una vía de ingreso a las tramas tróficas acuáticas de la Antártida?



Tesis de Posgrado
Maestría en Ciencias Biológicas
(Subárea Ecología y Evolución)
PEDECIBA
Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Lic. Evelyn Krojmal

Directora: Dra. Gissell Lacerot

Co-director: Dr. Juan Pablo Lozoya

Índice de contenido

Resumen	6
1. Introducción	8
1.1. Plásticos en ecosistemas límnicos	8
1.2. Microplásticos en regiones remotas: la Antártida	9
1.3. Microplásticos y su interacción con el zooplancton	10
1.4. Microplásticos y su interacción con organismos de las redes tróficas límnicas antárticas	11
2. Objetivos	15
3.1. Objetivo general	15
3.2. Objetivos específicos	15
3. Hipótesis y predicciones	15
4. Metodología	17
4.1. Área de estudio	17
4.2. Colecta de muestras de agua	19
4.3. Preparación de muestras e identificación de los microplásticos	19
4.4. Identificación de polímeros	21
4.5. Especies límnicas seleccionadas	22
4.6. Diseño experimental	24
4.7. Análisis de experimentos	26
4.8. Análisis estadísticos	28
5. Resultados	29
5.1. Microplásticos en sistemas límnicos antárticos	29
5.2. Análisis del diseño experimental	32
5.2.1. Tamaño y composición de los MPs utilizados en el experimento	32
5.2.2. Desarrollo del biofilm bacteriano en los MPs utilizados en el experimento	34
5.2.3. Tamaños de los organismos seleccionados para los experimentos	35
5.3. Experimento con <i>Boeckella poppei</i>	36
5.4. Experimento con <i>Branchinecta gaini</i>	39
6. Discusión	43
6.1. Microplásticos ambientales	43
6.2. Experimentos de consumo y sobrevivencia de <i>Boeckella poppei</i> y <i>Branchinecta gaini</i> .	48
6.3. Sobrevivencia de <i>Boeckella poppei</i> y <i>Branchinecta gaini</i> a las condiciones experimentales	48
6.4. Consumo de microplásticos por <i>Boeckella poppei</i> y <i>Branchinecta gaini</i>	49
6.5. Tasas de aclarado y de ingestión de MPs en <i>Boeckella poppei</i>	51
6.6. Tasas de aclarado y de ingestión de MPs en <i>Branchinecta gaini</i>	51
6.7. Impactos del consumo de microplásticos en <i>Boeckella poppei</i> y <i>Branchinecta gaini</i>	52
7. Conclusiones	56
8. Perspectivas	58
Referencias bibliográficas	59
Anexos	78

Índice de figuras

Figura 1. Esquema de red trófica de lagos antárticos marítimos simplificada.....	13
Figura 2. (1) Ubicación de la Isla Rey Jorge, en las Islas Shetland del Sur en la Antártida. (2) Ubicación de Base Artigas en Península Fildes (Isla Rey Jorge). (3) Ubicación de la Base Científica Antártica Artigas, el Lago Uruguay y el Lago Ionosférico (A- entrada y B- salida) en sus inmediaciones y la Bahía Collins ubicada al norte de la Bahía Maxwell.....	16
Figura 3. Muestreo con red tipo Surber en el Lago Ionosférico (A) entrada de agua de deshielo y (B) salida hacia el arroyo AINA.	17
Figura 4. Esquema del procesamiento de las muestras de agua.	18
Figura 5. (A) Placas de Petri con filtros gf/c con los MPs extraídos de las muestras analizadas bajo lupa previo a su análisis en el micro-FTIR. (B) Ejemplo de MPs en el disco de KBr que fueron separados desde los filtros gf/c al disco mediante una lupa (C). (D,E) Ejemplo de imágenes de MPs tomadas en el análisis de micro-FTIR. (F) Ejemplo de espectro en el programa OMNIC, que en este caso se asignó la PA a un polímero de resina alquídica.	20
Figura 6. (1) Imagen del fondo del Lago Uruguay, donde se pueden observar la presencia de <i>Boeckella poppei</i> (A) y <i>Branchinecta gaini</i> (B). Ejemplares de hembras adultas con huevos de <i>Boeckella poppei</i> (A; obtenida del Lago Uruguay) y <i>Branchinecta gaini</i> (B; obtenida del Lago Ionosférico).	22
Figura 7. Diseño del experimento. A la izquierda se observa el tratamiento con dos concentraciones de MPs: MP1 (0,01 g/l) y MP10 (0,1 g/l) sin biofilm, y a la derecha con previa incubación en agua filtrada del lago. Los controles y tratamientos tuvieron 5 réplicas cada uno. Se realizó un experimento con <i>Branchinecta gaini</i> , y otro igual con <i>Boeckella poppei</i>	23
Figura 8. Ejemplos de APs detectadas en el análisis bajo la lupa en las muestras tanto de la entrada (A-H), como de la salida (I-O) del Lago Ionosférico.	28
Figura 9. (A) Gráfico de torta representando los porcentajes de polímeros encontrados tanto a la salida como la entrada del Lago Ionosférico. La categoría sintéticos celulósicos incluyó polímeros como el rayón, celofán, algodón, lino, papel y cáñamo. (B) Gráfico de torta representando los porcentajes de los polímeros plásticos ($\geq 70\%$) encontrados tanto a la salida como la entrada del Lago Ionosférico.....	29
Figura 10. Boxplot de la densidad total de MPs en la entrada y salida del Lago Ionosférico.....	30
Figura 11. Histograma de tamaños del total de ítems encontrados (valores corregidos por controles).	30

Figura 12. Gráfica de porcentaje de fibras por color para las 3 réplicas de cada muestra (entrada y salida del lago).	31
Figura 13. Porcentaje de fragmentos por color para las 3 réplicas de cada muestra (entrada y salida del lago).	31
Figura 14. Cantidad de MPs del rallado experimental para diferentes clases de tamaño. Ejemplo realizado con la concentración de 0,1 g/l (MP10)	32
Figura 15. (A) Tamizado del rallado de MPs. (B) Imagen de la fracción inferior a 125 µm, nótese la predominancia del color amarillo. (C) Imagen del rallado bajo la lupa. (D) Ejemplo de MPs de PP bajo micro-FTIR. (E) Ejemplo de MPs de PE bajo micro-FTIR. (F) Imagen del rallado bajo microscopio con filtro de luz ultravioleta.	32
Figura 16. (A) Control negativo y (B) control positivo en el ensayo de cristal violeta.	33
Figura 17. Imágenes de MPs bajo el MBCL, en azul se observa el crecimiento del biofilm mientras que en verde se observa la autofluorescencia del plástico. (A) MPs incubados en agua del Lago Ionosférico, (B) MPs incubados en agua del Lago Uruguay y (C, D) controles de MPs sin incubar.	34
Figura 18. (A) Distribución de tamaños (mm) de los individuos utilizados para los experimentos en los diferentes tratamientos (MP1, MP1+B , MP10, MP10+B) y control de <i>Boeckella poppei</i> (CP). (B) Distribución de tamaños (mm) de los individuos utilizados para los experimentos según tratamiento (MP1, MP1+B, MP10, MP10+B) y control de <i>Branchinecta gaini</i> (CG).....	34
Figura 19. Imágenes de MPs bajo la lupa, detectados en los organismos experimentales digeridos.	36
Figura 20. Boxplot de tasas de aclarado de MPs (30-130 µm) en función de los cuatro tratamientos, a concentraciones bajas (0,01 g/l) sin (MP1) y con biofilm (MP1+B) y a concentraciones altas (0,1 g/l) sin (MP10) y con biofilm (MP10+B).	36
Figura 21. Boxplot de tasas de ingestión de MPs (30-130 µm) en función de los cuatro tratamientos, a concentraciones bajas (0,01 g/l) sin (MP1) y con biofilm (MP1+B) y a concentraciones altas (0,1 g/l) sin (MP10) y con biofilm (MP10+B)..	37
Figura 22. Boxplots de tasas de aclarado y de ingestión de MPs para los rangos de tamaño mas representativos (30-50, y 50-70 µm) en función de los cuatro tratamientos, a concentraciones bajas (0,01 g/l) sin (MP1) y con biofilm (MP1+B) y a concentraciones altas (0,1 g/l) sin (MP10) y con biofilm (MP10+B).	38
Figura 23. Imágenes de MPs bajo la lupa detectados en los organismos experimentales digeridos.	39

Figura 24. Boxplot de tasas de aclarado de MPs (30-130 μm) en función de los cuatro tratamientos, a concentraciones bajas (0,01 g/l) sin (MP1) y con biofilm (MP1+B) y a concentraciones altas (0,1 g/l) sin (MP10) y con biofilm (MP10+B).....	39
Figura 25. Boxplot de tasas de ingestión de MPs (30-130 μm) en función de los cuatro tratamientos, a concentraciones bajas (0,01 g/l) sin (MP1) y con biofilm (MP1+B) y a concentraciones altas (0,1 g/l) sin (MP10) y con biofilm (MP10+B).....	40
Figura 26. Boxplots de tasas de aclarado y de ingestión de MPs para los rangos de tamaño mas representativos (30-50, y 50-70 μm) en función de los cuatro tratamientos, a concentraciones bajas (0,01 g/l) sin (MP1) y con biofilm (MP1+B) y a concentraciones altas (0,1 g/l) sin (MP10) y con biofilm (MP10+B).	41
Figura 27. Densidades de MPs en agua superficial y sedimentos en el área de estudio. Datos producidos por esta tesis y en el marco del proyecto AntarPLAST.....	43
Figura 28. Esquema de posibles vías de entrada de MPs al Lago Ionosférico (A,B,C,D,G,H) y su salida hacia el arroyo AINA (F)..	45
Figura 29. Esquema representando los principales resultados y discusiones de este estudio.	54

Índice de tablas

Tabla 1. Ensayo de Cristal Violeta en incubaciones de los MPs utilizados en el experimento. Los controles positivos son MPs previamente desinfectados expuestos a agua de los lagos filtrada por 23 μm por 15 días. Los controles negativos son MPs previamente desinfectados, sin incubación.	33
Tabla 2. Comparativa de ejemplos de experimentaciones sobre copepodos y crustaceos que daten valores de tasas de ingestión o aclarado de MPs.	52

Agradecimientos

Quiero agradecer a todas las personas e instituciones que hicieron posible esta tesis. Primero, gracias al apoyo financiero del CSIC, con los fondos MIA, y de PEDECIBA, con los fondos de movilidad, que me permitieron realizar las pasantías en Madrid, una experiencia esencial para mi formación.

En el marco académico, quiero agradecer a la Universidad de la República y al programa PEDECIBA, que me brindaron el marco de estudios. A mis tutores, Gige y Juampi, gracias por escuchar siempre mis ideas, guiarme y acompañarme tanto con su excelente parte profesional como humana. También a Franco y Barbi, quienes, aunque no fueron mis tutores directos, jugaron un papel muy importante en el desarrollo de esta tesis también como profesionales y personas. A su vez, un especial agradecimiento a Miguel González-Pleiter, Danilo Callari y Paola Scavone por sus grandes aportes en las respectivas pasantías que fueron de vital importancia para el desarrollo de esta tesis. Por último, muchísimas gracias a todos los miembros del tribunal (Claudia Piccini, Ernesto Brugnoli y Alicia Herrera) por todas sus correcciones y una excelente instancia de defensa con muchos aprendizajes y debates que enriquecieron sin dudas este trabajo.

En cuanto al apoyo técnico, agradezco enormemente a AntarPLAST, el proyecto en el que se enmarca mi tesis, por permitirme participar en todas las actividades y por la oportunidad de investigar en la Base Científica Antártica Artigas. Al Instituto Antártico Uruguayo y a todas las dotaciones involucradas, muchas gracias por su trabajo y por hacer posible todo lo realizado en la Antártida.

Y finalmente, a nivel personal, quiero agradecer a mi familia, mis amigos y a mis compañeros de laboratorio, que fueron mi soporte en todo momento. Una mención especial a Barbi, quien fue mi sustento principal, tanto como amiga como profesional. Gracias a todos por acompañarme en cada paso de este camino.

Resumen

La contaminación por plásticos en los ecosistemas acuáticos genera una enorme preocupación debido a su rápida dispersión y persistencia en el medio ambiente. Los lagos son especialmente significativos, ya que proporcionan agua para consumo, agricultura, usos industriales y domésticos. El sistema antártico no es ajeno a este problema global, con macro y microplásticos ya detectados en varias matrices del ecosistema. Estos incluyen el hielo marino asociado a glaciares, organismos como aves, arroyos de deshielo, playas, sedimentos marinos y aguas marino-costera. Esta presencia representa una amenaza significativa para el medio ambiente y su fauna frágil. Sin embargo, no existen estudios en lagos antárticos ni experimentos con zooplancton expuesto a concentraciones ambientales en su hábitat. El zooplancton a nivel mundial se estudia comúnmente como un indicador de riesgo ambiental en ecosistemas acuáticos para varios contaminantes, lo que hace crucial entender los impactos de los microplásticos en los ecosistemas lacustres para una evaluación precisa del riesgo ecológico. En este estudio, evaluamos las densidades de microplásticos (MPs) en el ambiente, así como las tasas de ingestión y supervivencia del zooplancton limnético antártico expuesto experimentalmente a MPs irregulares bajo diferentes condiciones (es decir, concentraciones, presencia de biopelículas). Se tomaron muestras de agua superficiales en enero de 2023 con una red de Surber en la entrada y salida del lago Ionosférico. La forma, color, tamaño y densidad de los MPs se analizaron con un estereomicroscopio, y la composición polimérica se determinó con micro-FTIR. Los MPs se detectaron en todas las muestras (densidades entre 0,35 - 1,61 ítems/m³), siendo las fibras consistentemente más abundantes que los fragmentos (>80%). Los polímeros más comunes fueron el poliéster (PES; 65%) y el acrílico (16%). *Boeckella poppei* y *Branchinecta gaini* fueron los organismos modelo, obtenidos de los lagos Uruguayo e Ionosférico, ambos ubicados en la Península Fildes (Isla King George, 62°11'4''S; 58°51'7''W). Los filtradores acuáticos, como estos organismos del zooplancton, pueden ser particularmente susceptibles a la ingestión de microplásticos, con potencial para transferencia trófica a niveles superiores, aunque en lagos antárticos estos suelen ser los depredadores tope. Este es el primer estudio que evalúa los impactos potenciales de los microplásticos en la supervivencia y el consumo en organismos zooplanctónicos límnicos antárticos. Nuestros resultados confirmaron la ingestión de MPs en ambos organismos, generalmente con tasas bajas de herbivoría (0 - 0,2 mL ind⁻¹.h⁻¹ en *Boeckella poppei* y 0 - 2,8 mL ind⁻¹.h⁻¹ en *Branchinecta gaini*). Este estudio proporciona conocimientos fundamentales que contribuyen a entender los problemas pasados por alto de la contaminación por microplásticos en los ecosistemas lacustres y aborda directamente los objetivos y desafíos del Sistema del Tratado Antártico.

Abstract

Plastic pollution in aquatic ecosystems causes enormous concern due to its rapid dispersion and persistence in the environment. Lakes are particularly significant as they provide water for drinking, agriculture, industrial, and domestic purposes. The Antarctic system is not exempt from this global issue, with macro and microplastics already detected in various ecosystem matrices. These include sea ice associated with glaciers, organisms like birds, meltwater streams, beaches, marine sediment, and marine-coastal waters. This presence poses a significant threat to the environment and its fragile fauna. However, there is no study in Antarctic lakes nor zooplankton experimentation with environmental concentrations of

their habitat. Zooplankton worldwide is commonly studied as an indicator of environmental risk in aquatic ecosystems for several pollutants, making it crucial to understand microplastic impacts in lake ecosystems for accurate ecological risk assessment. In this study, we assessed environmental microplastics (MPs) densities, and the ingestion and survival rates of Antarctic limnic zooplankton experimentally exposed to irregular MPs under different conditions (i.e., concentrations, presence of biofilm). Superficial water samples were taken in January 2023 with a Surber net at the Ionospheric lake's inflow and outflow. The shape, color, size, and density of MPs were analyzed with a stereomicroscope, and the polymeric composition was determined with micro-FTIR. MPs were detected in all samples (densities between 0,35 - 1,61 items/m³), with fibers consistently being more abundant than fragments (>80%). The most common polymers were polyester (PES; 65%) and acrylic (16%). *Boeckella poppei* and *Branchinecta gaini* were the model organisms, obtained from Uruguayan and Ionospheric Lakes, both located in the Fildes Peninsula (King George Island, 62°11'4''S; 58°51'7''W). Aquatic filter feeders, such as these zooplankton, may be particularly susceptible to microplastic uptake, with potential for trophic transfer to higher levels. This is the first study to evaluate the potential impacts of microplastics on survival and consumption in lentic limnic Antarctic zooplanktonic organisms. Our results confirmed MPs ingestion in both organisms, generally with low grazing rates (0 - 0,2 mL ind⁻¹.h⁻¹ in *Boeckella poppei* and 0 - 2,8 mL ind⁻¹.h⁻¹ in *Branchinecta gaini*). This study provides fundamental insights that contribute to understanding the overlooked issues of microplastic pollution in lake ecosystems and directly addresses the objectives and challenges of the Antarctic Treaty System.

1. Introducción

1.1. Plásticos en ecosistemas límnicos

En la actualidad, la contaminación por residuos antrópicos, especialmente plásticos, constituye una de las principales problemáticas ambientales a nivel global. Este fenómeno genera gran preocupación debido a la facilidad con la que estos residuos se dispersan y a su persistencia ambiental, pudiendo tardar décadas o incluso siglos en degradarse (Cole et al., 2014; Geyer et al., 2017). Esta problemática surge por el uso excesivo de plásticos en la vida cotidiana, el crecimiento continuo de su producción a nivel mundial, y las deficiencias en su gestión como residuo. La presencia de plásticos en los ecosistemas acuáticos ha sido documentada ampliamente (Barnes et al., 2009; Ivar do Sul & Costa, 2014; Eriksen et al., 2014; Elías, 2015; Lozoya et al., 2015; Van Emmerik et al., 2020; García-Regalado et al., 2024), así como su incremento en el tiempo, reflejando un consumo global estimado de 400,3 millones de toneladas anuales y un crecimiento histórico en su producción (Plastics Europe, 2023). Los plásticos de un solo uso, con una gestión deficiente y una baja tasa de reciclaje, son una preocupación particular, siendo los vertederos a cielo abierto su destino principal (Varnhorn, 2016). De igual forma, las industrias textiles son un sector que aporta una gran parte de estos plásticos, especialmente fibras plásticas o sintéticas, semisintéticas y otros tipos de partículas antropogénicas (APs) (Athey et al., 2020; Mattsson et al., 2021). Las ciudades o zonas industrializadas aportan la mayor cantidad de materiales plásticos (Derraik, 2002), los cuales ingresan a los océanos mediante el sistema fluvial (ríos y arroyos), estimándose en un aporte anual mediante esta vía de entre 1,15 y 2,41 millones de toneladas (Lebreton et al., 2017).

Los plásticos ingresan a los ecosistemas acuáticos urbanos directamente a través de la acción del viento y la escorrentía superficial, llegando a ríos y lagos donde se acumulan en orillas, llanuras aluviales, vegetación ribereña, en la columna de agua y en los sedimentos (Mihai et al., 2022). Los ríos y arroyos transportan plásticos de manera rápida y continua debido al flujo constante de agua, lo que puede resultar en una distribución más dispersa a lo largo de su longitud (Arthur et al., 2009; Eerkes-Medrano et al., 2015). En contraste, los lagos tienden a tener aguas más tranquilas y una menor velocidad de flujo, lo que favorece la sedimentación de plásticos en sus orillas y en el sedimento (Zubris & Richards, 2005; Free et al., 2014). Además de las áreas urbanas, los ríos pueden recibir plásticos derivados de actividades agrícolas e industriales a lo largo de su trayectoria, mientras que los lagos suelen recibirlos desde ríos y afluentes cercanos (Windsor et al., 2019; Horton et al., 2017). Una vez arribados, los plásticos pueden acumularse en el sistema durante décadas, o ser transportados a los sistemas marinos (Mihai et al., 2022).

Por otro lado, durante su transporte y permanencia en los ecosistemas acuáticos, los plásticos sufren procesos de degradación por acción física y radiación UV, que los fragmenta en partículas cada vez más pequeñas, transformándose en microplásticos (MPs, partículas menores a 5 mm; Wagner et al., 2014), o incluso nanoplasticos (NPs, partículas menores a 1µm; Dawson et al., 2018.a; Botterell et al., 2018; Kershaw et al., 2019). Los microplásticos (e.g. fibras o fragmentos) generados por la fragmentación de residuos mayores se definen como secundarios, mientras que los primarios son aquellos producidos industrialmente en ese rango de tamaño (<5 mm), los cuales son utilizados como materia

prima de la industria del plástico o en la cosmética (e.g. pellets, microesferas). A pesar de que los ecosistemas de agua dulce son los más afectados directamente y potencialmente por estos residuos, la mayor parte de los estudios se concentran en los ecosistemas marinos (Wagner et al., 2014; Li et al., 2020; Wong et al., 2020; Sarijan et al., 2021; Lawrence et al., 2023).

1.2. Microplásticos en regiones remotas: la Antártida

Si bien la contaminación por plásticos afecta con mayor intensidad a las zonas urbanas, cada vez son más numerosos los estudios que demuestran que esta contaminación afecta también a ambientes remotos como la Antártida (Waller et al., 2017; Caruso et al., 2022; Lozoya et al., 2024). Esto es debido a que el ecosistema antártico, caracterizado por condiciones ambientales relativamente estables y mínima influencia humana durante grandes escalas de tiempo, enfrenta en la actualidad importantes desafíos de conservación debido al creciente aumento de actividades humanas como la investigación científica, logística y el turismo (Convey, 2020; Horton & Barnes, 2020). Los principales impactos asociados incluyen la sobreexplotación de recursos marinos, cambios fisicoquímicos en el ecosistema marino, pérdida de biodiversidad, y la introducción de especies exóticas y de contaminantes como los residuos plásticos (Chown & Brooks, 2019; Cavanagh et al., 2021; Morley et al., 2021). Los trabajos de Convey et al., 2002; Barnes et al., (2010), Suaria et al., (2020), Anfuso et al., (2020) y Albarrán et al., (2024) brindan claras evidencias de la presencia de macroplásticos en el Área del Tratado Antártico, y los de Cincinelli et al., (2017), Munari et al., (2017), Waller et al., (2017), Isobe et al., (2017), y Lacerda et al., (2019) representan antecedentes de la presencia de microplásticos en la región. Estos últimos, han sido identificados en diferentes ambientes, incluyendo aguas superficiales marinas u oceánicas (Lacerda et al., 2019; Suaria et al., 2020; Garza et al., 2023; Monràs-Riera et al., 2023; Antacli et al., 2024), sedimentos marinos (Munari et al., 2017; Reed et al., 2018; Cunningham et al., 2020), áreas antárticas especialmente protegidas (González-Pleiter et al., 2020), zona de ablación de glaciares (González-Pleiter et al., 2021), hielo marino (Kelly et al., 2020) y nieve (Aves et al., 2022; Rowlands et al., 2023). Sin embargo, no existen al día de hoy antecedentes de estudios sobre la presencia de este contaminante en lagos antárticos.

El continente antártico está regulado por el Tratado Antártico desde 1961, que lo designa como un lugar dedicado a la investigación y convivencia pacífica entre naciones (Waller et al., 2017). Complementariamente, el Protocolo al Tratado Antártico sobre Protección del Medio Ambiente (Protocolo de Madrid) de 1991 prohíbe actividades militares, explosiones nucleares, disposición de desechos radiactivos y explotación minera, mientras regula actividades como el turismo y la pesca bajo normativas específicas. Este protocolo incluye cuatro anexos adoptados en 1991 y que entran en vigor en 1998, abarcando la evaluación de impacto ambiental, la conservación de la fauna y flora antárticas, la gestión de residuos incluyendo los macroplásticos, y la prevención de contaminación marina (Protocolo de Madrid, 1991). Además, la Convención para la Conservación de los Recursos Vivos Marinos Antárticos (CCRVMA, 1984) tiene un Programa de Desechos Marinos (1989) enfocado en el monitoreo y la regulación de la basura marina (Barboza et al., 2019). Desde 2002, el anexo V sobre protección y gestión de áreas protegidas y en 2005 el anexo VI sobre responsabilidad por emergencias ambientales complementaron estas medidas (Protocolo de Madrid, 1991). Los MPs no fueron considerados hasta la reunión consultiva del 2019 del

Tratado Antártico, aunque desde 2018 un grupo de especialistas del Comité Científico de Investigación Antártica (SCAR) ha comenzado a abordar esta problemática. A pesar de esto, el esfuerzo de investigación y gestión se ha centrado exclusivamente en ecosistemas marinos y oceánicos, dejando de lado los ecosistemas de agua dulce.

1.3. Microplásticos y su interacción con el zooplancton

Los microplásticos representan una amenaza potencial para la fauna acuática ya que pueden ser confundidos por partículas de alimento (activa o pasivamente) pudiendo provocar obstrucciones internas, desnutrición, alteraciones reproductivas y metabólicas, e incluso la muerte (Koelmans et al., 2022), pero los efectos son variables según el taxa considerado (Foley et al., 2018). Según Müller et al. (2012) el consumo de residuos de plásticos se ha registrado en al menos 170 especies de vertebrados e invertebrados, incluyendo consumidores primarios, los cuales tienen un papel fundamental en el transporte de energía hacia niveles superiores en las redes tróficas acuáticas, y consumen partículas en rangos de tamaños que se superponen con los de los microplásticos. Existe evidencia del consumo de microplásticos por organismos en esta posición trófica en diferentes estudios. Según Browne et al., (2008) los mejillones pueden acumular microplásticos durante la filtración de partículas alimenticias, mientras que Setälä et al. (2014) indican que los crustáceos también ingieren microplásticos, pudiendo transferirlos a través de la cadena trófica. Por lo tanto, la ingestión de microplásticos por parte de estos consumidores puede potencialmente provocar consecuencias a nivel individual y poblacional, así como procesos de bioacumulación y biomagnificación en niveles tróficos superiores (Farrell & Nelson, 2013; Gorokhova et al., 2018).

Muchos de estos consumidores primarios acuáticos forman parte del zooplancton, que es la comunidad de organismos que viven en suspensión en la columna de agua. Es una de las comunidades de metazoarios más abundante sobre la Tierra (Schminke, 2007) y tiene un papel fundamental en la estructuración y funcionamiento de los ecosistemas acuáticos tanto marinos como continentales (Brooks & Dodson, 1965; Cottingham & Schindler, 2000; Richardson, 2008), en los ciclos biogeoquímicos (Turner, 2002; Tsugeki et al., 2009), y en el flujo de energía hacia niveles tróficos superiores (peces, mamíferos) (Frost, 1972; Gliwicz & Pijanowska, 1989; Sarma et al., 2005; Richardson, 2008). Si bien poseen diversidad de estrategias alimenticias (Bruland & Silver, 1981; Gasca & Suárez Morales, 1996), muchas especies son filtradoras de partículas (e.g. fitoplancton, bacterioplancton) con diversos grados de selectividad, lo que aumenta su probabilidad de ingestión de microplásticos (Botterell et al., 2018). Además, la probabilidad de ingestión está directamente relacionada al aumento del número de partículas en el agua, incrementando el riesgo de exposición e ingestión de MPs (Mariano et al., 2021), pudiendo constituir la principal vía de entrada de partículas plásticas a las redes tróficas a través de procesos de biomagnificación (Foley et al., 2018; Torres et al., 2023). Por lo tanto, el zooplancton puede ser una comunidad de gran utilidad para el estudio de los plásticos, ya que puede servir como indicador indirecto para evaluar la presencia de MPs en cursos de agua, así como también para estudios ecotoxicológicos sobre el efecto de los MPs (Alfonso et al., 2023).

La interacción de los MPs con el zooplancton puede resultar en respuestas tóxicas subletales, como la reducción en las tasas de alimentación, estrés hepático y disminución en la fecundidad y supervivencia (Cole et al., 2015; Koelmans, 2015). Por ejemplo, se ha

observado en copépodos calanoides una reducción de las tasas de consumo de algas como resultado de una “falsa-saciedad” (“false satiety”) que conduce a la desnutrición, debido a la acumulación de MPs (e.g. Cole et al., 2013; Sharma et al., 2024). Hasta el momento las investigaciones se han centrado principalmente en organismos marinos, con pocos estudios ecotoxicológicos enfocados en el zooplancton límnic, siendo los cladóceros como *Daphnia sp.* los más estudiados (Pisani et al., 2022; Zhang et al., 2023). Además del impacto directo en los organismos, el consumo y excreción de microplásticos por el zooplancton puede afectar la dinámica del carbono y los nutrientes en los ecosistemas acuáticos, incluyendo su exportación hacia aguas profundas y sedimentos (Cole et al., 2016). Incluso se ha reportado evidencia que el consumo de microplásticos por especies de esta comunidad puede alterar la bomba de carbono (Turner 2015; Wieczorek et al., 2019).

La variabilidad en las respuestas biológicas de los organismos que interactúan con el microplástico pueden estar asociadas a las diferencias en su biodisponibilidad en base a su concentración, tamaño, edad (*i.e.* tiempo de degradación en el ambiente), color, agregación y formas (Botterell et al., 2018; Vroom et al., 2017; Koski et al., 2021; Traboni et al., 2023; Ebbesen et al., 2024). Los MPs además pueden acumular, y potencialmente transferir, sustancias químicas tóxicas que se utilizan en su fabricación (ftalatos, ignífugos y estabilizadores UV) y adsorber contaminantes que se encuentran en el agua (e.g. metales pesados y PCBs; Andrady, 2011). A su vez, pueden recubrirse de sustancias orgánicas (carbohidratos o péptidos), y ser colonizados por diversos microorganismos (bacterias, algas, hongos y protistas), que interactúan dentro de un complejo denominado biofilm, que son en sí misma una fuente energética para los organismos que los consumen (Gorokhova et al., 2018). Estas comunidades microbianas diversas, formadas por heterótrofos, autótrofos, depredadores y simbioses que viven sobre microplásticos, se denomina *Plastisfera* (Zettler et al., 2013). Su composición varía según la región geográfica, actividad antropogénica, clima y tipo de sistema (Amaral-Zettler et al., 2020), y si bien su estudio ha cobrado relevancia en los últimos años (Tu et al., 2020; Du et al., 2022; Okeke et al., 2022), existen aún vacíos de información, fundamentalmente en ecosistemas de agua dulce (Tarafdar et al., 2022; Barnes et al., 2024). La alta concentración de Chloa y producción de oxígeno en los plásticos en comparación con la columna de agua como resultado de la formación de los biofilms sugiere que los MPs son “hot spots” de actividad microbiana en el océano (oligotrófico; Bryant et al., 2016). Además, la formación y el desarrollo de estos biofilms en las superficies de los MPs pueden cambiar la morfología y las propiedades fisicoquímicas de los plásticos en el ambiente, generando consecuencias a nivel físico, químico y biológico, y también en el destino de los MPs (e.g. transporte vertical, acoples con contaminantes químicos y patógenos, biodegradación; Rummel et al., 2017; Tu et al., 2020). Incluso, su presencia puede incrementar el consumo de MPs (Scherer et al., 2018; Hale et al., 2020). En conclusión, los MPs hallados en el ambiente podrían diferenciarse en función de las consecuencias que generan a los organismos que los ingieren (Gorokhova et al., 2018).

1.4. Microplásticos y su interacción con organismos de las redes tróficas límnicas antárticas

La biota antártica es especialmente vulnerable a los cambios ambientales y la contaminación, debido a la alta proporción de especies geográficamente restringidas, sensibles y con limitada capacidad de adaptación (Horton & Barnes, 2020). Estas

condiciones reducen aún más su capacidad de adaptación y migración frente a presiones ambientales puntuales o crónicas (Pearson et al., 1983; Malcolm et al., 2006). Con respecto a la contaminación por microplásticos, existen escasos estudios sobre su ingestión por parte de organismos zooplanctónicos antárticos y sus efectos asociados. Las investigaciones realizadas se centran en la presencia de plásticos en aves como skuas (*Catharacta spp.*; Lenzi et al., 2022) y pingüinos (*Pygoscelis papua*; Bessa et al., 2019), en peces (más de 15 especies; Ergas et al., 2023; Liv et al., 2024), en focas (*Lobodon carcinophaga*, *Hydrurga leptonyx* y *Leptonychotes weddellii*; Cebuhar et al., 2024), en anfípodos (Jones-Williams et al., 2020) y organismos del zooplancton marino como el krill (*Euphausia superba*; Wilkie Johnston et al., 2023; Liv et al., 2024) y las salpas (*Salpa thompsoni*; Wilkie Johnston et al., 2023). Experimentalmente se ha demostrado que *E. superba* ingiere MPs y los fragmenta a nanoplásticos durante la digestión (Dawson et al., 2018 a) y también pueden excretarlos eficazmente, sugiriendo ausencia de bioacumulación (Dawson et al., 2018 b). También se ha constatado una disminución en la actividad natatoria para esta especie (Bergami et al., 2020) o un enlentecimiento en el desarrollo embrionario (Rowlands et al., 2021) por el consumo de nanoplásticos. Sobre el zooplancton límnic existe únicamente una investigación que evalúa el efecto de los nanoplásticos en embriones de *Branchinecta gaini*, observándose reducción en su capacidad de nado (Bergami et al., 2022).

Las redes tróficas de los lagos antárticos en general son simples y truncadas, integradas por virus, bacterias, protistas, y algunas especies del zooplancton (Laybourn-Parry & Pearce, 2007). Por ello estas redes suelen estar dominadas por la comunidad microbiana (bacterias, pequeñas especies de flagelados, amebas y algunas especies de ciliados), donde los únicos metazoarios están integrados por las especies *Branchinecta gaini* y *Boeckella poppei*, y los principales organismos del fitoplancton son diatomeas, crisofitas, picocianobacterias y clorofitas (e.g. lagos de la isla Livingston, Antártida; Rochera & Camacho, 2019; Fig.1). El crustáceo *B. gaini* suele ocupar la posición de consumidor superior, mientras que el copépodo *B. poppei* es el depredador superior, mostrando una fuerte conexión trófica con el loop microbiano, incluyendo ciliados (Rochera, 2012). Los copépodos también pueden reducir la abundancia de ciliados a través de la depredación (Rochera, 2012). El reciclaje de nutrientes es eficiente, gracias a la translocación de nutrientes desde el fondo del lago a las aguas superficiales, posiblemente mediado por la migración vertical diaria de los copépodos (Rochera, 2012). Aunque el plancton heterótrofo es abundante, la producción primaria pelágica suele ser baja (Rochera, 2012). Además, el carbono orgánico disuelto proviene de musgos bentónicos autóctonos y de comunidades bentónicas circundantes (alfombras microbianas) que contribuyen a la producción bacteriana (Rochera & Camacho, 2019; Leites, 2024).

Los lagos continentales antárticos y los marítimos (e.g. Península Fildes) o subantárticos presentan algunas diferencias. La principal radica en que los continentales reciben poco o ningún aporte de materia orgánica alóctona de los ecosistemas terrestres y existen en condiciones extremas cerca de los límites de la vida, mientras que los lagos en las regiones marítimas presentan redes tróficas más complejas con más invertebrados y posibles aportes alóctonos de materia orgánica terrestre (Christoffersen et al., 2008). Una característica común de los lagos en la Antártida continental y la marítima es la ausencia de peces y otros vertebrados de agua dulce (Christoffersen et al., 2008). Además, los lagos marítimos más alejados del mar en la isla Georgia del Sur están influenciados

principalmente por el agua de deshielo y tienen menos contacto con mamíferos marinos, aunque son visitados en cierta medida por aves marinas (Christoffersen et al., 2008). Los lagos más cercanos al mar, en cambio, son frecuentemente visitados por pingüinos y focas, y están influenciados por aves como petreles, skuas y gaviotas (Christoffersen et al., 2008). Esto genera un gradiente de productividad con una correlación negativa entre el contenido de fósforo en el agua y la distancia al mar (Hansson et al., 1996).

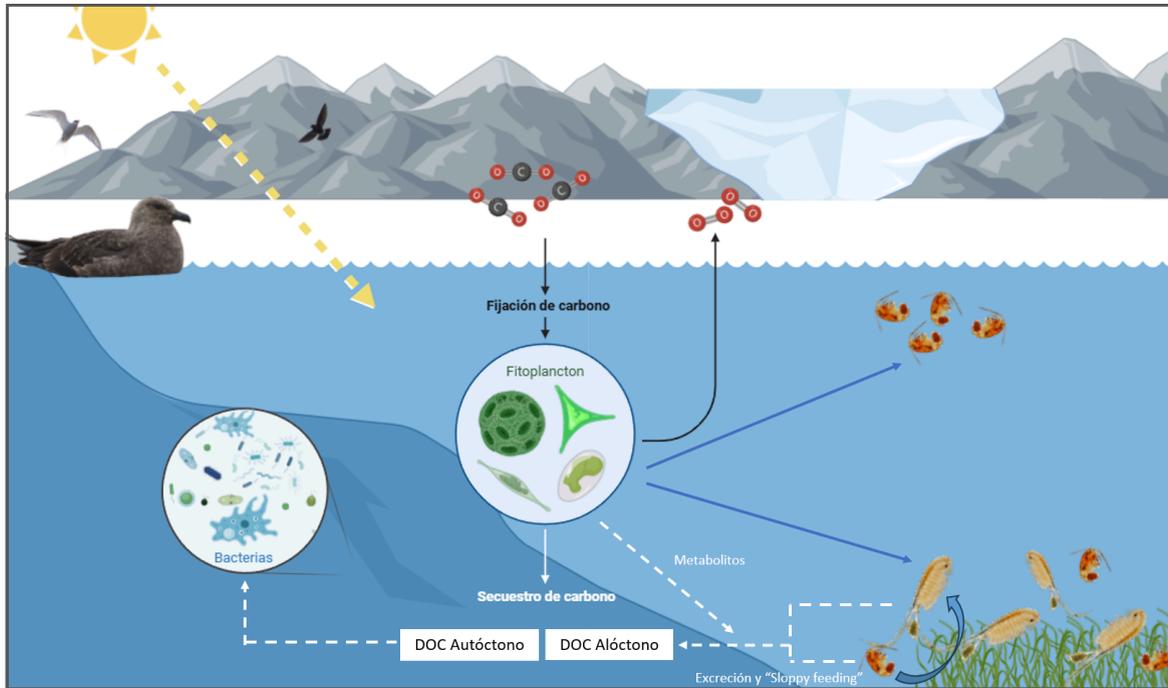


Figura 1. Esquema de red trófica de lagos antárticos marítimos simplificada (imagen creada con BioRender.com). Adaptado de Rochera (2012).

Si bien en los últimos años existe un creciente interés por conocer los efectos que los microplásticos tienen sobre los organismos planctónicos, la evidencia aún es insuficiente, y existe gran variabilidad en las aproximaciones experimentales utilizadas, y variables de respuesta reportadas (Kvale et al., 2021). Esta falta de información parece especialmente evidente en los ecosistemas límnicos del mundo (Lawrence et al., 2023), incluyendo lagos antárticos, siendo que los estudios han hecho más énfasis en ecosistemas marinos (Absher et al., 2019; Cincinelli et al., 2017; Dawson et al., 2018 a,b; Jones-Williams et al., 2020; Lacerda et al., 2019; Suaria et al., 2020). Por lo tanto, persisten dudas sobre qué tan amenazados se encuentran los organismos zooplanctónicos límnicos frente a estos contaminantes, y qué consecuencias tiene sobre las diferentes especies, y sus funciones ecológicas como el flujo de energía entre niveles tróficos, y el aporte de materia a otros compartimentos ecológicos.

En este sentido, resulta relevante evaluar los efectos de diferentes escenarios de concentraciones ambientales de MPs, actuales y futuras, así como las posibles diferencias que la formación de biofilms bacterianos pueden tener sobre la selección de MPs para consumo por parte de distintas especies, considerando especialmente relevante el biofilm que se pueda formar en los MPs de estos ecosistemas, debido a la gran relevancia que presenta la comunidad microbiana en estas redes tróficas. Se pretende de esta manera, y por primera vez para el área de estudio, aportar mediante una aproximación experimental a la comprensión de los posibles efectos de la contaminación por MPs sobre estos

organismos en condiciones semejantes a la realidad. Para ello, se evalúa a corto plazo cómo toleran estos organismos las condiciones actuales de concentración de microplásticos en sus hábitats en lagos de las inmediaciones de la Base Científica Antártica Artigas. Avanzar en la identificación de los efectos sobre estos organismos en estas condiciones puede abrir las puertas a nuevos estudios en organismos de nivel superior en la red trófica, considerando por ejemplo, procesos de biomagnificación y bioacumulación.

2. Objetivos

3.1. Objetivo general

Determinar la presencia de microplásticos en un lago antártico y su interacción (consumo y sobrevivencia) con el zooplancton en relación con distintas condiciones experimentales.

3.2. Objetivos específicos

(I) Identificar las densidades y los polímeros de microplásticos presentes en un lago antártico.

(II) Determinar experimentalmente el efecto de la concentración de microplásticos sobre el consumo, y la sobrevivencia de organismos zooplanctónicos antárticos.

(III) Determinar experimentalmente el efecto de microplásticos colonizados por biofilm bacterianos sobre el consumo y la sobrevivencia de organismos zooplanctónicos antárticos.

3. Hipótesis y predicciones

Los microplásticos presentes en el lago podrán ser consumidos por el zooplancton que allí habita y de esta forma ingresar a la trama trófica límnic antártica, pudiendo generar alteraciones en la sobrevivencia de los organismos y bajas tasas de consumo.

Las densidades de microplásticos en el hábitat de los organismos experimentales serán similares a los estudios realizados en la región (Islas Shetland del Sur). En contraste, se espera que sean mayores que las encontradas en aguas superficiales marinas u oceánicas alejadas de la costa, debido a que los lagos antárticos son ecosistemas más pequeños con impactos humanos terrestres cercanos. Sin embargo, en comparación con estudios en ecosistemas marinos más cerrados y próximos a la costa, como la Bahía Collins, se predice que las densidades serán menores. Esto se debe a la mayor cantidad de vías potenciales de entrada de contaminantes en esas áreas, incluyendo aportes directos desde desembocaduras de cursos de agua y aportes indirectos por acción del viento, así como influencias marinas directas por actividades locales y potencialmente por corrientes marítimas procedentes de otras regiones.

Experimentalmente se podrá confirmar y cuantificar el consumo de MPs por parte de los organismos modelo (*Branchinecta gaini* y *Boeckella poppei*). Las tasas de aclaramiento e ingestión aumentarán con la concentración de MPs en los distintos tratamientos del experimento.

Los MPs con biofilm serán consumidos en mayor medida por el zooplancton comparado con aquellos sin biofilm, debido a que éstos actúan como atrayentes o facilitadores del consumo de MPs por parte del zooplancton, posiblemente debido a una modificación en la superficie del plástico o a la liberación de compuestos atrayentes.

La presencia de MPs con biofilm incrementará la mortalidad del zooplancton en comparación con aquellos MPs sin biofilm y con el control sin microplásticos. Esta mayor mortalidad (medida como movilidad nula) podría observarse como una disminución en la supervivencia de los organismos de zooplancton expuestos a los MPs colonizados, medida por el porcentaje de individuos vivos al final del período experimental, y se desprende del mayor consumo de MPs con biofilm en comparación con los que no lo tienen.

4. Metodología

4.1. Área de estudio

El estudio se realizó en dos lagos de la Península Fildes (Isla Rey Jorge/25 de Mayo, Islas Shetland del Sur) en las inmediaciones de la Base Científica Antártica Artigas (BCAA-Uruguay, 62°11'4'' Sur y 58°51'7'' Oeste; Fig. 2). El área de estudio está limitada al noreste por el Glaciar Collins (ocupando gran parte de la Isla Rey Jorge), al norte y oeste por el Paso de Drake, y al sureste por la Bahía Maxwell (Vieira et al., 2015; Fig. 2). Esta península se localiza en el extremo suroeste de la Isla Rey Jorge, la isla más grande del archipiélago de las Shetland del Sur, donde Fildes representa la mayor área libre de hielo de la isla (Schmid et al., 2017) y de la Antártida marítima (Braun et al., 2012). Fildes se caracteriza por una gran concentración de actividades humanas, comprendidas por el turismo (principalmente cruceros y vuelos comerciales en verano, y la actividad logística-científica de las bases científicas de Chile (Presidente Eduardo Frei Montalva), Rusia (Bellingshausen), China (Gran Muralla), y Uruguay (COMNAP, 2017; Gao et al., 2021). Además, la península es un importante punto logístico para el tráfico de personas, dada la existencia del Aeródromo de Chile (Braun et al., 2012). Asociado al desarrollo de estas actividades ocurren una amplia gama de impactos antropogénicos negativos locales derivados de una gestión deficiente (e.g. residuos dispersados por el viento) donde existe una alta presencia de biodiversidad que puede verse afectada (Braun et al., 2012; Convey, 2020). A pesar de esta gran actividad, aún existen áreas en la Península que tienen su visita restringida por ser parte de las Zonas Antárticas Especialmente Protegidas (ASPAs, por sus siglas en inglés *Antarctic Specially Protected Area*), como lo es el caso de la Isla Ardley la cual es sitio de reproducción, cría y muda para varias aves marinas (Management Plan for Antarctic Specially Protected Area No. 150, 2009).

La zona se caracteriza por poseer condiciones meteorológicas y climáticas muy cambiantes (Balay D'Agosto, 2023), teniendo precipitaciones anuales promedio entre 600 y 700 mm siendo en su mayoría nieve, y una temperatura promedio en verano superior a 0°C (Pruszek, 1980), variando entre -1,3°C y 2,7°C (Petsch et al., 2020). Sin embargo, se han registrado varios eventos cálidos extremos en toda la Antártida, como por ejemplo a lo largo del verano 2019-2020 con temperaturas récord de 18,3°C en la estación Esperanza y de 20,75°C en la base Marambio (Balay D'Agosto, 2023). La duración media del día varía desde aproximadamente 5 horas en junio hasta 19,5 horas en diciembre (Kejna et al., 2013).

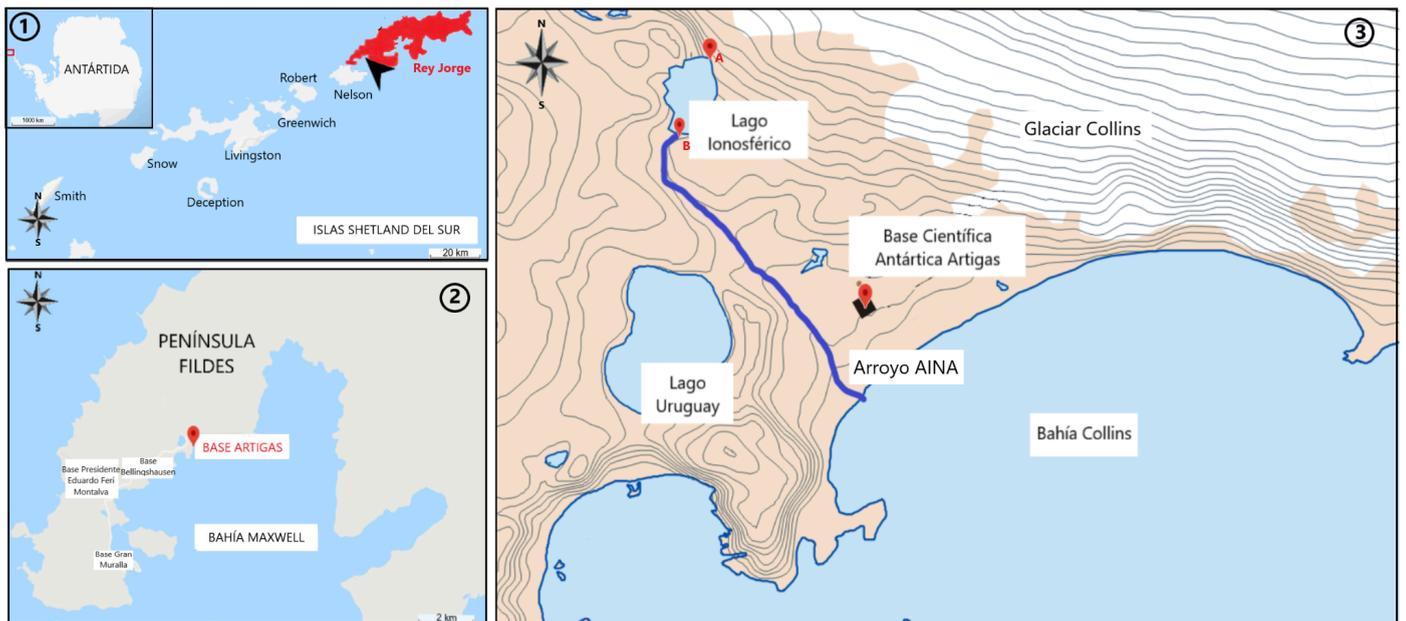


Figura 2. (1) Ubicación de la Isla Rey Jorge, en las Islas Shetland del Sur en la Antártida. (2) Ubicación de Base Artigas en Península Fildes (Isla Rey Jorge). (3) Ubicación de la Base Científica Antártica Artigas, el Lago Uruguay y el Lago Ionosférico (A- entrada y B- salida) en sus inmediaciones y la Bahía Collins ubicada al norte de la Bahía Maxwell.

Los lagos antárticos exhiben una amplia gama de condiciones físicas y químicas, pudiendo por ejemplo ser de agua dulce o hipersalinas, estar cubiertos de hielo de forma perenne o anual, y contener o no comunidades de biofilms microbianos que habitan en el fondo (Laybourn-Parry & Pearce, 2007). La Península Fildes presenta una gran cantidad de lagos (aprox. 109; Peter et al., 2008) los cuales se encuentran descubiertos de hielo en verano y suelen ser la principal fuente de agua dulce para las bases. La gran mayoría son pequeños y poco profundos ubicados en depresiones causadas por la desglaciación, pero también los hay grandes y profundos (Shevnina & Kourzeneva, 2017). Estos lagos se alimentan de flujos de agua provenientes del deshielo de las capas de hielo circundantes o del glaciar Collins, y también reciben aportes por precipitaciones (Machín Olivera, 2022). Debido a su poca profundidad, estos lagos sufren una congelación completa en el período frío y experimentan un calentamiento significativo durante el verano austral (Izaguirre et al., 2003). Además, los lagos de las islas subantárticas y de la Antártida marítima no suelen presentar estratificación térmica, ya que los vientos fuertes mezclan la columna de agua cuando se retira el hielo, y el calentamiento de la superficie generalmente no es suficiente para generar un gradiente térmico desde la superficie hasta el fondo (Camacho, 2006).

Las muestras de agua y la colecta de organismos para los experimentos desarrollados en esta tesis se realizaron en el Lago Uruguay (también llamado Lake Profound, Ozore Glubokoye o Tiefersee) y en el Lago Ionosférico. Ambos lagos se ubican en las cercanías de la BCAA, al norte de la península, donde se ven influenciados por el Glaciar Collins, lo que los define como lagos proglaciares (Vieira et al., 2015, Carrizo et al., 2019; Fig. 1). El Lago Uruguay es el lago proglacial más grande de la península, tiene un área de 69781 m² y una profundidad máxima de 14,7 m (Schmidt et al., 1990; Carrizo et al., 2019), y forma una capa de hielo perenne de aproximadamente 1 m durante el invierno (García-Rodríguez et al., 2021; Piccini et al., 2024). En verano (enero-febrero) se han registrado temperaturas

de agua promedio de 2°C (Martínez-Rosales & Castro-Sowinski, 2011), 6,7°C (Roldán et al., 2022), 3,60 ± 2,9 (2010), 6,06 ± 3,9 (2011), 5,18 ± 1,3 (2012) (Morel et al., 2015). El Lago lonosférico es de menor tamaño, tiene un área de 16235 m² y una profundidad máxima de 10 m (Carrizo et al., 2019), y a diferencia del Lago Uruguay desemboca en la Bahía Collins por el arroyo denominado AINA (Área de Interpretación de la Naturaleza Antártica) que discurre cerca de la BCAA.

4.2. Colecta de muestras de agua

En enero de 2023 se tomaron muestras de agua para analizar la presencia y densidad de microplásticos en agua superficial del Lago lonosférico. Para ello se utilizó una red tipo Surber con malla de 300 µm y un área de boca de 0,125 m² (largo: 0,50 m, ancho: 0,25 m), que fue colocada durante 10 minutos a contracorriente en la entrada de agua de deshielo al lago y en la salida del mismo hacia el arroyo AINA (Fig. 2 y 3; Anexo 1). Se tomaron muestras por triplicado en ambos sitios y en un mismo día, y el volumen de agua filtrado fue estimado con un flujómetro colocado en el centro de la boca de la red (Anexo 2). Las muestras obtenidas fueron fijadas con formol al 4% (filtrado por una malla de 100 µm) para evitar la descomposición de la materia orgánica, hasta su posterior análisis bajo lupa en el Centro Universitario Regional del Este (CURE), Maldonado. Para evitar la posible contaminación por microplásticos durante la toma de las muestras de agua, los frascos fueron lavados con agua destilada previo a su uso, y se obtuvo un control de muestreo mediante previo lavado de la red con agua destilada, el cual fue también fijado con formol filtrado al 4%. Este control, junto a los controles de procedimiento durante el procesamiento de la muestra y su análisis (ver más adelante), aseguran una buena calidad de resultados, evitando por ejemplo una sobrestimación de las densidades debido a partículas que no provengan de la muestra (Prata et al., 2020; Prata et al., 2021; Noonan et al., 2023).

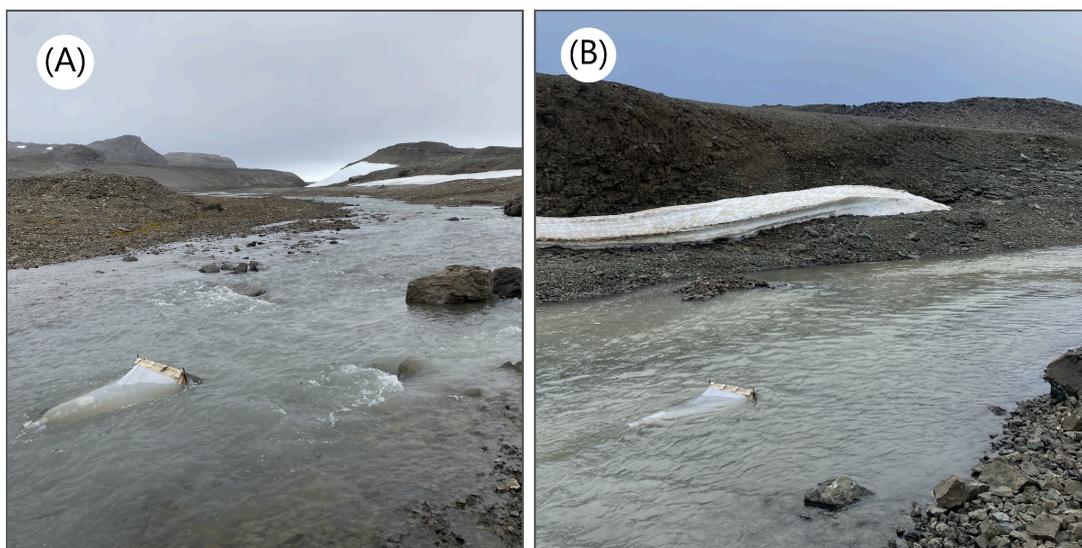


Figura 3. Muestreo con red tipo Surber en el Lago lonosférico (A) entrada de agua de deshielo y (B) salida hacia el arroyo AINA.

4.3. Preparación de muestras e identificación de los microplásticos

La muestra de agua previamente fijada, se filtró por una malla de 100 μm para reducir su volumen y limpiar el formol con agua Milli-Q (Fig. 4). Lo retenido se vertió en un submuestreador tipo Motoda con agua Milli-Q suficiente para dividir la muestra en dos mitades. Una mitad se volvió a preservar en formol al 4% y se almacenó, mientras que la otra mitad fue utilizada para la identificación y cuantificación de microplásticos. Para ello se filtró nuevamente por una malla de 100 μm y se digirió con H_2O_2 (30%) en una proporción 1/5 (v/v), en estufa a 45 °C por 48 hs. Este procedimiento se determinó como el más adecuado para el tipo de muestras utilizadas de manera de digerir lo más efectivamente la materia orgánica alterando mínimamente la composición de los polímeros plásticos (Al-Azzawi et al., 2020). Para esta etapa se utilizó un control de procedimiento, en base a una muestra de agua Milli-Q que fue sometida al mismo procedimiento que la muestra, y que se utilizó como el control de contaminación por posibles microplásticos en el aire del laboratorio.

Luego de la digestión, las muestras, el control de campo y el control de procedimiento se filtraron nuevamente por una malla de 100 μm y el material retenido se enjuagó con la menor cantidad posible de agua Milli-Q para su visualización en placas de Petri de vidrio cerradas bajo lupa (SMZ745, 2.5X, Nikon, Tokio, Japón). Las partículas antropogénicas (PAs) fueron identificadas, fotografiadas, medidas (reglilla incorporada), cuantificadas y clasificadas por su color de acuerdo a las recomendaciones del protocolo de GESAMP (Kershaw et al., 2019). Además se clasificaron por su forma de acuerdo a Viršek et al., (2016) (i.e. fibras, fragmentos, espumas, pellets, films y gránulos). Además, se incluyó la categoría “conjunto de fibras”, la cual se definió como varias fibras agrupadas y anudadas que no pudieron separarse y debieron cuantificarse como una unidad. La cuantificación de las partículas se realizó mediante la observación de la totalidad de las placas Petri anotando la información relacionada a cada ítem hallado. De forma auxiliar, y para ayudar en la identificación de los ítems, se utilizó el método “aguja caliente” donde se evalúa la respuesta del ítem ante el calor (e.g. derretimiento, deformación; Lusher et al., 2020). Durante la observación se colocó en la mesada un control de laboratorio que consistió en una placa de Petri con agua Milli-Q. Tanto la muestra como el control siempre se mantuvieron cubiertos hasta el momento de encontrar un ítem, y en ese momento se destaparon y taparon al unísono. Luego, cada control (de muestreo, de procesamiento y de laboratorio) se analizó de igual forma que las muestras. En aquellos casos donde hubo coincidencias en la forma, color y tamaño aproximado ($\pm 0,1$) entre los ítems encontrados en los controles y las muestras, estos fueron descontados de las muestras.

Los datos de cantidad de MPs se estimaron como densidad (N° de ítems/volumen filtrado por la red), luego de considerar los descuentos por controles.

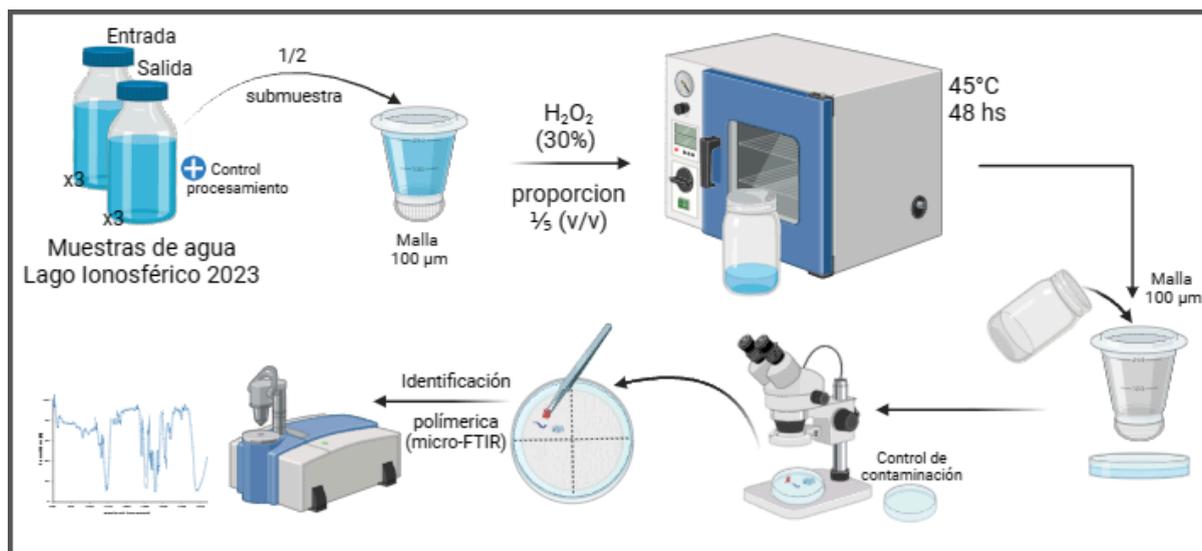


Figura 4. Esquema del procesamiento de las muestras de agua (imagen creada con BioRender.com).

4.4. Identificación de polímeros

La cuantificación, caracterización e identificación de la composición polimérica de las PAs previamente separados, se realizó mediante micro espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (micro-FTIR) en un microscopio Perkin-Elmer Spotlight 200 Spectrum 2 equipado con un detector de telururo de cadmio y mercurio (MCT; Fig. 5). El análisis se realizó en los laboratorios del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid, bajo la supervisión del Dr. Miguel González-Pleiter en el marco de una pasantía. Para ello se operó con un rango espectral de $4000-550\text{ cm}^{-1}$, una apertura de 50×50 y 20×100 micras, y una resolución de 8 cm^{-1} . Las PAs fueron transferidas individualmente desde las placas de petri con filtros gf/c (donde se transportaron) a discos de bromuro de potasio (KBr) que se utilizaron como portaobjetos. Luego sus espectros se registraron en modo de microtransmisión utilizando los siguientes parámetros: spot $50\text{ }\mu\text{m}$, 32 barridos. Este procedimiento permitió obtener espectros de alta calidad que fueron comparados con bases de datos del Software Omnic 9 (Thermo Scientific; versión 9.13.1256) y bases de datos creadas por el laboratorio mencionado. Para que las PAs pudiesen ser efectivamente identificadas como MPs se utilizó un mínimo de 70% de coincidencia entre los espectros obtenidos y los de estas bases de datos (categoría “Plásticos $\geq 70\%$ ”; Villanova-Solano et al., 2022). Sin embargo, aquellos polímeros plásticos de menor coincidencia fueron igualmente registrados, pero como una categoría aparte (“Plásticos 50%-70%”), ya que muchos plásticos antiguos pueden tener porcentajes de coincidencia bajos debido a los procesos de envejecimiento que sufren en el ambiente (Cai et al., 2019; Suaria et al., 2020). Por otro lado, se generó una categoría que agrupó los polímeros sintéticos celulósicos, en la que también se determinó un nivel de alta coincidencia (“sintéticos celulósicos $\geq 70\%$ ”) y uno de menor coincidencia (“sintéticos celulósicos 50%-70%”). Esta categoría incluyó a todas aquellas microfibras sintéticas o semisintéticas celulósicas que no se identificaron estrictamente como plástico pero presentaron espectros muy similares, lo que dificultó su diferenciación. Este es el caso de los polímeros rayón, viscosa, lyocell o tencel, y algodón y lino con colores no naturales (Villanova-Solano et al., 2022). Cabe destacar, que todos estos polímeros tuvieron además

espectros muy similares entre sí que hizo difícil su diferenciación, por lo que se los consideró como un único conjunto. Esto mismo también sucedió con el tereftalato de polietileno (PET) que se categorizó en conjunto con el poliéster (PES), al igual que el Nylon en conjunto con la poliamida (Villanova-Solano et al., 2022). Por otro lado, todos los polímeros que tuvieron un bajo nivel de coincidencia (< 50%) y no pudieron ser agrupados en las otras categorías, se incluyeron en la categoría “Sin identificación”.

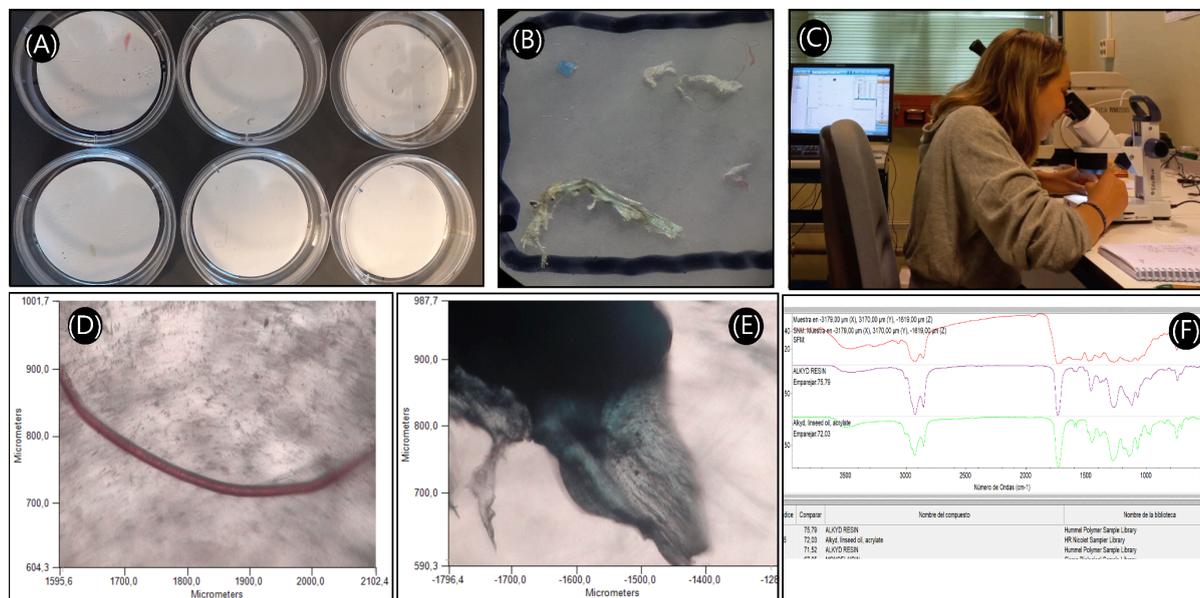


Figura 5. (A) Placas de Petri con filtros gf/c con los MPs extraídos de las muestras analizadas bajo lupa previo a su análisis en el micro-FTIR. (B) Ejemplo de MPs en el disco de KBr que fueron separados desde los filtros gf/c al disco mediante una lupa (C). (D,E) Ejemplo de imágenes de MPs tomadas en el análisis de micro-FTIR. (F) Ejemplo de espectro en el programa OMNIC, que en este caso se asignó la PA a un polímero de resina alquídica.

4.5. Especies límnicas seleccionadas

Las especies seleccionadas para los experimentos fueron el camarón hada *Branchinecta gaini* (Branchiopoda, Anostraca; Daday, 1910) y el copépodo *Boeckella poppei* (Maxillopoda, Calanoida; Mrázek, 1901) (Fig. 6). Ambas son integrantes de la comunidad del zooplancton y representan el nivel trófico superior (consumidores tope) en las tramas tróficas de estos lagos, siendo consumidores del bacterioplancton, y protozoarios flagelados y ciliados (Trokhymets et al., 2024). Estas dos especies pueden coexistir, pero con una clara segregación de nichos, en el que *B. poppei* suele ser la especie dominante y depredadora superior que explota principalmente recursos pelágicos, mientras que *B. gaini* tiene un uso preferente de los recursos bentónicos y se beneficia de los detritos de los sedimentos (Rochera & Camacho, 2019).

Branchinecta gaini es un crustáceo anostráceo con un tiempo generacional de 12 meses (6 meses de vida activa) que habita en los lagos y charcos de agua dulce de la Antártida, el cual ya fue identificado en lagos de la Península Fildes (Jurasz & Presler, 1983; Pociecha, 2007). En su ciclo de vida, los primeros ejemplares de larva nauplio eclosionan en octubre cuando el hielo de los lagos comienza a derretirse hasta diciembre; entre noviembre y enero aparecen ejemplares de metanauplio y los adultos suelen encontrarse desde enero hasta

mayo (Pociecha & Dumont, 2008). La fase de reposo del ciclo de vida es durante el invierno (junio - septiembre), cuando el lago se congela (Pociecha & Dumont, 2008). Los adultos poseen un largo de hasta 16 mm (Paggi, 1996). Son detritívoros y herbívoros que se alimentan por filtración no selectiva y su morfología puede indicar que también son raspadores (Paggi, 1996). *Branchinecta gaini* posee una gran capacidad para consumir una amplia variedad de tamaños y tipos de alimentos (Hawes, 2008), pero aún no se tiene conocimiento sobre el rango de tamaños que esta especie logra ingerir. Sin embargo, otras especies de tamaños similares (adultos) del grupo Branchiopoda ingieren tamaños de hasta 67,1 μm (*Streptocephalus proboscideus*; Brendonck, 1993), o mayoritariamente entre 5 y 30 μm aunque pueden consumir hasta tamaños de 300 μm (*Streptocephalus sirindhornae* y *Branchinella thailandensis*; Chaoruangrit et al., 2017). Por otro lado, existen evidencias que sugieren que la producción primaria impulsa la distribución de *B. gaini*, alcanzando una mayor abundancia en lagos menos profundos con un mayor contenido de nutrientes (Rochera, 2012). Se ha sugerido recientemente que esta especie posee el potencial de ser una bioindicadora de la presencia de contaminantes de preocupación emergente (González-Aravena et al., 2022).

Boeckella poppei es un copépodo calanoide que se alimenta mediante un mecanismo de filtrado en el cual los tamaños de alimento preferenciales por los adultos suelen ser de 10 μm de diámetro (Rochera & Camacho, 2019). Se ha encontrado que los machos pueden alimentarse de rotíferos (e.g. *Philodina gregaria*, Izaguirre et al., 2003) y de sus propios nauplios (Izaguirre et al., 2003). Es el único copépodo límnicó antártico conocido que se extiende hasta el sur de América (Maturana et al., 2019). Este es el principal consumidor de algas filamentosas en cuerpos de agua dulce antárticos, y es considerado una especie indicadora de cambios ambientales en estos ecosistemas (Trokhymets et al., 2024) y potencial bioindicadora de contaminantes en la Península Antártica, particularmente de los contaminantes de preocupación emergentes (González-Aravena et al., 2022). Además, suele ser el organismo que domina en número en las comunidades de invertebrados de lagos antárticos (Evtimova et al., 2024). Este es capaz de cambiar el uso del hábitat entre pelágico y bentónico (Izaguirre et al., 2003), y probablemente su capacidad de migración vertical le permita un uso de recursos diferencial entre diferentes estadios (Rochera, 2012). Este, al igual que *B. gaini*, ya ha sido identificado en Lago Uruguay en el Lago Ionosférico (Boletín Antártico, 2022).

Para los experimentos realizados en esta tesis (enero de 2022), los individuos de *B. poppei* fueron colectados en el Lago Uruguay mientras que los individuos de *B. gaini* provinieron del Lago Ionosférico. En ambos casos la colecta se realizó mediante arrastres horizontales con una red cilíndrica de 150 micras de tamaño de malla (Jurasz & Presler, 1983) 24 hrs antes del comienzo del experimento, periodo durante el cual los organismos fueron acondicionados en recipientes con agua de los respectivos lagos, y mantenidos a $5,2 \pm 2,3^{\circ}\text{C}$ y en un régimen de luz:oscuridad de 19:05.

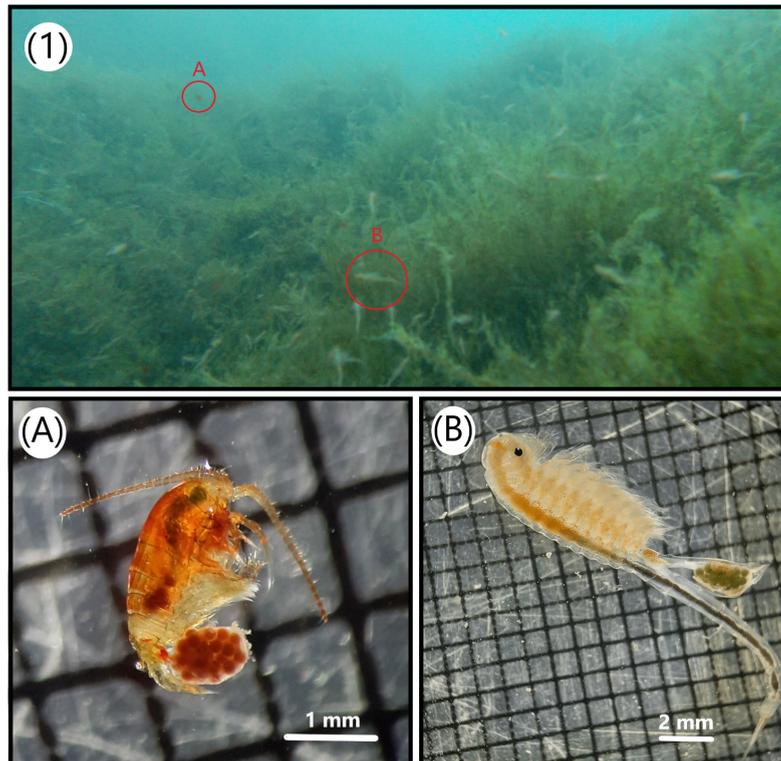


Figura 6. (1) Imagen del fondo del Lago Uruguay, donde se pueden observar la presencia de *B. poppei* (A) y *B. gaini* (B). Ejemplares de hembras adultas con huevos de *B. poppei* (A; obtenida del Lago Uruguay) y *B. gaini* (B; obtenida del Lago Ionosférico).

4.6. Diseño experimental

Se realizaron experimentos de consumo de microplásticos a diferentes concentraciones con y sin colonización previa por biofilm microbiano local (Fig. 7). Se evaluaron las variables de respuesta: tasa de aclarado e ingestión, como estimadores del consumo de MPs ($\text{ml}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, $\text{MPs}\ \text{ind}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), y movilidad al tiempo final del experimento como estimador de sobrevivencia, a partir de la exposición de organismos adultos de cada especie seleccionada, a las diferentes condiciones experimentales.

Las concentraciones de MPs para los experimentos se eligieron previamente en base a las densidades registradas en zonas cercanas al sitio de estudio (Bahía Collins; Krojmal, 2021), o que representan un escenario futuro en función de la tendencia histórica global del aumento de la producción de este material y su contaminación asociada (Statista, 2019). A partir de las densidades reportadas de $8,4 \pm 6,2$ items/ m^3 (2016-2018), se generó una conversión aproximada para una unidad compatible con concentraciones, para que esta pueda ser útil a la hora de realizar el experimento. Calculando así, una concentración similar a la densidad promedio ($\text{MP1}=0,01$ g/l; aprox. 45 items/ml) y una concentración un orden de magnitud más alta con respecto a esta ($\text{MP10}=0,1$ g/l; aprox. 450 items/ml), que representó un escenario de aumento futuro de esta contaminación. Estas dos concentraciones se prepararon utilizando soluciones stock de un rallado de MPs compuesto por partículas irregulares de diferentes colores y composiciones poliméricas. Teniendo en cuenta el rango de tamaño de consumo de partículas de las especies seleccionadas para el experimento (Sección 5.3) este rallado fue tamizado, conservándose únicamente la fracción menor a 125 μm . Las soluciones stock se realizaron pesando los MPs secos en una balanza de

precisión, y generando las respectivas diluciones para generar las concentraciones establecidas.

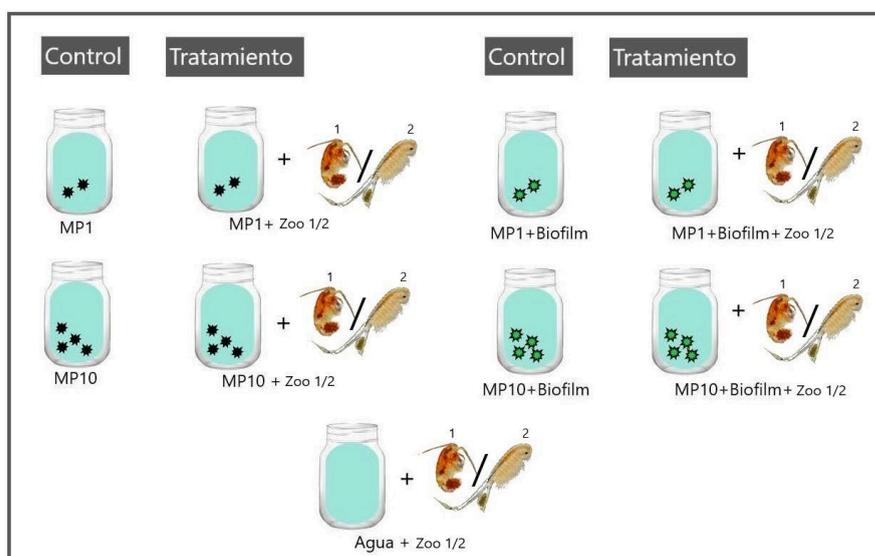


Figura 7. Diseño del experimento. A la izquierda se observa el tratamiento con dos concentraciones de MPs: MP1 (0,01 g/l) y MP10 (0,1 g/l) sin biofilm, y a la derecha con previa incubación en agua filtrada del lago. Los controles y tratamientos tuvieron 5 réplicas cada uno. Se realizó un experimento con *Branchinecta gaini*, y otro igual con *Boeckella poppei*.

Todos los MPs utilizados en los experimentos fueron desinfectados previamente con alcohol, secados en estufa a 30°C, y depositados en recipientes desinfectados de igual forma. Los medios de los tratamientos que no implicaron una colonización de los MPs fueron preparados previo al comienzo del experimento. Sin embargo, para los tratamientos que sí implicaron MPs colonizados con biofilm bacteriano, los medios de ambas concentraciones se prepararon 15 días antes del experimento, considerando que los lagos son oligotróficos (Schmid et al., 2017) y esto podría retrasar la colonización y crecimiento de los organismos. Si bien existen estudios similares que utilizaron incubaciones por períodos más cortos (entre 36 y 96 hrs, Lee et al., 2008; Wireczorek et al., 2019), los 15 días de incubación coinciden con la fase temprana de la formación de biofilm según De Tender et al. (2017). En distintas cantidades según cada una de las concentraciones, los MPs desinfectados fueron incubados en agua filtrada por 23 µm del Lago Ionosférico o el Lago Uruguay, dependiendo de la especie considerada, en frascos de vidrio tapados y mantenidos en heladera a una temperatura promedio de $5,2 \pm 2,3^{\circ}\text{C}$ y en un régimen de luz:oscuridad de 19:05 (Anexo 4).

Para el seguimiento de la colonización y crecimiento de biofilms sobre los MPs se utilizaron dos métodos. Durante los 15 días de incubación previo al inicio del experimento se utilizó el ensayo de Cristal Violeta para verificar la formación de biofilm. Este ensayo es una prueba sencilla, adecuada a las condiciones disponibles en la BCAA, que permitió corroborar de forma rápida la colonización de los MPs incubados, en comparación a MPs sin colonizar pero que no puede distinguir el estado de vida de las células (Tu et al., 2020). Mediante esta técnica, si se produce formación del biofilm, los MPs incubados presentarán una coloración violeta más intensa que los MPs de los controles, diferencia que fue medida mediante

absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro Peak Instruments, Modelo: C-7200. Por otro lado, buscando un análisis más detallado del biofilm, se preservaron controles de las incubaciones en paraformaldehído al 10% para una posterior verificación del desarrollo del biofilm. Para ello se utilizó una tinción de Hoechst (33342; 7.5 µl en 100 µl vol), específica para la tinción de ADN, y una posterior visualización y análisis bajo un microscopio de barrido láser confocal (MBCL; Zeiss LSM 800 Airy Scan) con una cámara estática Axio-observer 2.0 invertida, y el software ZenBlue 2.3. Este trabajo se realizó bajo la supervisión de la Dra. Paola Scavone del Departamento de Microbiología del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (Montevideo, Uruguay). Inicialmente se localizaron los MPs con un filtro verde ya que estos tienen autofluorescencia en esa longitud de onda, para luego realizar reconstrucciones en 3D y así lograr registrar el crecimiento del biofilm sobre los MPs. Estas reconstrucciones fueron realizadas gracias a la colaboración de la Tecnóloga Médica Nicole Canales Huerta (ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile).

Todos los tratamientos y sus respectivos controles tuvieron 5 réplicas, y se utilizaron unidades experimentales de 125 mL (botellas Schott; Fig 7). En todos los tratamientos se colocó un organismo adulto con huevos por cada réplica en el caso de *B. gaini*, y 10 organismos adultos con huevos por cada réplica para *B. poppei*, siempre procurando utilizar organismos de tamaños similares entre los tratamientos. Estos tamaños se verificaron bajo una lupa con reglilla incorporada luego del experimento al medir a los organismos modelo. En el caso de *B. gaini* se consideró la suma de las medidas del abdomen y del cefalotórax+cabeza, mientras que en *B. poppei*, se consideró la medida desde la cabeza hasta el último segmento. Las botellas fueron cubiertas con parafilm, permitiendo el intercambio de oxígeno y evitando la contaminación por MPs en el aire. Cada unidad experimental fue agitada suavemente invirtiendo la botella Schott cada 4 horas entre el inicio y final del experimento con el fin de resuspender los MPs y evitar aglomeraciones. Los experimentos se realizaron durante 24 hrs, en un régimen de luz:oscuridad de 19:05, y a temperatura similar a la ambiental (i.e. en heladera a una temperatura media del aire de 6,5°C; Anexo 5 y 6). A tiempo final se evaluó la sobrevivencia por movilidad, donde la muerte del organismo se asocia a una movilidad nula y la sobrevivencia a la presencia de movimiento. Los organismos se guardaron en tubos Eppendorfs y fijados con alcohol al 75% para su posterior medición y digestión. El contenido de todas las unidades experimentales fueron luego fijados con formol al 4%, en las propias botellas Schott.

4.7. Análisis de experimentos

Para calcular tasas de aclarado e ingestión se contaron y midieron todos los MPs en los medios experimentales de cada tratamiento y control a tiempo final. Este análisis se realizó mediante un Analizador de Partículas Elzone II 5390 en el Laboratorio de Análisis de Partículas del Centro Universitario Regional del Este en Rocha, en el marco de una pasantía bajo la supervisión del Dr. Danilo Calliari (Facultad de Ciencias-CURE, UdelAR; Fig. 9). Se realizó un conteo de las concentraciones iniciales de MPs mediante los controles experimentales y un conteo de las concentraciones finales de MPs mediante los medios experimentales de los tratamientos a tiempo final. Este equipo presenta grandes ventajas frente a otras metodologías de conteo de partículas no automatizadas como el conteo por observación directa al microscopio de luz polarizada ya que permite analizar un mayor porcentaje de la muestra, hacerlo en un tiempo mucho menor, evitando los sesgos del

conteo manual, y además proporciona información extra muy valiosa como el tamaño de cada partícula. Cabe destacar que esta fue la primera vez que se utilizó en Uruguay este equipo para el conteo de MPs en agua, por lo que fue necesario una puesta a punto del protocolo, en base al utilizado para el conteo de fitoplancton marino.

El nuevo protocolo generado se definió en 5 pasos (Anexo 3). Los datos obtenidos se depuraron, generando agrupaciones por rangos de tamaño de a 20 μm , y generando los descuentos pertinentes con los blancos asociados y los controles de partículas presentes en el agua experimental con derivados exclusivamente de la actividad del organismo (sin MPs). Finalmente se extrapolaron los datos a la unidad establecida (1 mL) teniendo en cuenta los volúmenes de muestras analizados.

Posteriormente se determinaron (cuantificaron) las tasas de consumo en cada tratamiento mediante el cálculo de tasas de aclarado (TA) y tasas de ingestión (TI), de acuerdo a lo propuesto por Morales et al. (2009) y Frost et al. (1972).

Las TA se definieron como el volumen de agua procesado que un individuo limpia de partículas por tiempo ($\text{ml ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), y se calcularon como:

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

donde v es el volumen experimental, Ce es la concentración final de la unidad experimental, Cc es la concentración final en la unidad control, $N^{\circ}ind$ es el número de individuos y el tiempo es la duración en horas del experimento.

Las TI se definieron como la cantidad de alimento (microplásticos en este caso) consumido por individuo por tiempo ($\text{MPs ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) y se calculó como:

$$TI = F \times \text{Promedio } Cc$$

$$\text{Donde } F \text{ es: } F = \frac{v \times g}{N^{\circ}ind}$$

$$\text{Donde } g \text{ es: } g = -\log\left(\frac{Ce}{\text{Promedio } Cc}\right) \times \frac{1}{tiempo}$$

En aquellos casos donde las TI y TA fueron negativas se asumió que la metodología utilizada no permitió evaluar adecuadamente las diferencias de conteo entre control y tratamiento, por lo que se les asignó un valor igual a cero.

Los organismos utilizados en el experimento fueron digeridos para corroborar cualitativamente la presencia de MPs en su contenido estomacal (evaluando 3 de las 5 réplicas para cada tratamiento y experimento). Para ello se dirigieron a estos organismos con KOH 10% durante aproximadamente 12 hs a 60°C. Luego, fueron observados bajo la lupa en busca de MPs que fueron fotografiados y separados a un filtro de GF/C en placa de Petri para su posterior identificación y caracterización polimérica en el micro-FTIR (ver ítem 4.4).

4.8. Análisis estadísticos

Para evaluar las diferencias de densidades de MPs ambientales del hábitat de los organismos y de las variables respuesta de cada especie entre los diferentes tratamientos: con biofilm microbiano, sin biofilm, y las dos concentraciones (0,1 y 0,01 g/l), se utilizó ANOVA de una vía con comparación *post-hoc* por Test de Tukey en aquellas variables que cumplieron con las condiciones de normalidad y homocedasticidad. Las variables que no cumplieron con este requisito fueron evaluadas mediante Test de Kruskal-Wallis, con comparación *post-hoc* por Test de Dunn. La normalidad de las variables se analizó con el Test de Shapiro-Wilk, y la homocedasticidad con el Test de Bartlett cuando hubo normalidad, y cuando no con el Test de Fligner-Killeen. En el caso de los datos que no cumplieron con la suposición de homogeneidad de varianzas, se utilizó el Test de Games Howell. Los resultados fueron considerados significativos a un $p < 0,05$. Los análisis estadísticos se realizaron en RStudio versión 2023.12.1+ 402.

5. Resultados

5.1. Microplásticos en sistemas límnicos antárticos

Se identificaron un total de 131 partículas antropogénicas (APs), 52 en la entrada y 79 en la salida del Lago Ionosférico. La submuestra aleatoria sometida a caracterización espectroscópica consistió en 96 partículas (86 fibras, 8 fragmentos y 2 conjuntos de fibras; e.g. Fig. 8), lo que representó un 76% del total de las APs. De las 96, 31 se identificaron positivamente como plásticos (polímeros sintéticos, con coincidencia $\geq 70\%$) y 40 como sintéticos celulósicos (coincidencia $\geq 70\%$) (Fig. 9.A). Las 25 partículas restantes no pudieron identificarse al nivel de confiabilidad establecido para esta tesis (coincidencia $< 70\%$). Diez de ellas se catalogaron como “plásticos 50%-70%”, otras 10 como “sintéticos celulósicos 50%-70%” (que incluyó rayón, celofán, algodón, lino, papel y cáñamo) y las 5 restantes como “sin identificación” (Anexo 5). Dentro de los plásticos (coincidencia $\geq 70\%$), los polímeros registrados fueron el poliéster (PES; 65%), acrílico (16%), nylon/poliamida (10%), resinas alquídicas (6%), polipropileno (PP; 6%) y polietileno (PE; 3%) (Fig. 9.B; Anexo 6). A partir de los respectivos descuentos por controles se detectó un total de 93 APs, 39 en la entrada (32 fibras, 5 fragmentos y 2 conjuntos de fibras) y 54 en la salida (51 fibras y 3 fragmentos).

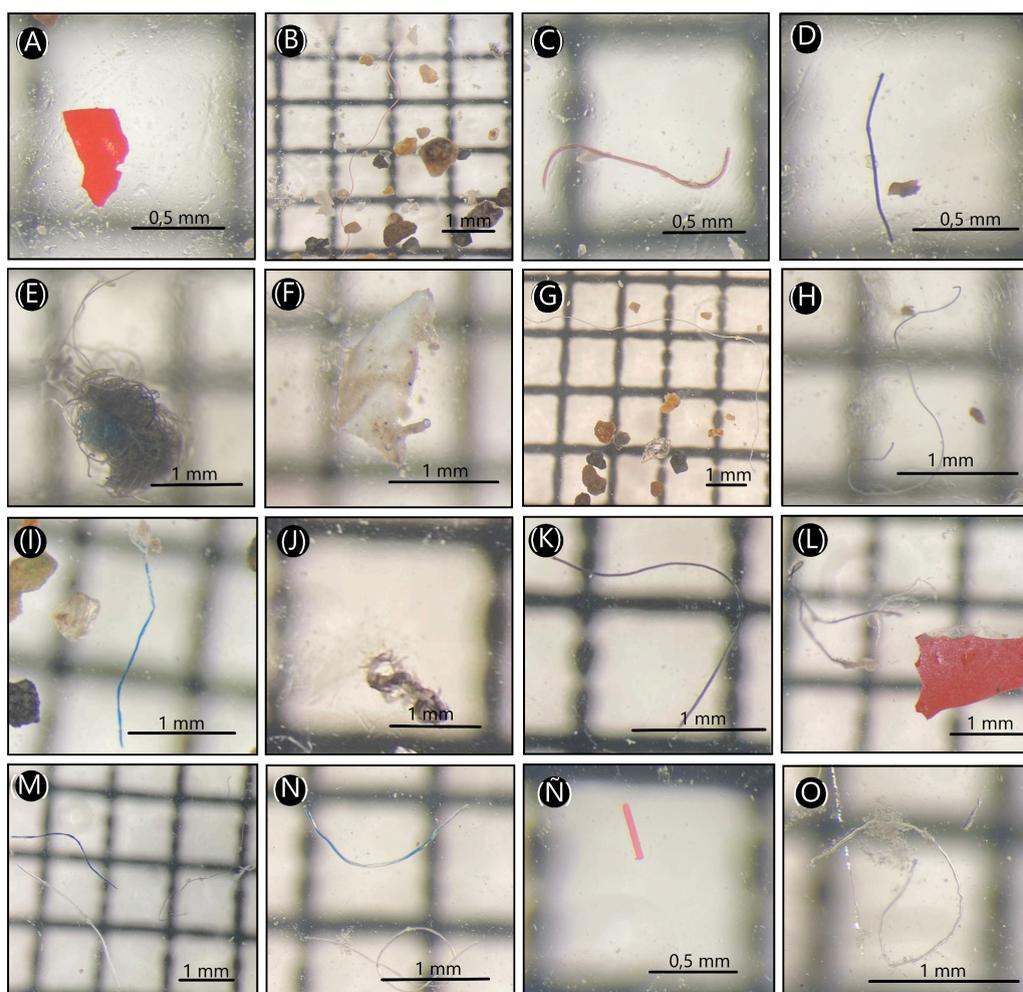


Figura 8. Ejemplos de APs detectadas en el análisis bajo la lupa en las muestras tanto de la entrada (A-H), como de la salida (I-O) del Lago Ionosférico. B, C, D, G, H, I, K, L, M, N, Ñ y O presentan fibras, E conjuntos de fibras y A, F, J y L presentan fragmentos.

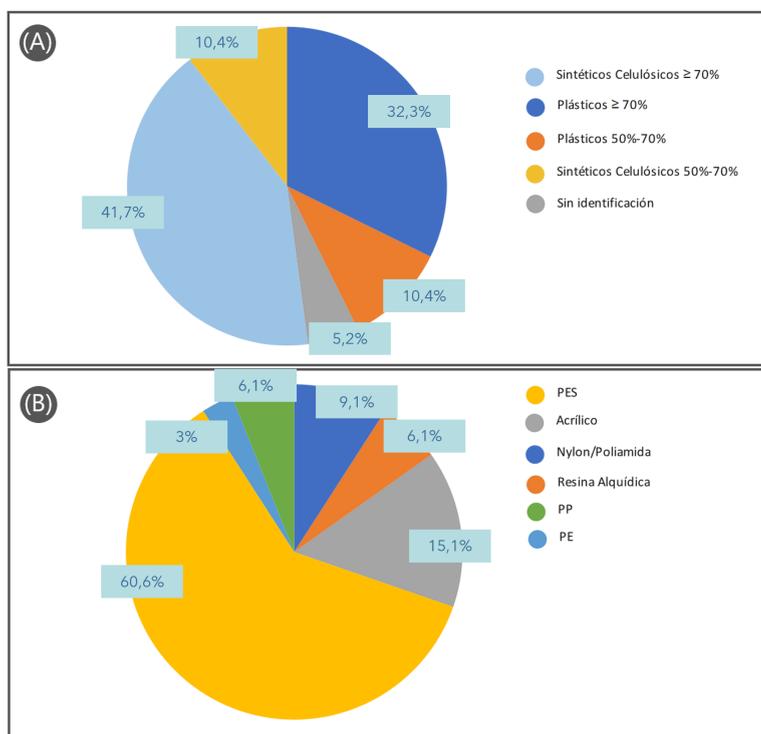


Figura 9. (A) Porcentajes de polímeros encontrados en la salida y entrada del Lago Ionosférico. La categoría sintéticos celulósicos incluyó polímeros como el rayón, celofán, algodón, lino, papel y cáñamo. (B) Porcentajes de los polímeros plásticos ($\geq 70\%$) encontrados en la salida y entrada del Lago Ionosférico. No se consideran plásticos 50%-70%, ni a los semisintéticos celulósicos. PES=poliéster, PE=polietileno, PP=polipropileno.

Todas las muestras y réplicas analizadas de la entrada y salida del Lago Ionosférico presentaron MPs. Las densidades totales, teniendo en cuenta el ajuste por descuentos presentados en los controles, variaron entre 0,35 y 1,61 ítems/m³, con un promedio de $0,97 \pm 0,45$ ítems/m³ (Fig. 10, Anexo 7, A). Los controles de laboratorio (Anexo 8) y procesamiento (Anexo 9) presentaron una baja cantidad de fibras por muestra o ninguna. Sin embargo, el control de muestreo presentó un total de 21 fibras y 1 fragmento, descontándose un total de 25 fibras en las 6 muestras analizadas (Anexo 10). No se detectaron diferencias significativas en la densidad de MPs entre la entrada ($0,8 \pm 0,5$) y la salida ($1,2 \pm 0,4$) del lago (ANOVA 1 vía; $F=1,35$, $p=0,31$). Se detectaron 3 formas de MPs: fibras, fragmentos y conjuntos de fibras. Además, del total de los fragmentos (8), el 50% correspondieron a pinturas rojas que fueron identificadas como resinas alquídicadas. Las fibras fueron la forma más abundante de MPs con un porcentaje siempre mayor al 90%, excepto en una única réplica en la entrada del lago (Anexo 7, B). En esta muestra el porcentaje fue de 70%, seguido del mayor registro de fragmentos (20%) y los únicos dos conjuntos de fibras (10%) encontrados en el estudio.

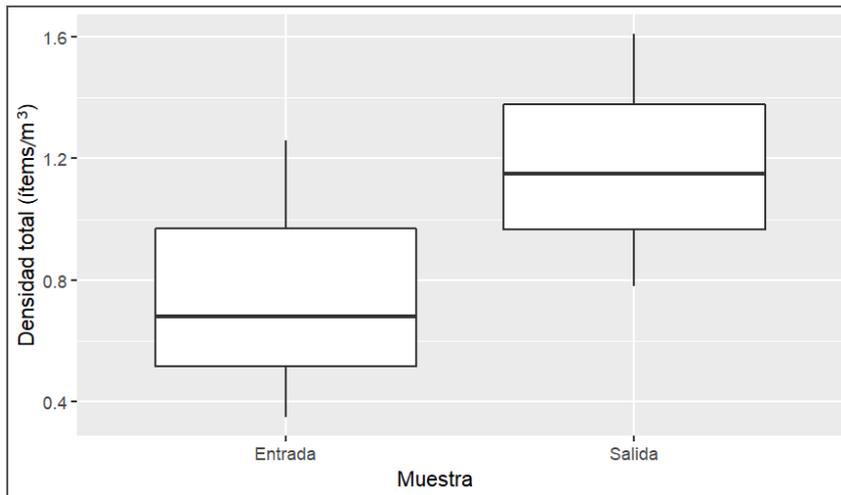


Figura 10. Boxplot de la densidad total de MPs en la entrada y salida del Lago Ionosférico. Las cajas representan las medianas y los cuartiles de los datos, la línea horizontal oscura representa el promedio de los datos y las líneas verticales el rango de distribución.

En cuanto a los tamaños, se registraron fibras desde 0,3 hasta 7 mm con un tamaño medio promedio de $2,0 \pm 1,5$ mm (Anexo 11, A). Un total de 16 fibras estuvieron en el rango de 5 a 7 mm, lo que las categoriza como mesoplásticas (5-25 μ m), mientras que 166 fueron microplásticas (0,3-5 mm). En los fragmentos se registraron tamaños desde 0,3 hasta 6 mm con un tamaño promedio de $1,4 \pm 1,9$ mm (Anexo 11, A), siendo todos microplásticos, a excepción de un único mesoplástico. Los conjuntos de fibras registrados fueron dos, uno de 0,3 y otro de 1,5 mm con un tamaño promedio de $0,9 \pm 0,8$ mm. Teniendo en cuenta el total de los ítems la fracción de tamaño más representada fue la más pequeña (0,3-2 mm; Fig. 11).

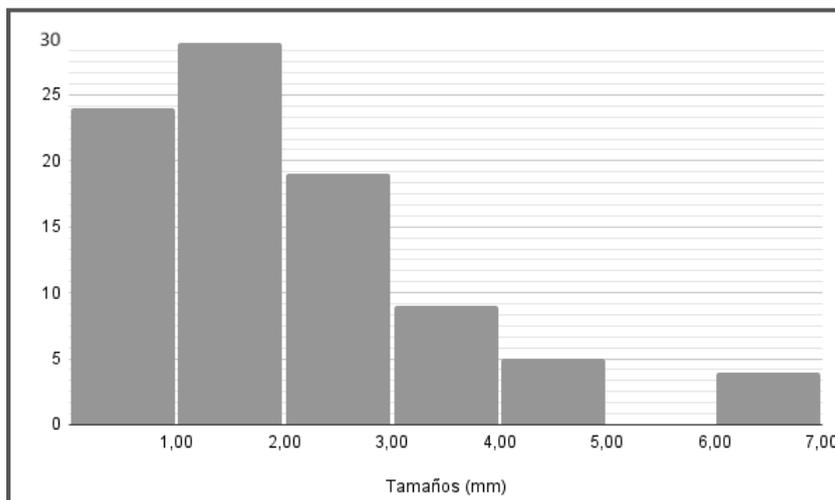


Figura 11. Histograma de tamaños del total de ítems encontrados (valores corregidos por controles).

En cuanto a los colores, se registraron fibras transparentes, azules, grises, rojas, negras, blancas, celestes, marrones, rosadas y amarillas, siendo las negras las más abundantes, seguidas por las azules y las transparentes (Fig. 12, Anexo 11, B). Los fragmentos registraron colores rojos, blancos, negros y grises, siendo los rojos los más abundantes

(Fig. 13, Anexo 11, C). Por otro lado, los dos conjuntos de fibras que se registraron fueron uno gris y otro negro.

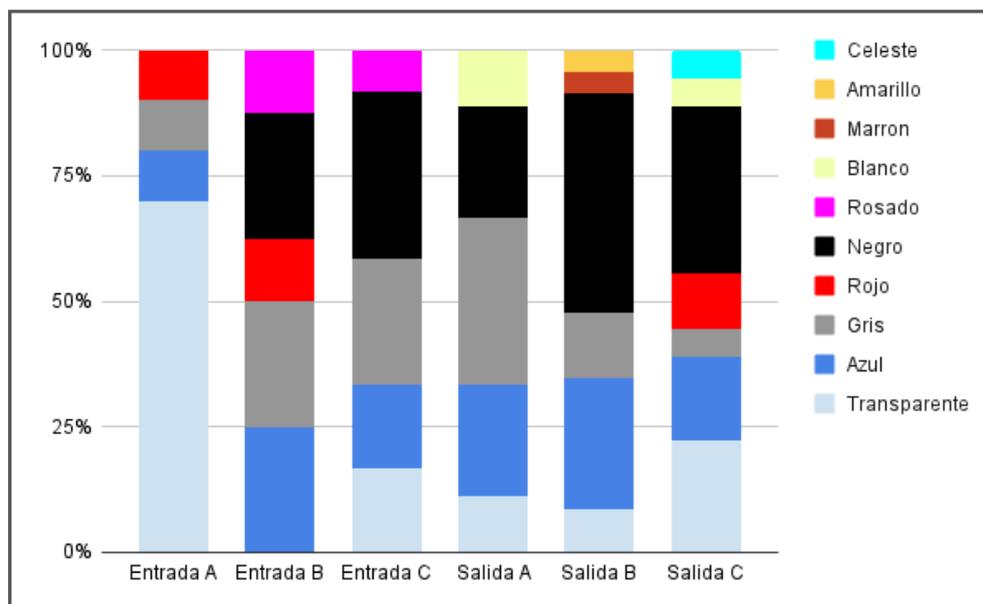


Figura 12. Gráfica de porcentaje de fibras por color para las 3 réplicas de cada muestra (entrada y salida del lago Ionosférico).

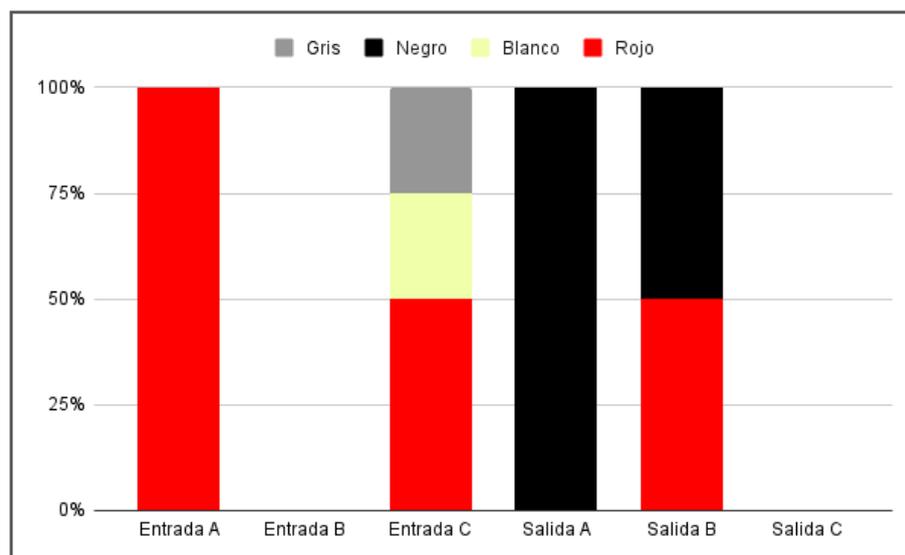


Figura 13. Porcentaje de fragmentos por color para las 3 réplicas de cada muestra (entrada y salida del lago Ionosférico).

5.2. Análisis del diseño experimental

5.2.1 Tamaño y composición de los MPs utilizados en el experimento

El análisis de la distribución de tamaños en el rallado de MPs utilizados en el experimento mostró que los de menor tamaño fueron los más abundantes, particularmente aquellos en el

rango de 30-50 y de 50-70 μm , en comparación con los de 90-110 o de 110-130 μm (Kruskal-Wallis; $\chi^2=37,2$, $p=1,61\text{e-}07$; Fig. 14).

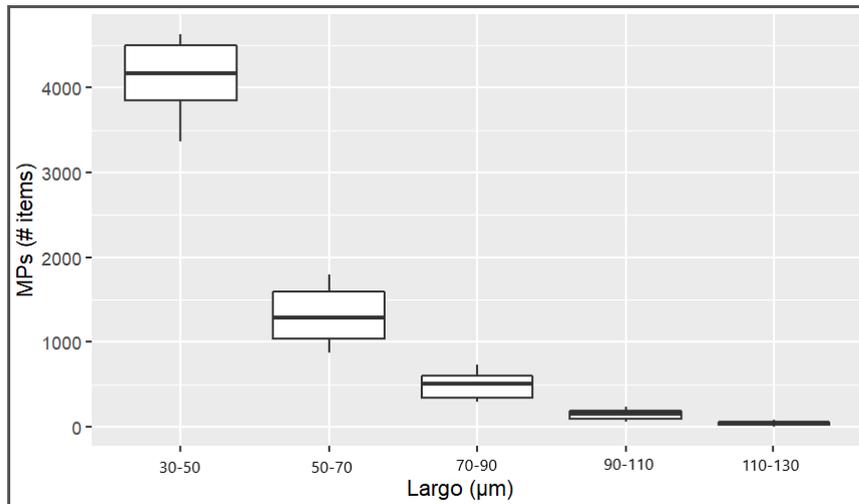


Figura 14. Cantidad de MPs del rallado experimental para diferentes clases de tamaño. Ejemplo realizado con la concentración de 0,1 g/l (MP10) con alícuotas indefinidas. Las cajas representan las medianas y los cuartiles de los datos, la línea horizontal oscura representa el promedio de los datos y las líneas verticales el rango de distribución.

En base a una submuestra aleatoria de 67 ítems se identificó que el rallado contenía 8 polímeros diferentes (porcentaje de coincidencia mayor a 70%, promedio $89 \pm 0,06$ %), de los cuales 4 fueron catalogados como plásticos (polietileno -PE-, polipropileno -PP-, poliéster -PES- y poliestireno -PS-), 3 como sintéticos celulósicos (celulosa, rayón y azlon) y 1 como orgánico (carbonato cálcico). El PE fue el polímero predominante (64%) seguido por el PP (25%), el PS (3%) y el PES (1%) (Fig.15).

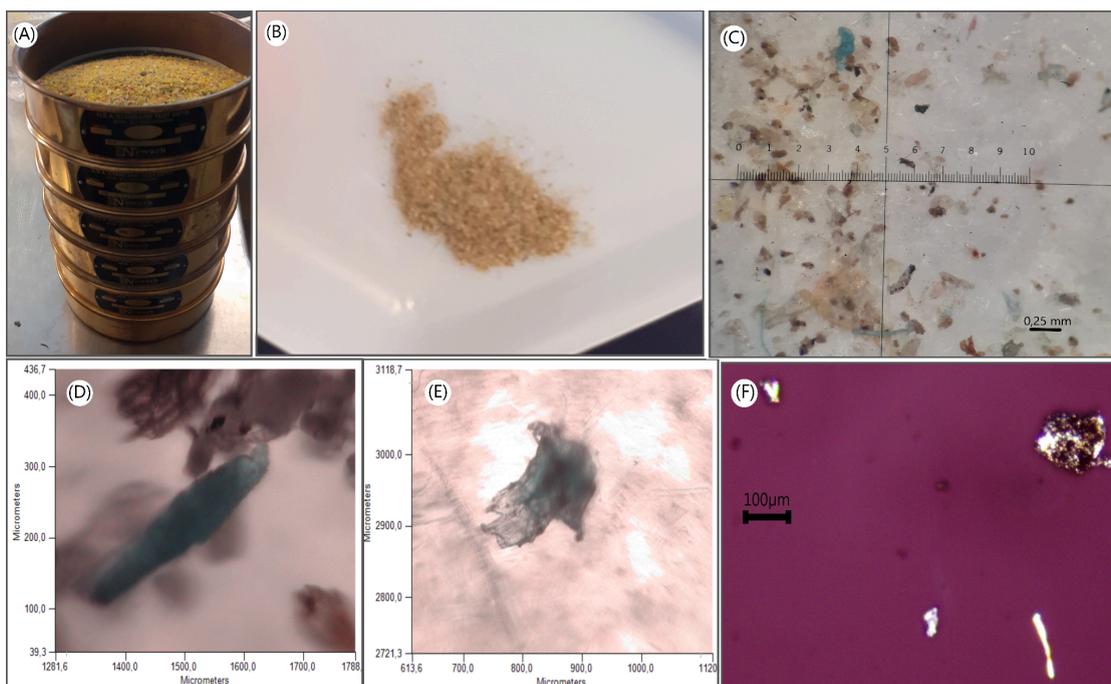


Figura 15. (A) Tamizado del rallado de MPs. (B) Imagen de la fracción inferior a 125 μm , nótese la predominancia del color amarillo. (C) Imagen del rallado bajo la lupa. (D) Ejemplo de MPs de PP bajo micro-FTIR. (E) Ejemplo de MPs de PE bajo micro-FTIR. (F) Imagen del rallado bajo microscopio con filtro de luz ultravioleta.

5.2.2. Desarrollo del biofilm bacteriano en los MPs utilizados en el experimento

En el ensayo de Cristal Violeta se observó una diferencia en la absorbancia entre los controles positivos y negativos, siendo casi cuatro veces mayor en los primeros luego de 15 días de incubación (desde el 31 de enero al 14 de febrero de 2022), lo que sugiere la formación de biofilm (Tabla 1; Fig. 16).

Tabla 1. Ensayo de Cristal Violeta en incubaciones de los MPs utilizados en el experimento. Los controles positivos son MPs previamente desinfectados expuestos a agua de los lagos filtrada por 23 μm por 15 días. Los controles negativos son MPs previamente desinfectados, sin incubación.

Muestra	Absorbancia 540 nm	Promedio
Control positivo 1	0,0408	0,0564
Control positivo 2	0,0830	
Control positivo 3	0,0453	
Control negativo 1	0,0157	0,0150
Control negativo 2	0,0143	
Control negativo 3	0,0149	

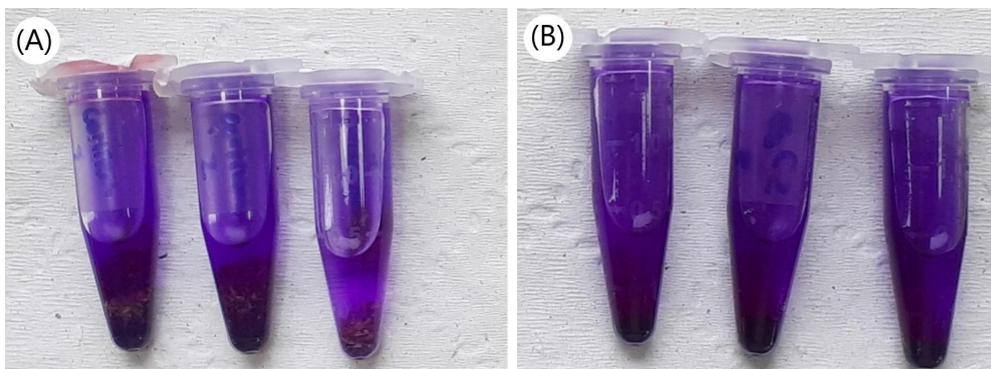


Figura 16. (A) Control negativo y (B) control positivo en el ensayo de cristal violeta.

El análisis posterior de los MPs mediante la MBCL con tinción de Hoechst reveló la presencia de colonias de microorganismos en los MPs previamente desinfectados que fueron incubados, tanto en agua del Lago Uruguay como del Lago Ionosférico (en azul, Fig. 19 A y B, Reconstrucción 3D en Anexo 15). Las colonias identificadas tendieron a distribuirse por toda la superficie de los MPs incubados, mientras que estuvieron ausentes en los controles (Fig. 17 C y D).

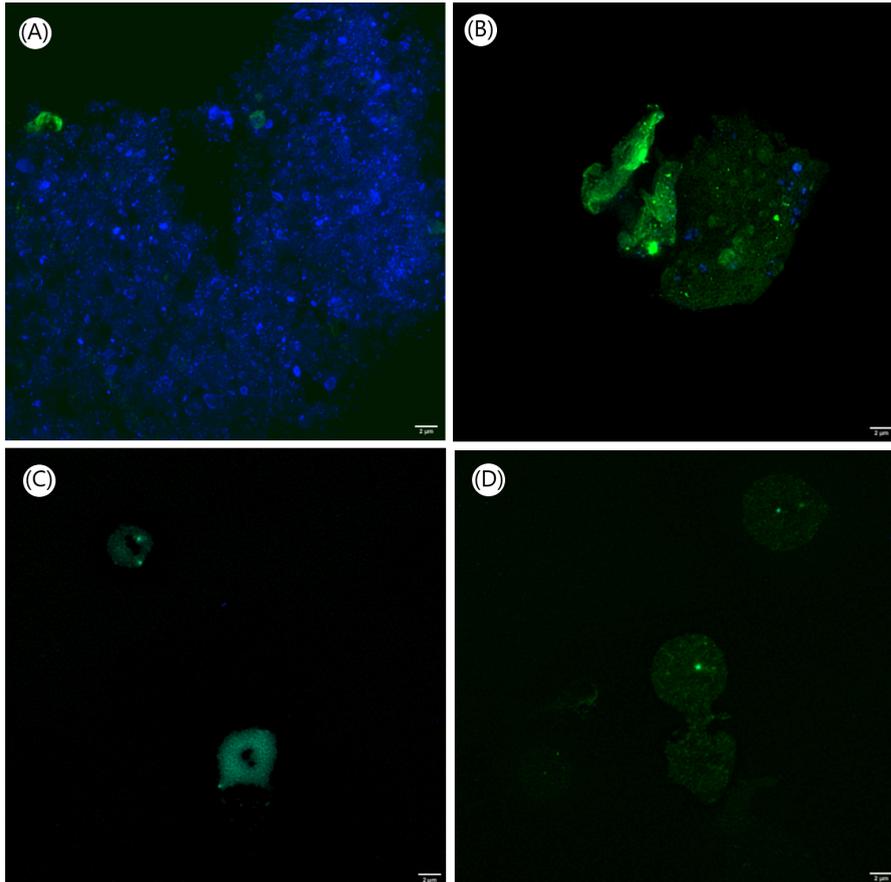


Figura 17. Imágenes de MPs bajo el MBCL, en azul se observa el crecimiento del biofilm mientras que en verde se observa la autofluorescencia del plástico. (A) MPs incubados en agua del Lago lonosférico, (B) MPs incubados en agua del Lago Uruguay y (C, D) controles de MPs sin incubar.

5.2.3. Tamaños de los organismos seleccionados para los experimentos

Los tamaños corporales de los individuos de *B. poppei* utilizados en los experimentos variaron entre 1,29 y 1,9 mm y no presentaron diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA 1 vía; $F=0,32$, $p=0,86$; Fig. 18.A). Los tamaños corporales de los organismos experimentales de *B. gaini* variaron entre 8,3 y 14,8 mm y si bien se observaron organismos de mayor tamaño corporal en MP10 y menores en el control, las diferencias tampoco resultaron significativas (Games-Howell; $F = 2,5$, $p= 0,1$; Fig. 18.B).

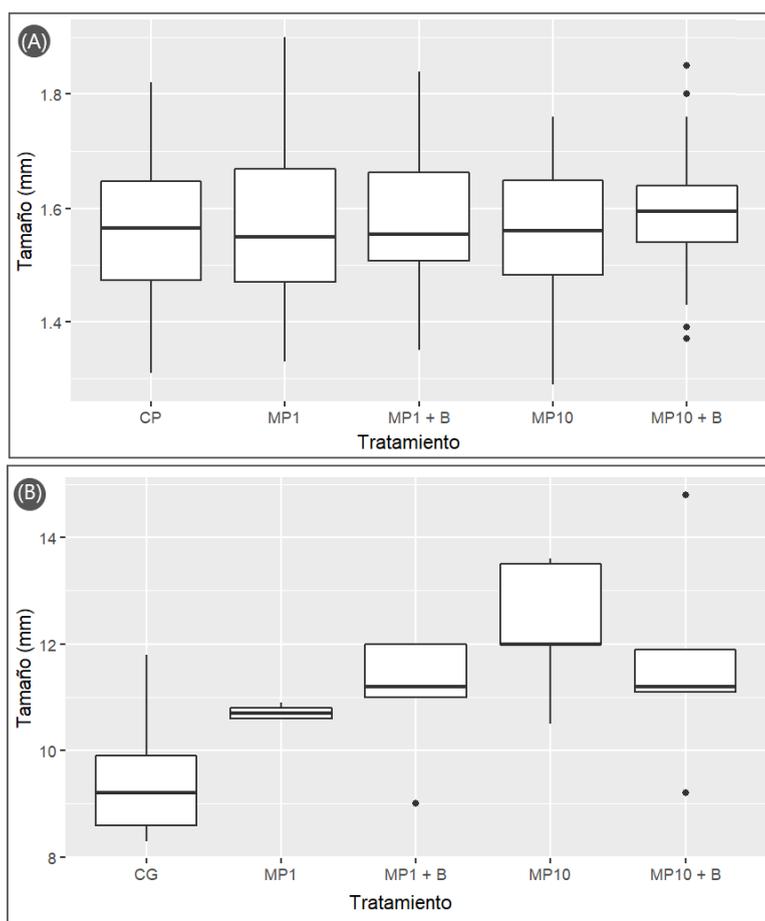


Figura 18. (A) Distribución de tamaños (mm) de los organismos experimentales en los controles de *B. poppei* (CP) y los diferentes tratamientos (MP1, MP1+B, MP10, MP10+B). (B) Distribución de tamaños (mm) los organismos experimentales en los controles de *B. gaini* (CG) y los diferentes tratamientos (MP1, MP1+B, MP10, MP10+B). Las cajas representan las medianas y los cuartiles de los datos, la línea horizontal oscura representa el promedio de los datos y las líneas verticales el rango de distribución.

5.3. Experimento con *Boeckella poppei*

Se registraron únicamente 2 muertes en una réplica del tratamiento de MP1 y otra en una réplica de MP10+B. Con respecto a los controles, se observó una aparente disminución en la movilidad en todos los organismos del tratamiento MP10 y en algunos de MP10+B. En cuanto a los pellets fecales, no se lograron identificar en ningún tratamiento.

A partir de la digestión de los organismos experimentales, se corroboró que *B. poppei* ingirió MPs (Fig. 19). A pesar de que no se detectaron MPs en todos los organismos, sí se pudieron detectar en al menos un organismo de cada tratamiento. Los MPs observados fueron únicamente negros, grises y transparentes (Fig. 19). A partir de una verificación aleatoria de los polímeros por micro-FTIR se pudieron registrar con >70% coincidencia la presencia de partículas de PE y PP.

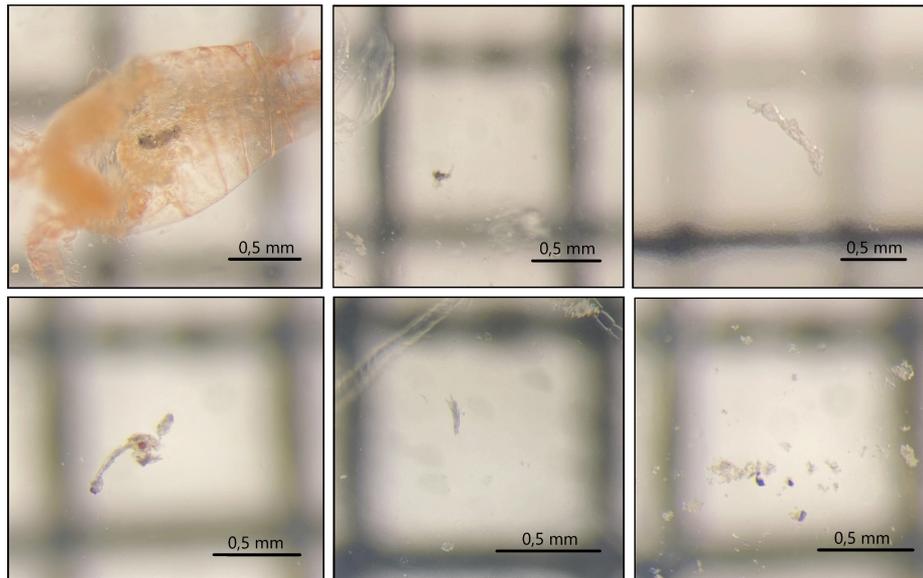


Figura 19. Imágenes de MPs bajo la lupa, detectados en los organismos experimentales digeridos.

Las tasas de aclarado (TA) de MPs de los tamaños entre 30-130 μm variaron entre 0,0 y 0,2 $\text{mL ind}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (promedio $0,11 \pm 0,08 \text{ mL ind}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Fueron significativamente mayores en los tratamientos con MPs cubiertos por biofilm en ambas concentraciones (ANOVA 1 vía; $F=10,5$, $p=0,0004$; Fig. 20, Anexo 17 y 18). Cabe destacar que dentro del tratamiento de concentraciones altas sin biofilm (MP10), tres de las cinco réplicas se estimaron a cero por tasas negativas (ver Metodología).

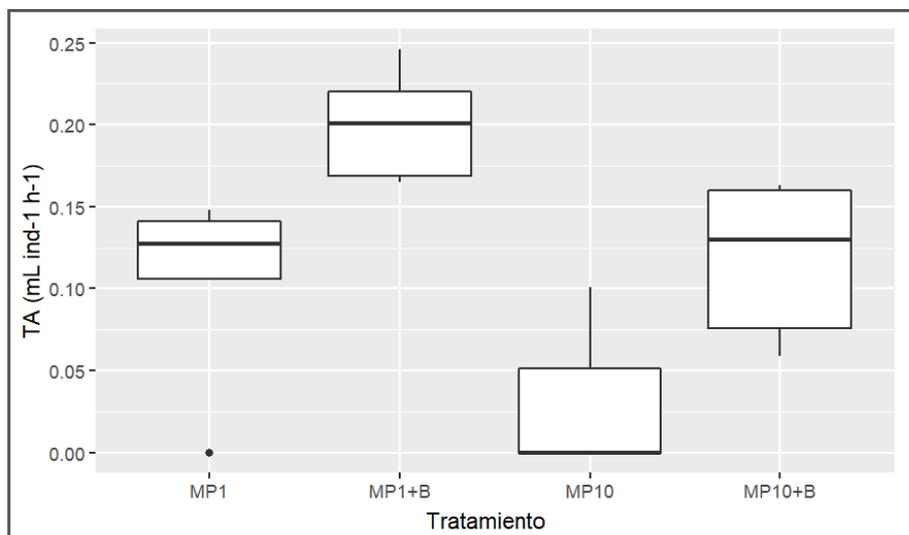


Figura 20. Boxplot de tasas de aclarado de MPs de *B. poppei* (30-130 μm) para los cuatro tratamientos, a concentraciones bajas (0,01 g/l) sin (MP1) y con biofilm (MP1+B) y a concentraciones altas (0,1 g/l) sin (MP10) y con biofilm (MP10+B). Las cajas representan las medianas y los cuartiles de los datos, la línea horizontal oscura representa el promedio de los datos y las líneas verticales el rango de distribución.

Las tasas de ingestión (TI) de MPs de los tamaños entre 30-130 μm variaron entre 0,0 y 45,2 $\text{MPs ind}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (promedio $12,6 \pm 14,7 \text{ MPs ind}^{-1}.\text{h}^{-1}$) y fueron mayores en presencia de biofilm y sobre todo a concentraciones altas. Las tasas de ingestión en tratamientos con

altas concentraciones y presencia de biofilm (MP10+B) fueron significativamente mayores a las que no presentaron biofilm (MP10 y MP1) (Kruskal-Wallis; $\chi^2 = 11,7$, $p=0,01$; Fig. 21, Anexo 17 y 18).

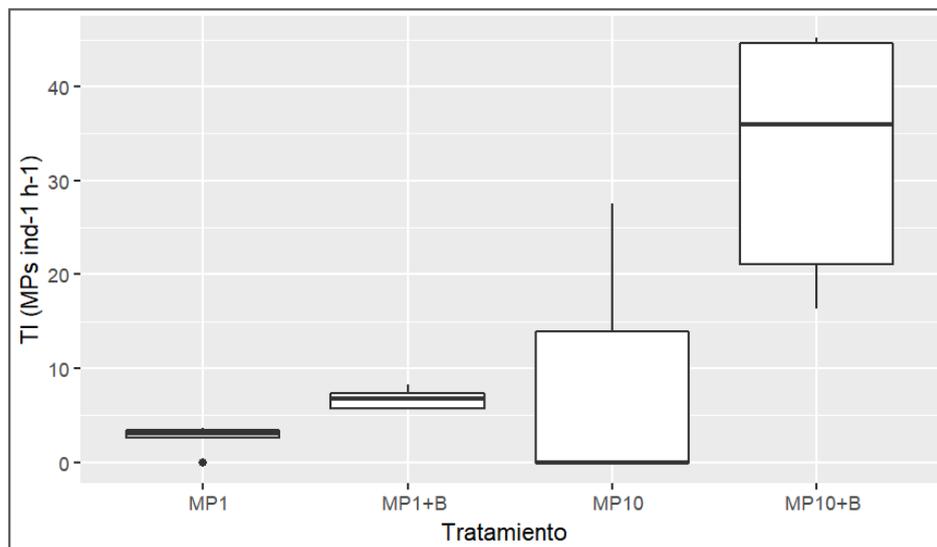


Figura 21. Boxplot de tasas de ingestión de MPs de *B. poppei* (30-130 μm) para los cuatro tratamientos, a concentraciones bajas (0,01 g/l) sin (MP1) y con biofilm (MP1+B) y a concentraciones altas (0,1 g/l) sin (MP10) y con biofilm (MP10+B). Las cajas representan las medianas y los cuartiles de los datos, la línea horizontal oscura representa el promedio de los datos y las líneas verticales el rango de distribución.

Al explorar las tasas en diferentes rangos específicos de tamaños de MPs, se observó un mayor consumo de MPs en aquellos que miden 30-50 μm y 50-70 μm (Fig. 22, Anexo 19). Se encontraron diferencias significativas en el rango de 30-50 μm , siendo mayores las TI de MP10+B en comparación a aquellas sin biofilm de ambas concentraciones (Kruskal-Wallis; $\chi^2=12,08$, $p=0,01$). Sin embargo, en el rango 50-70 μm las diferencias no fueron significativas (Kruskal-Wallis; $\chi^2=7,49$, $p=0,06$). Las TA fueron significativamente superiores en el rango 30-50 μm (Kruskal-Wallis; $\chi^2=14,11$, $p=0,002$), para los tratamientos de MP1+B en comparación con ambos tratamientos sin biofilm. Sin embargo en el rango 50-70 μm no se detectaron diferencias significativas (Kruskal-Wallis; $\chi^2=4,49$, $p=0,21$).

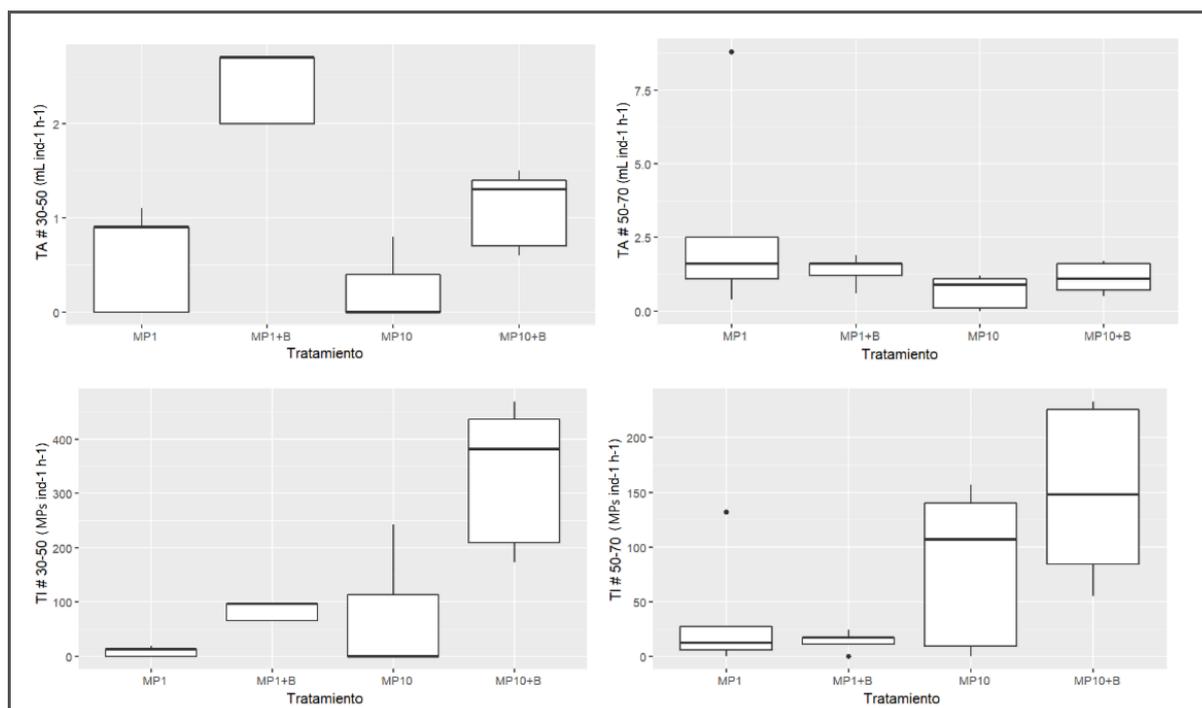


Figura 22. Boxplots de tasas de aclarado (superiores) y de ingestión (inferiores) de MPs de *B. poppei* para los rangos de tamaño más representativos (30-50, y 50-70 μm) en función de los cuatro tratamientos, a concentraciones bajas (0,01 g/l) sin (MP1) y con biofilm (MP1+B) y a concentraciones altas (0,1 g/l) sin (MP10) y con biofilm (MP10+B). Las cajas representan las medianas y los cuartiles de los datos, la línea horizontal oscura representa el promedio de los datos y las líneas verticales el rango de distribución.

5.4. Experimento con *Branchinecta gaini*

La sobrevivencia de *B. gaini* fue del 100% en todos los tratamientos experimentales, y no se observaron cambios aparentes en la movilidad. En cuanto a los pellets fecales, no se lograron identificar en ningún tratamiento.

A partir de la digestión de los organismos experimentales, se corroboró que *B. gaini* ingirió MPs (Fig. 23). Se pudieron detectar una gran cantidad de MPs en todos los tratamientos, los cuales presentaron una gran variedad de colores (amarillo, transparente, azul, verde, rosado, gris y negro).

A partir de una verificación aleatoria de los polímeros por micro-FTIR, las partículas analizadas resultaron ser PE y PP. Los tratamientos con altas concentraciones y biofilm (MP10+B) tuvieron una proporción casi única de PE (réplica 1: 69%, réplica 2: 100%, réplica 3: 100%). Los tratamientos con concentraciones bajas y biofilm (MP1+B) tuvieron una proporción indiferente entre PP y PE (réplica 1: 67% y 33%, réplica 2: 33% y 67%, réplica 3: 50% y 50%). Los tratamientos sin biofilm y con altas concentraciones (MP10) fueron predominantemente PE (réplica 1 y 2: 57%, réplica 3: 25% - PP:75%). Los tratamientos sin biofilm y con concentraciones bajas (MP1) fueron predominantemente PE (réplica 1: 60%, réplica 2: 67%, réplica 3: 38% - PP 63%).

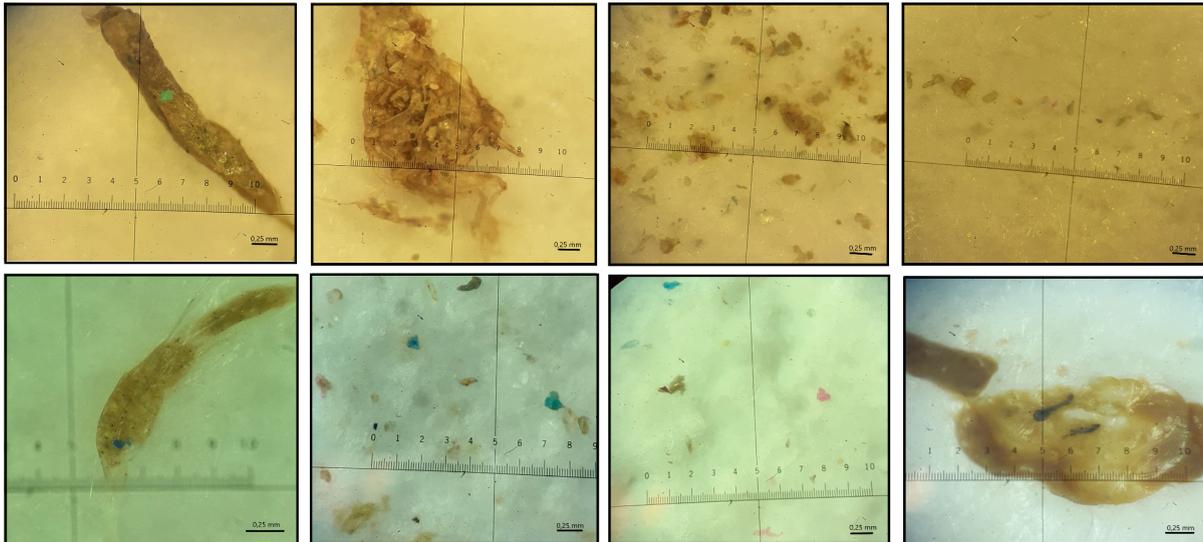


Figura 23. Imágenes de MPs bajo la lupa, detectados en los organismos experimentales digeridos.

Las tasas de aclarado (TA) de MPs de los tamaños entre 30-130 μm variaron entre 0,0 y 2,8 $\text{mL ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (promedio $1,0 \pm 0,8 \text{ mL ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). Para los dos tratamientos con presencia de biofilm (MP10+B, MP1+B) las TA no pudieron cuantificarse exitosamente debido a que la mayoría de las réplicas no mostraron datos positivos (ver metodología). Sin embargo, se pudo observar que estas tendieron a ser mayores a concentraciones bajas (MP1; 0,01 g/l), con diferencias marginalmente significativas entre los tratamientos (ANOVA 1 vía; $F=3,18$; $p=0,05$; Fig. 24, Anexo 16 y 18).

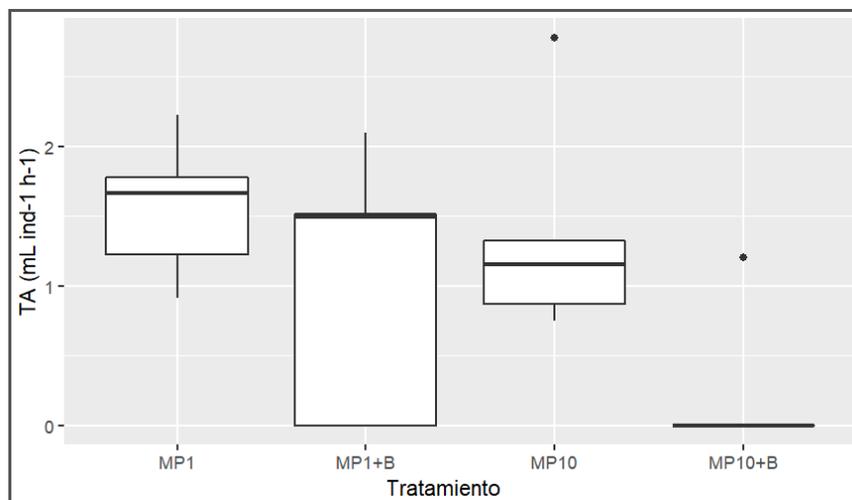


Figura 24. Boxplot de tasas de aclarado de MPs por *B. gaini* (30-130 μm) en función de los cuatro tratamientos, a concentraciones bajas (0,01 g/l) sin (MP1) y con biofilm (MP1+B) y a concentraciones altas (0,1 g/l) sin (MP10) y con biofilm (MP10+B). Las cajas representan las medianas y los cuartiles de los datos, la línea horizontal oscura representa el promedio de los datos y las líneas verticales el rango de distribución.

Las tasas de ingestión (TI) de MPs de los tamaños entre 30-130 μm variaron entre 0,0 y 692,2 $\text{MPs ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (promedio $239,1 \pm 355 \text{ MPs ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), y fueron significativamente mayores en los tratamientos con concentraciones altas y sin biofilm (MP10; 0,10 g/l) (Kruskal-Wallis; $\chi^2=13,5$, $p=0,004$; Fig. 25, Anexo 16 y 18).

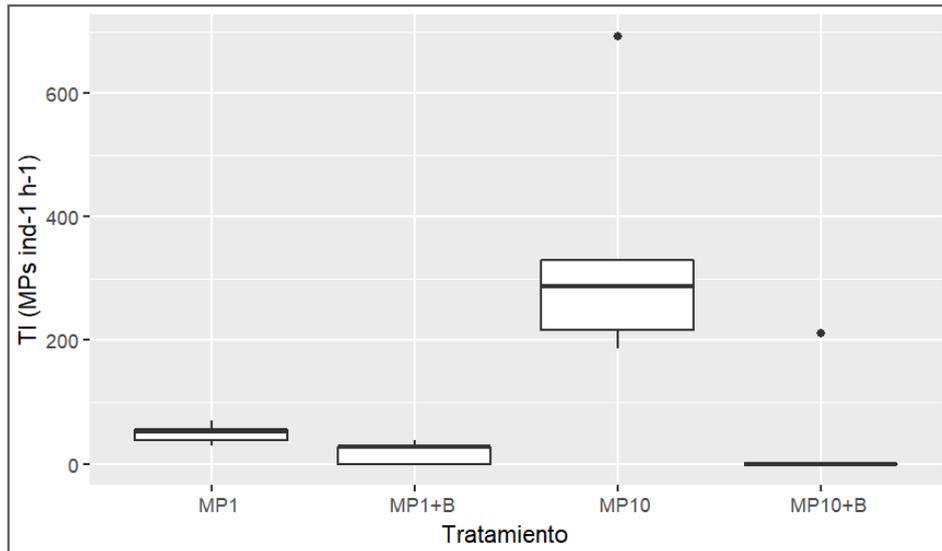


Figura 25. Boxplot de tasas de ingestión de MPs por *B. gaini* (30-130 µm) en función de los cuatro tratamientos, a concentraciones bajas (0,01 g/l) sin (MP1) y con biofilm (MP1+B) y a concentraciones altas (0,1 g/l) sin (MP10) y con biofilm (MP10+B). Las cajas representan las medianas y los cuartiles de los datos, la línea horizontal oscura representa el promedio de los datos y las líneas verticales el rango de distribución.

Al explorar las tasas en diferentes rangos específicos de tamaños de MPs, se observó que los rangos de tamaño de MPs más consumidos por esta especie fueron 30-50 µm y 50-70 µm (Fig. 26; Anexo 20). Se detectan diferencias significativas en las tasas de aclarado tanto entre los tratamientos MP10+B y MP1 en el rango 30-50 µm (Kruskal-Wallis; $\chi^2=9,3$, $p=0,03$), como de los tratamientos MP10 y MP1 en el rango de 50-70 µm (Kruskal-Wallis; $\chi^2=10,4$, $p=0,01$) siendo mayores en los tratamientos con concentraciones mayores (MP10+B y MP10 respectivamente). En las tasas de ingestión se detectaron diferencias significativas tanto en el rango 30-50 µm (Kruskal-Wallis; $\chi^2=9,8$, $p=0,02$) como en el rango de 50-70 µm (Kruskal-Wallis; $\chi^2=14,1$, $p=0,003$), siendo mayores en MP10 comparativamente con MP1+B. A su vez, en el rango 50-70 µm también se detectan diferencias significativas entre los tratamientos con concentraciones altas con ausencia (MP10) o presencia de biofilm (MP10+B).

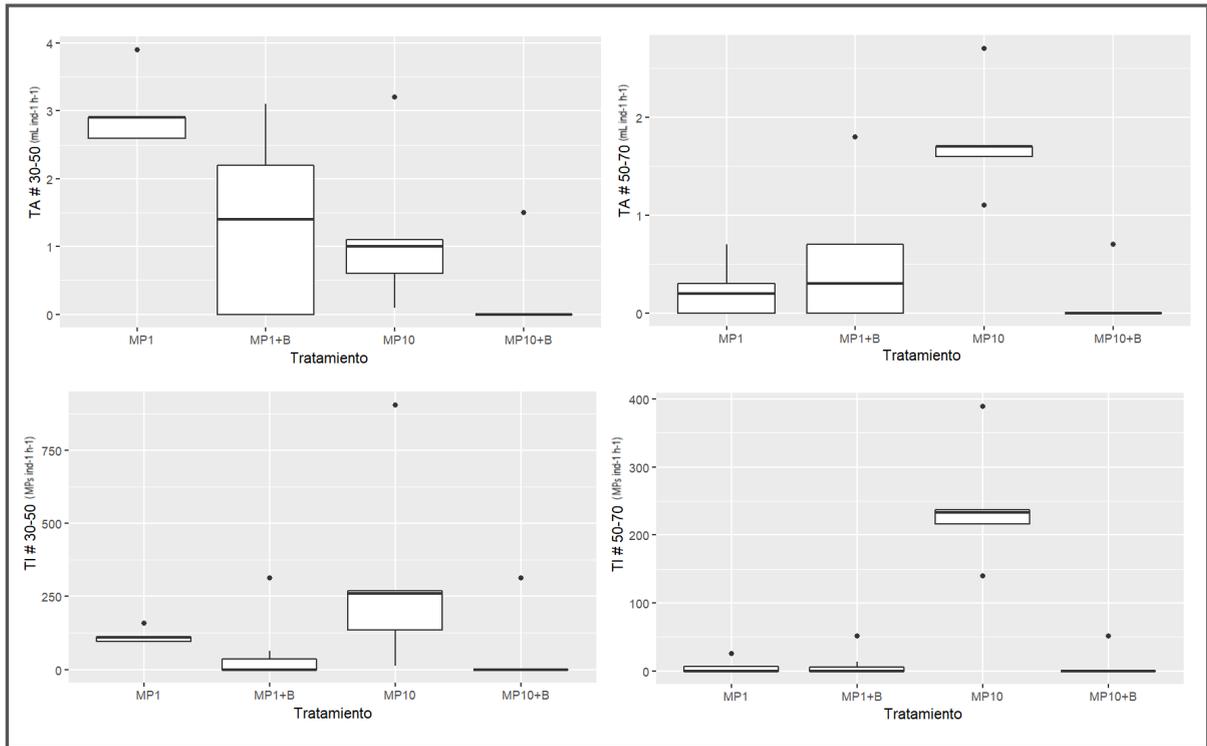


Figura 26. Boxplots de tasas de aclarado (superior) y de ingestión (inferior) de MPs por *B. gaini* para los rangos de tamaño más representativos (30-50, y 50-70 μm) en función de los cuatro tratamientos, a concentraciones bajas (0,01 g/l) sin (MP1) y con biofilm (MP1+B) y a concentraciones altas (0,1 g/l) sin (MP10) y con biofilm (MP10+B). Las cajas representan las medianas y los cuartiles de los datos, la línea horizontal oscura representa el promedio de los datos y las líneas verticales el rango de distribución.

6. Discusión

Este estudio detectó por primera vez la presencia de microplásticos en el agua superficial de un lago antártico (Lago Ionosférico, inmediaciones de la BCAA). Además, también se pudo comprobar experimentalmente por primera vez el consumo de MPs por parte de las dos especies límnicas zooplanctónicas (o de crustáceos) analizadas, y un mayor consumo de MPs en presencia de biofilm. Sin embargo, las densidades de MPs testeadas, no alteraron la sobrevivencia de los organismos en los tiempos experimentales utilizados.

6.1 Microplásticos ambientales

Las densidades de MPs en aguas superficiales del Lago Ionosférico se encontraron dentro de un rango y promedio relativamente bajo ($0,35-1,61$ ítems/ m^3 , $0,97 \pm 0,45$ ítems/ m^3) en comparación con otras regiones del mundo. Según la revisión de Dusaucy et al. (2021) los valores de densidad de microplásticos en aguas superficiales de los lagos del mundo oscilan entre $0,27$ y 34000 ítems/ m^3 con un promedio de 1442 ítems/ m^3 . A pesar de que características tales como la profundidad o el área de superficie de cada lago influyen sobre la carga de MPs en estos ecosistemas, generalmente se observan mayores densidades en lagos urbanos que en aquellos más remotos (Dusaucy et al., 2021). Estudios reportan densidades de MPs en lagos urbanos como el Lago Victoria (África) de $0,02-2,19$ ítems/ m^3 (Egessa et al., 2020), en lagos de Changsha (China) de 2425 ± 247 ítems/ m^3 a 7050 ± 1060 ítems/ m^3 (Yin et al., 2020), en el Lago Kallavesi (Finlandia) de $0,27 \pm 0,18$ ítems/ m^3 (Uurasjärvi et al., 2020), en el Lago Bolsena (Italia) de $2,51$ ítems/ m^3 (Fischer et al., 2016). En contraste, densidades reportadas en lagos remotos como el Lago Khövsgöl (Mongolia) alcanzan los $0,3$ ítems/ m^3 (Karnaukhov et al., 2020) y en varios lagos de la región pampeana (Argentina) varían entre $0,3-1,9$ ítems/ m^3 (Alfonso et al., 2020). Si bien el presente trabajo constituye el primer registro sobre la presencia de MPs en lagos antárticos, las densidades halladas parecen reflejar una presencia considerable de este contaminante para lo esperable en un entorno remoto y aparentemente aislado como la Antártida (Caruso et al., 2022; Rota et al., 2022). Otros estudios han registrado densidades más bajas en ambientes acuáticos marino-oceánicos antárticos como Lacerda et al. (2019) con densidades de $3,5 \times 10^{-3} - 7,5 \times 10^{-4}$ ítems/ m^3 ($3524-755$ ítems. km^{-2}), Isobe et al. (2017) con densidades entre $0,046-0,099$ ítems/ m^3 , Absher et al. (2019) con densidades de $0,024 \pm 0,046$ ítems/ m^3 , y Cincinelli et al. (2017) que han registrado densidades similares entre $0,003$ y $1,18$ ítems/ m^3 . Se ha evidenciado sin embargo que 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 (Dusaucy et al., 2021; Caruso et al., 2022). Estudios como el de Lindeque et al. (2020) afirman que pueden existir subestimaciones de las concentraciones de microplásticos marinos según el tipo de muestreo y el tamaño del poro de las redes utilizadas, siendo más efectivas aquellas de menor tamaño. Por ejemplo, esta investigación utilizó en el muestreo una red tipo surber de $300 \mu m$ y una malla para filtración de $100 \mu m$ en el laboratorio, mientras que en el estudio de Lacerda et al. (2019) se utilizó una red tipo manta de $330 \mu m$, sin filtración posterior de las muestras. Nuestro estudio utilizó tamaños menores 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 y digestión de las muestras, y la identificación y cuantificación de los

MPs para facilitar la comparación entre estudios (Hidalgo-Ruz et al., 2012; Twiss, 2016; Lv et al., 2021).

En ese sentido, la información generada por el proyecto AntarPLAST, en el cual está enmarcado esta tesis, permite un análisis espacial en el área de estudio en base a un muestreo estandarizado para diferentes matrices (Fig. 27). En este marco, y desde 2018 hasta 2024, se han estimado para la Bahía Collins densidades de MPs en sedimento marino ($29,0 \pm 14,6$ ítems/kgDS, datos sin publicar Ramos, 2024), en agua superficial marina ($0,3-24,6$ ítems/m³, Krojmal, 2021) y también en cuatro arroyos de deshielo que desembocan en esta bahía (Fig. 27). El principal de los cuatro es el arroyo AINA, a través del cual el Lago Ionosférico descarga en la Bahía Collins, donde se reportaron rangos entre $1,2-5,6$ ítems/m³ (De Feo, 2021; datos sin publicar De Feo, 2024). Los otros tres arroyos, que aportan directamente a la bahía desde el Glaciar Collins, presentaron densidades de $1,65 \pm 0,37$ ítems/m³ (arroyo 1, Fig. 27), de $2,71 \pm 0,76$ ítems/m³ (arroyo 2, Fig. 27), y de $21,05 \pm 9,19$ ítems/m³ (arroyo 3, Fig. 27; datos sin publicar De Feo, 2024). También se han estimado densidades de MPs en zonas de ablación del Glaciar Collins, tanto para el Lago Uruguay como para el Lago Ionosférico ($0,17$ ítems/m² y $0,33$ ítems/m², respectivamente, González-Pleiter et al., 2021), y en sedimentos costeros de ambos lagos (181 ítems/m² y 94 ítems/m² respectivamente, datos en vías de publicación). Además de conformar una línea de base de esta contaminación en múltiples matrices de los sistemas acuáticos y costeros del entorno de la BCAA, la combinación de estos resultados con los generados en el presente estudio sugieren un aumento de la presencia y las densidades de MPs hacia la Bahía Collins. Esto estaría evidenciando a las actividades terrestres como fuente de esta contaminación y al arroyo AINA como una vía directa de ingreso hacia la Bahía Collins que podrían darse en conjunto con el aporte de materia orgánica y otros contaminantes (e.g. metales), evidenciado en estudios previos (Bueno et al., 2018; Venturini et al., 2020).

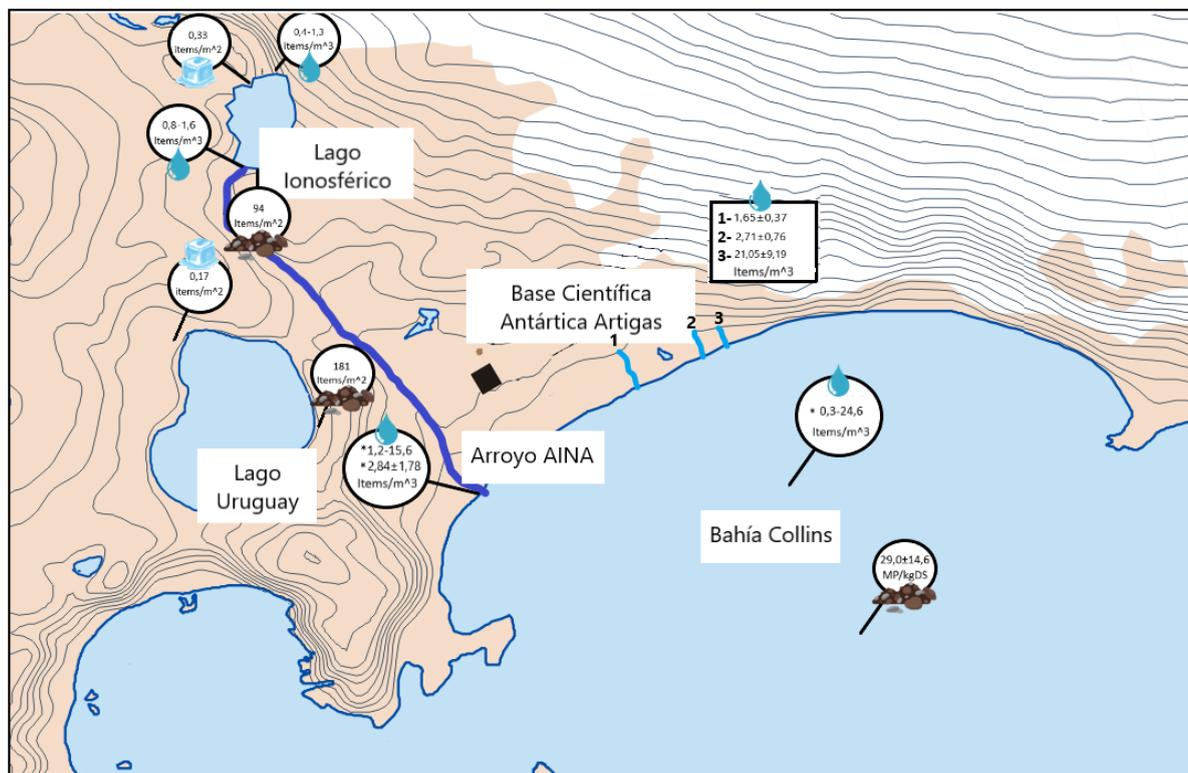


Figura 27. Densidades de MPs en agua superficial y sedimentos en el área de estudio. Datos producidos por esta tesis y en el marco del proyecto AntarPLAST.

Los tamaños de MPs más representados en el presente estudio fueron la fracción más pequeña (< 2 mm). Otros estudios coinciden en que las fracciones de tamaño más abundantes suelen ser las más pequeñas (e.g. 100-500 μm , Desforges et al., 2014; 10-20 μm , Enders et al., 2015), aunque cabe destacar que ambos estudios utilizaron mallas de filtración de menor tamaño en comparación con esta tesis. Futuras investigaciones deberían incluir muestreos con mallas de menor tamaño, no solo para la evaluación del riesgo potencial para organismos del zooplancton, sino también porque el tamaño de las partículas es uno de los factores que influye en su velocidad de sedimentación, donde a mayor diámetro mayor probabilidad de aporte a los sedimentos de los lagos (Timilsina et al., 2023).

Los colores más representados en las fibras fueron las negras y las azules, mientras que en los fragmentos fueron los rojos. Según varios estudios, los MPs de ciertos colores podrían tener mayor probabilidad de ser ingeridos, por ejemplo por algunas especies de peces con preferencias por ciertos colores, lo que podría afectar la vulnerabilidad de estos organismos (Ríos et al., 2022; Horie et al., 2024). En el zooplancton se han observado preferencias por MPs de colores verdes cuando éstos están en presencia de fitoplancton (Lan et al., 2024), lo que sugiere que la coloración de los microplásticos podría aumentar la probabilidad de ser confundidos como partículas comestibles y ser ingeridos por los organismos acuáticos. Sin embargo, en el Lago Ionosférico no se registraron colores verdes que puedan implicar estas preferencias en el zooplancton que allí habita. Este tipo de comportamiento selectivo en la ingestión de microplásticos por parte de los organismos acuáticos subraya la complejidad de las interacciones con estos contaminantes en las redes tróficas acuáticas.

Los polímeros plásticos encontrados fueron PES, PE, PP, acrílico, resinas alquídicas y nylon/poliamidas. La variedad de polímeros encontrados permite generar hipótesis sobre el origen de estos plásticos, ya que muchos polímeros pueden asociarse con diferentes usos. Los encontrados en este estudio se utilizan principalmente en “packaging” (e.g. fragmentos de PE), construcciones (e.g. espumas de PE) o la industria textil (e.g. fibras acrílicas) (Welden & Lusher, 2020). A su vez, los polímeros pueden brindar información sobre la profundidad de la columna de agua en la que pueden encontrarse con mayor probabilidad, ya que MPs con menor densidad tienden a acumularse en la superficie (e.g. fragmentos de PP) (Egessa et al., 2020; Nakatani et al., 2022), mientras que aquellos con mayor densidad sedimentan (e.g. fragmentos de pintura). Este es otro factor que, junto al tamaño y la forma, resultan significativos en el transporte y eventual aporte de MPs desde la superficie del agua al sedimento (Pedrotti et al., 2016; Schwarz et al., 2019). Por otro lado, es importante no desestimar a aquellos polímeros denominados como sintéticos celulósicos que sin ser considerados estrictamente como MPs, pueden de igual forma generar impactos similares en organismos acuáticos (e.g. ambos disminuyen las tasas de crecimiento, aunque los MPs en mayor magnitud; Walkinshaw et al., 2023).

Las fibras fueron los ítems predominantes en las muestras, lo que coincide con gran parte de las investigaciones de MPs en aguas superficiales (e.g. Ding et al., 2019; Han et al., 2019; Minor et al., 2020; Fagiano et al., 2023). Las fibras pueden tener diversos orígenes, incluyendo desechos textiles, redes de pesca, y fragmentación de productos plásticos más grandes. Su composición puede variar desde el poliéster, la poliamida hasta el acrílico, y se

han vuelto predominantes en la fabricación de prendas de vestir, sustituyendo a los materiales naturales, como el algodón, el lino y la lana, así como a las fibras artificiales, como la viscosa y el rayón (Gliaudelytė et al., 2024). El poliéster es el textil más utilizado y constituye el 54% de la producción mundial total de fibras (Textile Exchange. Preferred Fiber & Materials Market Report 2023), lo cual coincide con el polímero plástico más abundante en el Lago Ionosférico. En este sentido, las prendas externas más utilizadas en el sitio de estudio suelen ser térmicas con resistencia al agua y al viento, las cuales están mayoritariamente compuestas de Gore-Tex (Polytetrafluoroethylene, PTFE). Sin embargo, por sus características, posiblemente desprendan menos cantidad de microfibras a partir de la fricción que otros tipos de prendas. En este caso, dadas las características remotas del lago, probablemente gran parte de las fibras lleguen por transporte aéreo (Barhney et al., 2021; Aves et al., 2022) y no por aportes directos (i.e lavado de ropa Kelly et al., 2019; Galvão et al., 2020; Akyildiz et al., 2024).

Por otro lado, si bien los fragmentos no fueron predominantes, consistieron principalmente en pinturas rojas de resinas alquídicas (poliéster modificado por la adición de otros componentes), cuyo origen más probable es el refugio ubicado en las inmediaciones del Lago Ionosférico, el cual se encuentra pintado del mismo color. La presencia de estos residuos de pintura ya fue evidenciada en la zona de ablación del glaciar cercano al lago (Gonzalez-Pleiter et al., 2020), y también en aguas superficiales, sedimentos (Bueno et al., 2018) y tractos digestivos de animales (Turner, 2021), pudiendo ser más dañinas que otros tipos de MPs ya que comúnmente poseen aditivos peligrosos (Muller-Karanassos et al., 2021; Turner, 2021).

En base a la información obtenida en esta tesis es posible entonces resumir las posibles vías de aportes de MPs en el Lago Ionosférico, las que se encuentran resumidas en la Figura 28. Dadas las características del Lago Ionosférico y de sus inmediaciones, las principales vías de aporte de MPs podrían relacionarse con los aportes de agua desde el Glaciar Collins (Fig. 28; A,B,C) y a las actividades logísticas-científicas en el refugio uruguayo o en las inmediaciones del lago, con aportes incidentales directos de macrolásticos que a futuro se fraccionarán en MPs, o a aportes de microfibras (Fig. 28; D, H). Asimismo, podrían darse por biotransporte (Luoto et al., 2019), por ejemplo, heces y egagrópilas de aves como skuas, de las cuales ya se han identificado a los plásticos como parte de su dieta (Lenzi et al., 2022; Fig. 28; G). Sin embargo, es probable que el transporte atmosférico (acción del viento; Fig. 28; E) sea el principal agente de transporte de los MPs en las diferentes matrices mencionadas (Barhney et al., 2021; Aves et al., 2022). De hecho, se ha demostrado que los microplásticos pueden ser transportados atmosféricamente y depositarse en sitios remotos, desplazándose largas distancias (transporte de largo alcance) hasta llegar al sitio de estudio (Free et al., 2014; Allen et al., 2019; Caruso et al., 2022; Rota et al., 2022). En conjunto, estas vías muestran que los lagos remotos no están exentos de la contaminación por microplásticos y que múltiples fuentes y procesos pueden contribuir a la presencia de estos contaminantes en sus aguas superficiales.

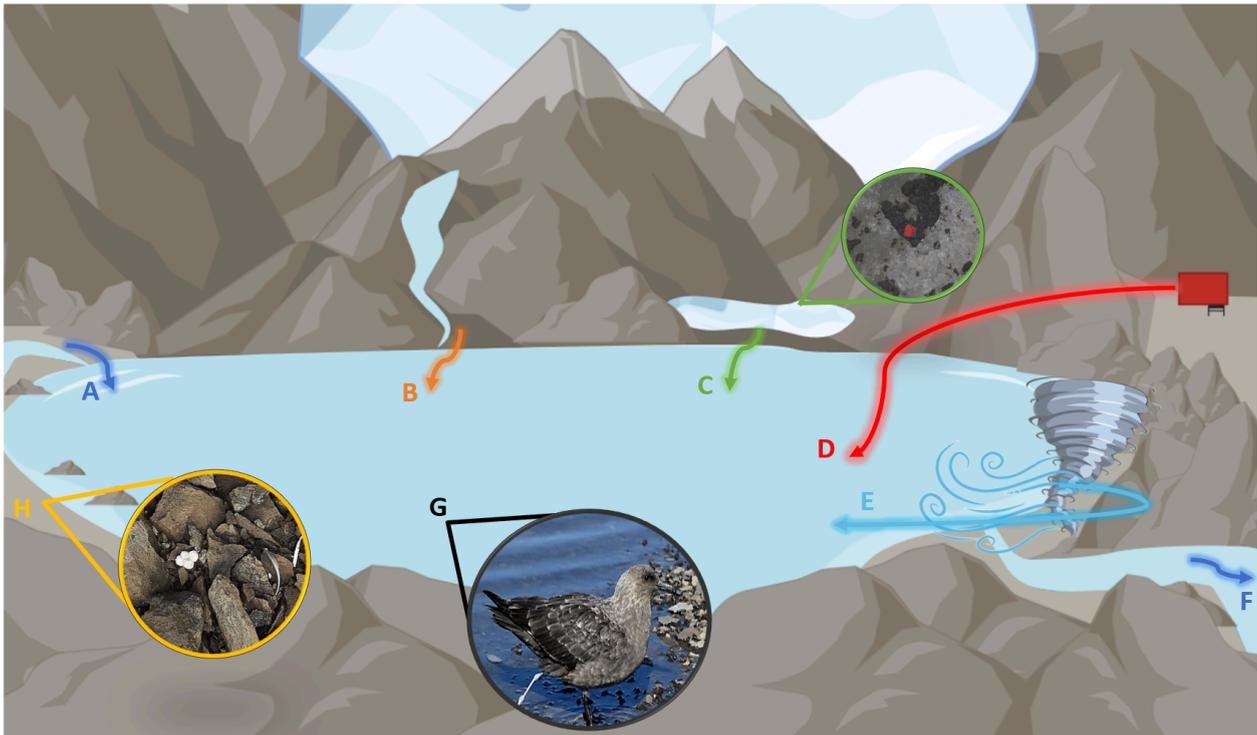


Figura 28. Vías de entrada de MPs al Lago Ionosférico (A,B,C,D,G,H) y su salida hacia el arroyo AINA y zona costera adyacente (F). (A) Entrada por afluentes provenientes de cursos de agua. (B) Entrada por cañadas de deshielo del Glaciar Collins. (C) Entrada por derretimiento de zona de ablación con retención de MPs. (D) Aportes directos por actividades humanas, relacionadas al mantenimiento del refugio. (E) Entrada por transporte atmosférico. (G) El ingreso de MPs por heces o egagrópias de aves como *Skua spp.* (H) La degradación de macro o mesoplásticos depositados en la costa del lago.

Finalmente, es importante destacar que la Península de Fildes presenta características que facilitan la generación y acumulación prolongada de desechos plásticos. Esto se debe principalmente a la intensa actividad humana, tanto por la presencia de bases científicas como por el turismo, en comparación con otras zonas más remotas y menos frecuentadas del continente antártico (Braun et al., 2012; Convey et al., 2020). Las actividades terrestres en la Península podrían estar contribuyendo significativamente con fragmentos resultantes de la degradación de macroplásticos, ya detectados tanto en playas como en aguas marinas (Laganà et al., 2019; Bergami et al., 2020), muchos de los cuales tienen un origen claramente antártico como espumas, bolsas, envoltorios, gomas y botellas. Además, estudios como los de Waller et al. (2017) y Cincinelli et al. (2017) señalan que las microfibras originadas en bases y barcos ingresarían a las aguas marinas antárticas debido en parte a inadecuados sistemas de tratamiento de desechos y aguas residuales y a una limitada inspección *in situ*, algo que también podría estar ocurriendo en Fildes (Braun et al., 2012). Tanto nuestros resultados como los de Tort et al. (2017) indican que incluso en cuerpos de agua dulce relevantes para el uso humano, se detecta contaminación plástica.

Resulta crucial implementar medidas para mejorar el manejo y el tratamiento de residuos en la región. La presencia abundante y variada de pinturas, otros fragmentos y fibras plásticas, provenientes incluso de las actividades consideradas como “limitadas” (i.e: científicas-logísticas y turísticas) en este continente, debería ser una señal de alarma para

promover y actualizar una gestión más efectiva de los desechos, acompañada de una adecuada fiscalización enmarcada en el Anexo III del Protocolo de Madrid.

6.2 Experimentos de consumo y sobrevivencia de *Boeckella poppei* y *Branchinecta gaini*.

Las características del rallado de los MPs, tales como su irregularidad, variedad de colores y la presencia de al menos dos tipos de polímeros diferentes, permiten que las condiciones experimentales se asemejen a las condiciones ambientales a las que podría estar expuesto el zooplancton límnic antártico. En el rallado experimental, los polímeros plásticos predominantes fueron el polietileno (PE) y el polipropileno (PP), los cuales también son los más comunes en otros sistemas lacustres (Sighicelli et al., 2018; Zhang et al., 2016; Egessa et al., 2020). Además, el tiempo de incubación permitió el desarrollo de un biofilm sobre los MPs. Un tiempo de colonización de 15 días, es considerado una fase temprana en el proceso de formación de biofilm (De Tender et al., 2017). Por lo tanto, los organismos presentes en los MPs experimentales probablemente fuesen en su mayoría colonizadores pioneros, como proteobacterias gram negativas, alfa-proteobacterias, diatomeas y cianobacterias (Du et al., 2022). González-Pleiter et al. (2021b) es el único estudio que ha abordado la colonización de MPs en lagos en regiones polares. En este estudio, luego de una incubación de 11 días en un lago ártico, se encontraron géneros bacterianos como *Mycoplana*, *Erythromicrobium* y *Rhodofera*, capaces de metabolizar sustancias químicas recalcitrantes presentes en ambientes polares. Además, organismos como *Flavobacterium*, *Polaromonas* y *Rhodofera* (González-Pleiter et al., 2021b), que pueden colonizar plástico, ya han sido identificados en el agua del Lago Uruguay, cercano al Lago Ionosférico (Bertoglio et al., 2023). Por lo tanto, es altamente probable que al menos uno de estos géneros haya colonizado los MPs utilizados en el experimento.

6.3 Sobrevivencia de *Boeckella poppei* y *Branchinecta gaini* a las condiciones experimentales

La sobrevivencia de *Boeckella poppei* y *Branchinecta gaini* frente a la exposición a MPs en concentraciones ambientales similares a las actuales (MP1, 0,01 g/l) o futuras (MP10, 0,1 g/l) no fue afectada significativamente, tanto en presencia como en ausencia de biofilm. *B. poppei*, en particular, se caracteriza por su alta tolerancia y resistencia a cambios ambientales como la salinidad y la temperatura, y por su versatilidad alimenticia, lo que le permite sobrevivir en entornos extremos y con recursos limitados (Pociecha & Dumont, 2008; Rochera & Camacho, 2019). A esta adaptabilidad podría estar asociada también la capacidad para sobrevivir a contaminantes como los microplásticos. Sin embargo, los camarones parecen ser organismos más tolerantes a la ingestión de MPs que los copépodos, ya que las únicas muertes registradas fueron en el copépodo *B. poppei*, especie en la cual también se observó una disminución de la movilidad en las concentraciones más altas (0.1 g/l). En algunos estudios se ha observado que si bien las tasas de aclarado no se ven alteradas, sí pueden haber cambios en la movilidad que afectan la depredación del zooplancton (Van Colen et al., 2020; Kučera et al., 2022). Incluso se ha observado que los MPs pueden adherirse al exoesqueleto y a los apéndices de zooplancton marino, interfiriendo con su locomoción y alimentación (Cole et al., 2013; An et al., 2021). Esto además puede facilitar la ingestión incidental de microplásticos (Bergami et al., 2016; Cole

et al., 2013) y la transferencia de microplásticos a niveles tróficos más altos (Farrell & Nelson 2013; Murray & Cowie 2011; Setälä et al., 2014).

Por otro lado, una característica común en muchos estudios ecotoxicológicos que han documentado efectos adversos de los microplásticos (MPs) en la supervivencia es el uso de concentraciones significativamente superiores a las que se reportan en el medio ambiente (Koelmans et al., 2020; Lawrence et al., 2023). En contraste, las concentraciones empleadas en el presente estudio se encuentran dentro del rango ambientalmente reportado. El tiempo de exposición de los experimentos es igual de relevante, ya que exposiciones prolongadas (e.g más de 5 días) pueden generar efectos letales (Mavrianos et al., 2023), en contraposición con tiempos experimentales más cortos. La evaluación estándar del efecto biológico de un contaminante se realiza típicamente mediante pruebas de toxicidad que cuantifican la relación dosis-dependiente entre la concentración del contaminante y el porcentaje de población afectada durante un período de exposición específico (Trevan 1927). El uso de diseños experimentales con concentraciones letales, alejadas de las concentraciones ambientales estimadas de microplásticos, sugieren por un lado que bajo las condiciones actuales de contaminación por MPs es poco probable que la ingestión de microplásticos cause una respuesta letal aguda (Trestrail et al., 2021), y tienden además a aportar poca información sobre el efecto real de los MPs en el ambiente. A pesar de esto, se han reportado aumentos significativos en la mortalidad en diversas especies de invertebrados fuera de una relación dosis-dependiente (i.e. ya se observa un efecto a concentraciones bajas), indicando que los microplásticos pueden causar efectos letales bajo ciertas condiciones (Trestrail et al., 2021). Sin embargo, muchas veces esta letalidad puede estar relacionada a otras condiciones a las cuales se expone al organismo como por ejemplo una baja concentración de alimento, y no exclusivamente por la ingestión de MPs (Aljaibachi & Callaghan 2018). Aunque los adultos utilizados en nuestro estudio pueden no mostrar una disminución en la supervivencia, es crucial considerar efectos potenciales en otras etapas como juveniles o larvales, para una evaluación completa del impacto de los microplásticos (Trestrail et al., 2021). Por lo tanto, para futuras investigaciones con microplásticos, sería interesante explorar variables adicionales como la cuantificación exacta de la velocidad de nado, daños genéticos y etapas de ciclo de vida adicionales, así como evaluar tasas de maduración, con el fin de comprender mejor sus efectos sobre los organismos acuáticos.

6.4 Consumo de microplásticos por *Boeckella poppei* y *Branchinecta gaini*

En el presente estudio se logró detectar el consumo de microplásticos por parte de las especies *Boeckella poppei* y *Branchinecta gaini* bajo las condiciones experimentales establecidas. Si bien existe un antecedente para *B. gaini* de consumo de nanoplasticos en condiciones experimentales (Bergami et al., 2022), este estudio representa el primer registro del consumo de MPs en especies zooplanctónicas límnicas de la Antártida. Investigaciones anteriores han documentado la ingesta de MPs en zooplancton marino, como copépodos calanoides y krill en el Ártico (Desforges et al., 2015; Howell, 2019; Rodríguez-Torres et al., 2020; Botterell et al., 2022) y en la Antártida (Dawson et al., 2018 a; Wilkie Johnston et al., 2023).

Existen varios factores que determinan el consumo de MPs por parte del zooplancton, como el tamaño de las partículas, su forma, color, tipo de polímero, densidad, edad, y la

agregación de partículas (Botterell et al., 2018; Yu et al., 2020). En este estudio el tamaño varió dentro del rango de alimentación de ambas especies (<125 µm), y se utilizaron MPs nuevos, que variaron en su forma, color, polímeros, densidad y se evitó la agregación de los MPs en el experimento siguiendo las recomendaciones propuestas por Yu et al., (2020). En el contenido estomacal de *B. poppei* se observaron preferentemente partículas pequeñas, mientras que *B. gaini* mostró una amplia variedad de tamaños, probablemente relacionado con su tamaño corporal, el cual es mayor para *B. gaini*. La selectividad en los organismos puede reflejar también preferencias por ciertos polímeros, con efectos complejos dependientes del tipo de polímero y sus propiedades químicas (Yu et al., 2020). Sin embargo, en el contenido estomacal de los organismos experimentales, no se observaron preferencias por un polímero específico luego del análisis de micro-FTIR. Para ambas especies se encontraron tanto PP como PE, a pesar de que inicialmente la oferta de MPs tuvo una mayor proporción de PE. Por otro lado, un aspecto interesante del análisis del contenido estomacal de los individuos *B. poppei* y *B. gaini* fueron las diferencias encontradas en los colores. Mientras que *B. poppei* presentó solamente algunos MPs negros o transparentes en su contenido estomacal, en *B. gaini* se observó una gran cantidad y variedad de colores de MPs. Esto podría indicar una selectividad mayor de estos copépodos hacia colores específicos, aunque serían necesario otro diseño experimental para confirmar esta hipótesis. Por otro lado, en los experimentos se utilizaron MPs irregulares. Las microesferas regulares (*microbeads*) ampliamente utilizadas en experimentos, presentan una amplia evidencia de consumo (Botterell et al., 2019). Sin embargo, se critica frecuentemente que estas son más fácilmente ingeridas y no representan adecuadamente las condiciones ambientales de los MPs, que suelen tener formas irregulares (Choi et al., 2018). La biodisponibilidad de los MPs también está influenciada por su abundancia, ya que una mayor concentración de MPs suele estar asociada a una mayor ingestión (Setälä et al., 2014). Por último, otro factor involucrado en el consumo de MPs es la presencia de biofilm, el cual puede afectar significativamente su probabilidad de ingestión debido a las señales químicas emitidas por los microorganismos que los colonizan (Hale et al., 2020). Sin embargo, la colonización por patógenos (Kirstein et al., 2016) o por algas y bacterias tóxicas puede inducir infecciones o toxicidad química, resultando en una disminución de la "palatabilidad" y, por ende, en el rechazo de los MPs como fuente de alimento (Scherer et al., 2018).

Desde el punto de vista de los organismos, la capacidad de ingerir MPs está estrechamente relacionada con el grupo trófico y la estrategia de alimentación de cada especie, independientemente de su nivel taxonómico (Valdez-Cibrián et al., 2024). Aunque los mecanismos selectivos de *B. poppei* no han sido estudiados específicamente, se sabe que *B. gaini* es un organismo no selectivo que puede depredar sobre *B. poppei* y nauplios de su misma especie (Pociecha & Dumont, 2008). Esto implica que si *B. poppei*, exhibe selectividad, debería ingerir menos MPs en comparación con organismos no selectivos. Los copépodos tienen la capacidad de discriminar entre presas basándose en tamaño (Frost, 1972), especie (Paffenhöfer, 1971) y calidad nutricional (Cowles et al., 1988). No obstante, esta selectividad puede verse comprometida bajo condiciones de saciedad o hambre extrema (Fileman et al., 2007). En el presente estudio, la ingestión de MPs podría haber estado influenciada tanto por el periodo de inanición previo a la exposición como por el tamaño similar de los MPs respecto a las presas naturales (Hassett & Landry, 1988).

Para determinar el consumo de MPs en zooplancton, se utilizan varios métodos, incluyendo el análisis del medio experimental para tasas de aclarado e ingestión, y el estudio del contenido de los organismos y los pellets fecales para evaluar la ingestión y egestión (Cole et al., 2013; Botterrell et al., 2020; Albano et al., 2021; Traboni et al., 2023). Idealmente, se deberían combinar estos análisis, sin embargo, la mayoría de los estudios se centra en el contenido de los organismos y los pellets los cuales representan mayoritariamente a los MPs retenidos al final del experimento, lo que puede llevar a subestimaciones del consumo. En este estudio, no se pudieron recuperar los pellets, por lo que se calculó la tasa de aclarado e ingestión mediante el conteo de MPs en el medio experimental. La dificultad para identificar y extraer los pellets sugiere que los MPs podrían ser reintroducidos en el medio tras la excreción, pudiendo subestimar el consumo. Siendo que el experimento duró 24 horas, es probable que se haya excretado una cantidad considerable de MPs, que para algunas especies puede alcanzar el 60% de los plásticos consumidos en 60 minutos (Uddin et al., 2023).

6.5 Tasas de aclarado y de ingestión de MPs en *Boeckella poppei*

El copépodo *B. poppei* se alimenta mediante filtración, estimándose que puede aclarar un 24% de ciliados por día en un lago, con tasas de aclarado promedio de $555 \text{ ml mg}^{-1} \text{ masa seca.día}^{-1}$ (Butler et al., 2005). En este estudio, si bien no se expuso a alimento natural, se observaron tasas de aclarado considerablemente menores (o incluso nulas) con un promedio de $0.11 \text{ mL ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ($2,64 \text{ mL ind}^{-1} \text{ día}^{-1}$) y tasas de ingestión con un promedio de $12,6 \text{ MPs ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ($302,4 \text{ MPs ind}^{-1} \text{ día}^{-1}$). Estas tasas bajas pueden deberse a mecanismos de selección de esta especie ante los MPs, como fue mencionado previamente. Estudios han demostrado que copépodos con capacidad de selección ingieren pocos MPs (Xu et al., 2022; Traboni et al., 2023) y seleccionan partículas cuyas características físicas se asemejan a las de las partículas de las que suelen alimentarse (e.g. tamaño y forma), o incluso, pueden evitar ingerir algas de similar tamaño o forma que el MPs (Coppock et al., 2019; Pan et al., 2022). Por esta razón, probablemente no se observaron diferencias significativas de consumo entre la concentración baja ($0,01 \text{ g/l}$) y alta ($0,1 \text{ g/l}$), lo que sugiere la necesidad de investigar más a fondo la ecología de *B. poppei* para evaluar esta hipótesis. El consumo de esta especie además fue mayor en los rangos de tamaño menores de los MPs ofrecidos, coincidiendo con lo observado en su contenido estomacal.

La colonización de microplásticos por microorganismos y la adsorción de biopolímeros incrementan su valor nutricional y mejoran su "palatabilidad", haciéndolos más atractivos para la biota (Scherer et al., 2018). En este contexto, se ha observado una mayor selectividad hacia MPs que presentaron biofilm, lo cual se traduce en un aumento significativo en las tasas de aclarado e ingestión en comparación con aquellos sin biofilm. Este fenómeno de selección por MPs colonizados coincide con hallazgos en otros organismos filtradores (Fabra et al., 2021), subrayando la importancia de considerar el biofilm para comprender mejor los efectos que los MPs pueden tener sobre los organismos en el medio ambiente, un aspecto que frecuentemente no se aborda en estos experimentos.

6.6 Tasas de aclarado y de ingestión de MPs en *Branchinecta gaini*

El camarón hada *B. gaini* también se alimenta por filtración, pero además posee la capacidad de manipular el alimento (raspadores). Las tasas de aclarado de MPs registradas

en este estudio presentaron un promedio de 1,0 mL ind⁻¹.h⁻¹ (24,0 mL ind⁻¹ día⁻¹), y las tasas de ingestión un promedio de 239,1 MPs ind⁻¹.h⁻¹ (5738,4 MPs ind⁻¹ día⁻¹). No fue posible comparar directamente con tasas de aclarado o ingestión de alimento natural para esta especie debido a la falta de estudios previos. Se observó un mayor aclarado de partículas en concentraciones bajas (0,01 g/l) y una mayor ingestión en concentraciones altas (0,1 g/l), aunque las diferencias no fueron significativas. Un análisis más detallado mostró que en el rango de tamaño de MPs de 50-70 µm, se observó un mayor consumo a concentraciones de 0,1 g/l. Esto sugiere que *B. gaini* filtra más eficientemente partículas a concentraciones bajas, pero la eficiencia disminuye cuando los MPs son mayores de 50 µm, con mayor aclarado e ingestión en concentraciones más altas.

No se observaron patrones claros en el consumo de MPs en presencia de biofilm. Sin embargo, en tratamientos sin biofilm se observó una tendencia a un mayor consumo a concentraciones altas, lo que coincide con otros organismos filtradores (Fabra et al., 2021), ya que esta especie no presenta mecanismos de selección.

En cuanto a los efectos que puede presentar *B. gaini* ante la ingesta de este contaminante, ya se ha corroborado que fracciones más pequeñas (nanoplásticos) pueden dañar el epitelio del intestino y reducir la capacidad de nado (Bergami et al., 2022). En el krill *E.superba*, el cual tiene una posición trófica equivalente a *B. gaini*, se han registrado cambios en las tasas de hundimiento y la densidad de los pellets fecales en presencia de NPs (Bergami et al., 2020). Por otro lado, en otras especies de camarones alrededor del mundo, se han observado alteraciones en los patrones de actividad (mayores velocidades y aceleraciones) acompañados de una tasa metabólica estándar (TME) más baja (Kučera et al., 2022), una disminución en la reproducción y la sobrevivencia (Timilsina et al., 2023), y anomalías en células del epitelio que podrían afectar la absorción de nutrientes y el modificar el metabolismo energético (Wang et al., 2019). Sin embargo en otras especies se ha detectado la presencia de mecanismos eficientes para proteger sus órganos de la sobrecarga de MPs y otras partículas no digeribles (Saborowski et al., 2022).

6.7 Impactos del consumo de microplásticos en *Boeckella poppei* y *Branchinecta gaini*

Ambas especies mostraron efectos similares al ser expuestas a concentraciones ambientales tanto actuales (0,01 g/l) como en un escenario futuro (0,1 g/l). Aunque *B. gaini* consumió más plástico, es un organismo aproximadamente 10 mm más grande, lo que podría explicar esta diferencia. Por otro lado, la aparente selectividad de *B. poppei* podría explicar su menor consumo. Además, se observó que *B. poppei* mostró alteraciones en su nado y presencia de mortalidad, sugiriendo que este crustáceo podría tener mecanismos adaptativos efectivos frente al consumo de microplásticos, como se mencionó anteriormente (Saborowski et al., 2022).

En comparación con investigaciones similares con organismos de diferentes latitudes y otras zonas geográficas, pero con características ecológicas análogas y condiciones experimentales comparables, se observó un bajo consumo por parte de estas dos especies antárticas en comparación con los otros estudios (Tabla 2). Este fenómeno podría estar asociado con las bajas temperaturas características de la región antártica, y a las que fueron desarrollados estos experimentos (Williamson et al., 2010). En ambientes más fríos, los procesos metabólicos suelen ser más lentos, lo que podría afectar la capacidad del

zooplancton para capturar y procesar alimento con la misma eficiencia que en aguas más cálidas. Además, el zooplancton antártico está adaptado a condiciones de vida extremas y a ciclos estacionales específicos que influyen en sus tasas de ingestión y aclarado. Por lo tanto, el zooplancton antártico podría ser más vulnerable al consumo de microplásticos en un escenario de calentamiento global, debido a un aumento potencial en las tasas de ingestión (Lawrence et al., 2023).

Tabla 2. Experimentos de consumo de MPs (tasas de ingestión o aclarado) en copépodos y otros crustáceos. (1) Presente estudio, (2) Procter et al. (2019), (3) Rodríguez-Torres et al. (2020), (4) Xu et al. (2022).

Detalles del organismo			Variables de los Microplásticos					Resultados			
Especie	Ambiente	Características	Aclimatación (hs)	Tamaño (mm)	Concentración	Tipo y forma	Tamaño (µm)	Biofilm	TA	TI	Cita
<i>Boeckella poppei</i>	Límnico Antártico	Hembra adulta con huevos	24	1,6 ± 0,1	0,1 y 0,01 g/l	Fragmentos irregulares (PE, PP)	30-130	Si	2,64 mL ind ⁻¹ d ⁻¹	302,4 MPs ind ⁻¹ d ⁻¹	(1)
<i>Calanus helgolandicus</i>	Marino	Hembra adulta	48	?	80 fibras m/l	Fibras (Nylon)	10 × 30	No	494,6 ± 73,0 mL copepodo ⁻¹ d ⁻¹	104,1 ± 15,38 × 10 ³ fibras copepodo ⁻¹ d ⁻¹	(2)
<i>Calanus hyperboreus</i>	Marino	Hembra adulta con huevos	?	7	0,2 m/l	Esféricos (PE)	13,9 - 30,3	No	-	4,3 MPs d ⁻¹	(3)
<i>Calanus glacialis</i>	Marino	Hembra adulta con huevos	?	3,3	0,2 m/l	Esféricos (PE)	13,9 - 30,3	No	-	1 MPs d ⁻¹	(3)
<i>Calanus finmarchicus</i>	Marino	Hembra adulta con huevos	?	2,7	0,2 m/l	Esféricos (PE)	13,9 - 30,3	No	-	3,3 MPs d ⁻¹	(3)
<i>T. longicornis</i>	Marino	Hembra adulta	24	7,4	200 m/l	Irregulares y esféricos (PE, PS)	20	Si	-	1445 - 5249 MPs ind. ⁻¹ d ⁻¹	(4)
<i>Branchinecta gaini</i>	Límnico Antártico	Hembra adulta con huevos	24	11,1 ± 1,6	0,1 y 0,01 g/l	Irregulares y multicolores (PE, PP)	30-130	Si	24,0 mL ind ⁻¹ d ⁻¹	5738,4 MPs ind ⁻¹ d ⁻¹	(1)

El presente estudio demuestra como el zooplancton límnico antártico puede ser una vía de ingreso de los MPs a las tramas tróficas acuáticas. Esto puede alterar los procesos de depredación en las tramas tróficas donde estudios han demostrado que las tasas de depredación pueden disminuir cuando se consumen presas contaminadas con MPs (Van Colen et al., 2020). Setälä et al. (2014) demostraron experimentalmente por primera vez la posibilidad de transferencia de microplásticos de un nivel trófico (mesozooplancton) hacia niveles superiores (macrozooplancton). Los resultados mostraron que luego que varias especies de mesozooplancton ingirieron microplásticos, su transferencia pudo evidenciarse en los camarones (macrozooplancton) que se alimentaron de ellos. La exposición de estos camarones ocurrió tanto directa como indirectamente, indicando múltiples vías de transferencia de microplásticos en la red trófica. Debido a las similitudes ecológicas, esto podría ocurrir de igual forma en el Lago Ionosférico entre *B. gaini* y *B. poppei*. Aunque el zooplancton representa una vía de entrada para los MPs a la red trófica, la cantidad de MPs en el zooplancton y sus pellets fecales suele ser baja en comparación con la concentración de MPs en la columna de agua y la incidencia de ingestión reportada para el zooplancton (Gunaalan et al., 2023). Esto indica un bajo riesgo de transferencia de MPs a niveles

tróficos superiores a través del zooplancton, aunque la contribución cuantitativamente baja, puede ser ecológicamente significativa (Gunaalan et al., 2023).

7. Conclusiones

Si bien las densidades de microplásticos reportadas en el lago lonosférico están en el extremo más bajo de los reportado a nivel global y regional, su presencia subraya la importancia de un vigilancia continua y una gestión ambiental sostenible en la región antártica, para proteger sus ecosistemas límnicos únicos de los impactos de esta forma de contaminación (Figura 29).

Los MPs más abundantes fueron las fibras, lo que puede indicar que las fuentes de contaminación más frecuentes de este sitio están asociadas a la indumentaria turística, logística y científica, que se transporta por múltiples vías con un especial énfasis en el transporte atmosférico. Además, los fragmentos más abundantes fueron representados por las pinturas rojas, las que se asocian con las actividades logístico-científicas locales.

Las características de los MPs encontrados en el lago (tamaño, colores, forma, polímeros) coinciden con partículas que podrían ingerir el zooplancton que allí habita.

Los organismos filtradores del zooplancton presentes en el lago fueron capaces de consumir MPs, sin embargo su exposición a corto plazo tanto de las concentraciones actuales como de un escenario a futuro no generaron impactos sobre sobrevivencia en el tiempo experimental utilizado. A pesar de esto, se observaron alteraciones aparentes en el nado de una de las dos especies (*B. poppei*).

Ambas especies registraron tasas de consumo relativamente bajas (aclarado e ingestión), especialmente *B. poppei*, la cual además registró un consumo significativamente mayor en aquellos con presencia biofilm, que puede indicar mecanismos selectivos por parte de esta especie. Sin embargo, la presencia de biofilm no aparenta tener consecuencias sobre la alimentación de *B. gaini* y son necesarios más estudios para confirmar si la presencia de biofilm en los MPs aumenta su consumo.

Este estudio es el primer acercamiento sobre el consumo de MPs en el zooplancton límnic antártico, sin embargo aún resta mucho por estudiar sobre los posibles efectos que puede tener este contaminante tanto en organismos antárticos como del zooplancton límnic en general.

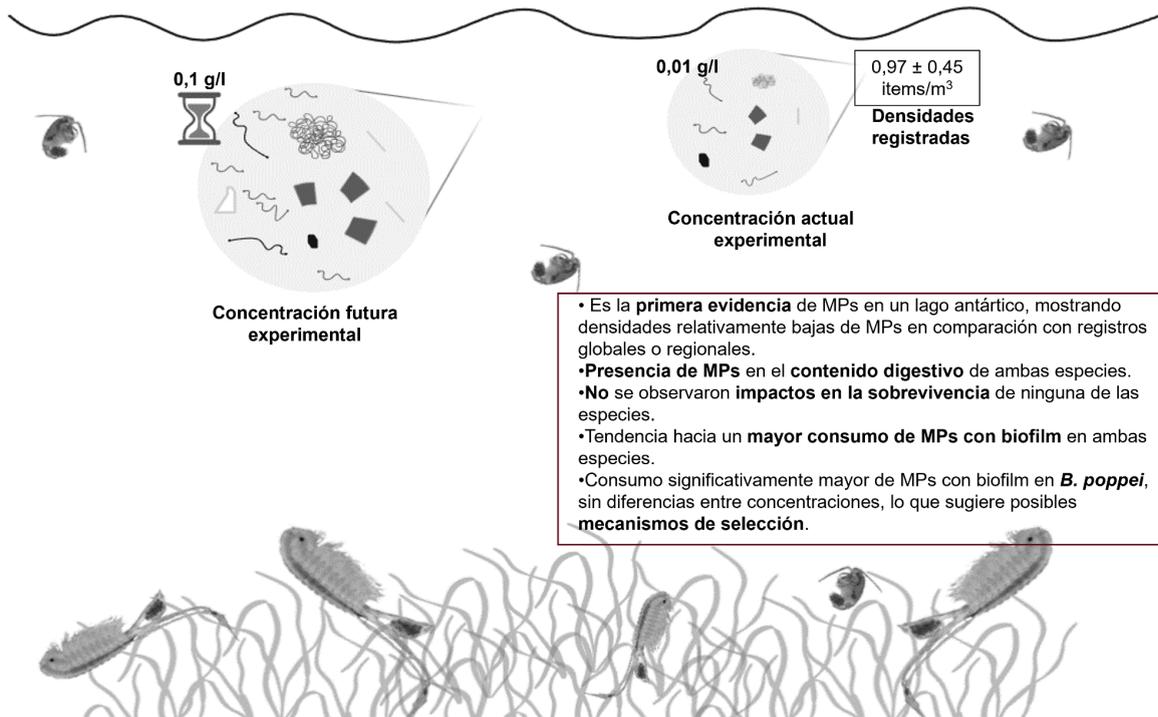


Figura 29. Síntesis de los principales resultados y conclusiones del estudio.

8. Perspectivas

El monitoreo continuo de agua tanto en sistemas límnicos como marinos es esencial para evaluar tendencias a largo plazo en las concentraciones de microplásticos, identificando posibles cambios debidos a factores ambientales o actividades humanas cambiantes, para comprender mejor los efectos potenciales en la salud de los ecosistemas antárticos. Para esto, es clave continuar con la extracción de muestras de agua superficial en los lagos antárticos. Incluso, debido a las características de estos ecosistemas, la adición de muestras en la columna de agua y en sedimento, en conjunto con muestras de zooplancton para evaluar cuanto MPs presentan en sus tractos digestivos ambientalmente, generarían un diagnóstico más completo sobre el estado del lago debido a la contaminación por microplásticos. A partir de estos nuevos valores, se podría obtener un balance completo sobre la presencia de MPs que potencialmente pueden ser ingeridos por los organismos y los MPs que suelen estar presentes en cada individuo, pudiendo potencialmente biomagnificarse en la red trófica.

El estudio representa escenarios experimentales lo más cercano a la realidad, para evaluar los efectos que los organismos pueden tener en las condiciones ambientales actuales. Sin embargo, aún resta por incluir variables que pueden ayudar a visibilizar mejor estos efectos, como lo son por ejemplo evaluaciones a largo plazo (e.g. 15 días), incluir alimento natural y depredadores. De esta forma se pueden evaluar nuevas variables que pueden verse afectadas por el consumo de plásticos (e.g. interacciones depredador-presa que pueden verse alteradas por cambios en la velocidad del nado, biomagnificación por consumo de presas con MPs). Incluso, se destaca la relevancia de tomar datos de velocidad del nado para corroborar estos cambios aparentes en movilidad que se registraron en este estudio.

A raíz del aprendizaje durante el desarrollo de esta tesis, se pueden destacar algunas consideraciones para futuras experimentaciones. Es clave una mejor esterilización de los MPs para la creación de los tratamientos con presencia o ausencia de biofilm, incluyendo tratamientos con luz UV. Por otro lado, identificar pellets fecales de los organismos experimentales, sería de gran relevancia, ya que de esta forma se podría complementar la información sobre el consumo y poder evaluar la capacidad de egestión de los MPs ingeridos. Esto podría dar datos más específicos y permitirá evaluar cambios en el hundimiento de los pellets por presencia de MPs.

Debido a la falta de información de base sobre la ecología de los organismos de lagos antárticos, es vital realizarlos para poder continuar con el análisis de los posibles efectos de MPs (e.g. análisis de isótopos de los organismos presentes, corroboración de mecanismos de selectividad de *B. poppei*, identificación de pellets). Incluso, debido a la gran importancia de los microorganismos en las redes tróficas límnicas antárticas, es crucial incluir un análisis de estas comunidades, pudiendo identificar cuáles son las que potencialmente colonizan a los MPs conformando el biofilm.

Referencias bibliográficas

- 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.
- Akyildiz, S. H., Fiore, S., Bruno, M., Sezgin, H., Yalcin-Enis, I., Yalcin, B., & Bellopede, R. (2024). Release of microplastic fibers from synthetic textiles during household washing. *Environmental Pollution*, 124455.
- Al-Azzawi, M. S., Kefer, S., Weißer, J., Reichel, J., Schwaller, C., Glas, K., ... & Drewes, J. E. (2020). Validation of sample preparation methods for microplastic analysis in wastewater matrices—reproducibility and standardization. *Water*, 12(9), 2445.
- Albarrán, K. K., Alfonso, B. C., Fógel, J., Rozas Sía, M. G., Abbeduto, M. L., Casaux, R., & Juárez, M. A. (2024). Residues of anthropogenic origin found at Stranger Point/Cabo Funes, 25 de Mayo/King George Island, Antarctica. *Polar Biology*, 1-12.
- Allen, S., Allen, D., Phoenix, V. R., Le Roux, G., Durántez Jiménez, P., Simonneau, A., ... & Galop, D. (2019). Atmospheric transport and deposition of microplastics in a remote mountain catchment. *Nature Geoscience*, 12(5), 339-344.
- Alfonso, M. B., Scordo, F., Seitz, C., Manstretta, G. M. M., Ronda, A. C., Arias, A. H., ... & Piccolo, M. C. (2020). First evidence of microplastics in nine lakes across Patagonia (South America). *Science of the Total Environment*, 733, 139385.
- Alfonso, M. B., Lindsay, D. J., Arias, A. H., Nakano, H., Jandang, S., & Isobe, A. (2023). Zooplankton as a suitable tool for microplastic research. *Science of The Total Environment*, 167329.
- Aljaibachi, R., & Callaghan, A. (2018). Impact of polystyrene microplastics on *Daphnia magna* mortality and reproduction in relation to food availability. *PeerJ*, 6, e4601.
- 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.
- Antacli, J. C., Di Mauro, R., Rimondino, G. N., Alurralde, G., Schloss, I. R., González, G. A., ... & Vodopivec, C. (2024). Microplastic pollution in waters of the Antarctic coastal environment of Potter Cove (25 de Mayo Island/King George Island, South Shetlands). *Science of The Total Environment*, 915, 170155.
- Amaral-Zettler, L. A., Zettler, E. R., & Mincer, T. J. (2020). Ecology of the plastisphere. *Nature Reviews Microbiology*, 18(3), 139-151.
- Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine pollution bulletin*, 62(8), 1596-1605.
- Arthur, C., Baker, J. E., & Bamford, H. A. (2009). Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects, and Fate of Microplastic Marine Debris, September 9-11, 2008, University of Washington Tacoma, Tacoma, WA, USA.

Athey, S. N., Adams, J. K., Erdle, L. M., Jantunen, L. M., Helm, P. A., Finkelstein, S. A., & Diamond, M. L. (2020). The widespread environmental footprint of indigo denim microfibers from blue jeans. *Environmental Science & Technology Letters*, 7(11), 840-847.

Aves, A. R., Revell, L. E., Gaw, S., Ruffell, H., Schuddeboom, A., Wotherspoon, N. E., ... & McDonald, A. J. (2022). First evidence of microplastics in Antarctic snow. *The Cryosphere*, 16(6), 2127-2145.

Balay D'Agosto, F. (2023). Caracterización del régimen climático de la isla Rey Jorge (islas Shetland del Sur, Antártida). Tesis de maestría. Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Ciencias - PEDECIBA. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/43086>

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.

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, J., Balestra, B., Knee, K. L., Frederick, J. A., Landaverde, N., & Meiller, J. (2024). Freshwater algal biofilm assemblages are more effective than invertebrate assemblages at aggregating microplastics. *Heliyon*, 10(1).

Bergami, E., Bocci, E., Vannuccini, M. L., Monopoli, M., Salvati, A., Dawson, K. A., & Corsi, I. (2016). Nano-sized polystyrene affects feeding, behavior and physiology of brine shrimp *Artemia franciscana* larvae. *Ecotoxicology and environmental safety*, 123, 18-25.

Bergami, E., Emerenciano, A. K., Pinto, L. P., Joviano, W. R., Font, A., de Godoy, T. A., ... & Corsi, I. (2022). Behavioural, physiological and molecular responses of the Antarctic fairy shrimp *Branchinecta gaini* (Daday, 1910) to polystyrene nanoplastics. *NanoImpact*, 28, 100437.

Bergami, E., Manno, C., Cappello, S., Vannuccini, M. L., & Corsi, I. (2020). Nanoplastics affect moulting and faecal pellet sinking in Antarctic krill (*Euphausia superba*) juveniles. *Environment International*, 143, 105999.

Bertoglio, F., Piccini, C., Urrutia, R., & Antoniadis, D. (2023). Seasonal shifts in microbial diversity in the lakes of Fildes Peninsula, King George Island, Maritime Antarctica. *Antarctic Science*, 35(2), 89-102.

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), 14191.

Boletín Antártico (2022). Año 4 – N°7 - Julio 2022. ISSN: 2697-2735. "Ficha biológica" Página 7-8. Disponible en: www.fcien.edu.uy/images/2022/Boletin_Noticias_Antárticas_Número_7.pdf (último acceso 11/06/2024)

- 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*.
- Botterell, Z. L., Beaumont, N., Dorrington, T., Steinke, M., Thompson, R. C., & Lindeque, P. K. (2019). Bioavailability and effects of microplastics on marine zooplankton: A review. *Environmental Pollution*, 245, 98-110.
- Botterell, Z. L., Bergmann, M., Hildebrandt, N., Krumpfen, T., Steinke, M., Thompson, R. C., & Lindeque, P. K. (2022). Microplastic ingestion in zooplankton from the Fram Strait in the Arctic. *Science of the Total Environment*, 831, 154886.
- Braun, C., Mustafa, O., Nordt, A., Pfeiffer, S., & Peter, H. U. (2012). Environmental monitoring and management proposals for the Fildes region, King George Island, Antarctica. *Polar Research*, 31(1), 18206.
- Brendonck, L. (1993). Feeding in the fairy shrimp *Streptocephalus proboscideus* (Frauenfeld)(Branchiopoda: Anostraca). I. Aspects of the feeding biology. *Journal of Crustacean Biology*, 13(2), 235-244.
- Brooks J.L. & Dodson S.I. (1965). Predation, body size and composition of the plankton. *Science* 50: 28-35.
- 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.
- Bruland K.W. y Silver M.W. 1981. Sinking rates of fecal pellets from gelatinous zooplankton (Salps, Pteropods, Doliolids). *Marine Biology* 63: 295-300.
- Bryant, J. A., Clemente, T. M., Viviani, D. A., Fong, A. A., Thomas, K. A., Kemp, P., ... & DeLong, E. F. (2016). Diversity and activity of communities inhabiting plastic debris in the North Pacific Gyre. *MSystems*, 1(3), 10-1128.
- Bueno, C., Kandravicius, N., Venturini, N., Figueira, R. C. L., Pérez, L., Iglesias, K., & Brugnoli, E. (2018). An evaluation of trace metal concentration in terrestrial and aquatic environments near Artigas Antarctic Scientific Base (King George Island, Maritime Antarctica). *Water, Air, & Soil Pollution*, 229, 1-11.
- Butler, H., Atkinson, A., & Gordon, M. (2005). Omnivory and predation impact of the calanoid copepod *Boeckella poppei* in a maritime Antarctic lake. *Polar Biology*, 28, 815-821.
- Camacho, A. (2006). Planktonic microbial assemblages and the potential effects of metazooplankton predation on the food web of lakes from the maritime Antarctica and sub-Antarctic islands. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 5, 167-185.
- Caruso, G., Bergami, E., Singh, N., & Corsi, I. (2022). Plastic occurrence, sources, and impacts in Antarctic environment and biota. *Water Biology and Security*, 1(2), 100034.
- Carrizo, D., Sánchez-García, L., Menes, R. J., & García-Rodríguez, F. (2019). Discriminating sources and preservation of organic matter in surface sediments from five Antarctic lakes in

the Fildes Peninsula (King George Island) by lipid biomarkers and compound-specific isotopic analysis. *Science of the total environment*, 672, 657-668.

Cavanagh, R. D., Melbourne-Thomas, J., Grant, S. M., Barnes, D. K., Hughes, K. A., Halfter, S., Meredith, M. P., Murphy, E. J., Trebilco, R., & Hill, S. L. (2021). Future risk for Southern Ocean ecosystem services under climate change. *Frontiers in Marine Science*, 7, 615214. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.615214>

Cebuhar, J. D., Negrete, J., Pirani, L. S. R., Picone, A. L., Proietti, M., Romano, R. M., ... & Botta, S. (2024). Anthropogenic debris in three sympatric seal species of the Western Antarctic Peninsula. *Science of The Total Environment*, 171273.

Chaoruangrit, L., Plodsomboon, S., Rogers, D. C., & Sanoamuang, L. O. (2017). Morphology of mandibles and food size in two fairy shrimps (Branchiopoda: Anostraca) from Thailand. *The Journal of Crustacean Biology*, 37(5), 579-587.

Choi, J. S., Jung, Y. J., Hong, N. H., Hong, S. H., & Park, J. W. (2018). Toxicological effects of irregularly shaped and spherical microplastics in a marine teleost, the sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). *Marine pollution bulletin*, 129(1), 231-240.

Chown, S. L. & Brooks, C. M. (2019). The State and Future of Antarctic Environments in a Global Context. *Annual Review Environment Resources* 2019. 44:1–30. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-101718-033236>

Christoffersen, K. S., Jeppesen, E., Moorhead, D. L., & Tranvik, L. J. (2008). Food-web relationships and community structures in high-latitude lakes. *Polar lakes and rivers: Limnology of Arctic and Antarctic aquatic ecosystems*, 269-289.

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.

Cole, M., Lindeque, P. K., Fileman, E., Clark, J., Lewis, C., Halsband, C., et al. (2016). Microplastics alter the properties and sinking rates of zooplankton faecal pellets. *Environ. Sci. Technol.* 50, 3239–3246. doi: 10.1021/acs.est.5b05905.

Convey, P., Barnes, D., & Morton, A. (2002). Debris accumulation on oceanic island shores of the Scotia Arc, Antarctica. *Polar Biology*, 25, 612-617.

Convey, P. (2020). The price of cumulative human activities in the Antarctic. *Antarctic Science*, 32(6), 425-425.

COMNAP (2024). <https://www.comnap.aq/antarctic-facilities-information> (último acceso 22/07/2024)

Coppock, R. L., Galloway, T. S., Cole, M., Fileman, E. S., Queirós, A. M., & Lindeque, P. K. (2019). Microplastics alter feeding selectivity and faecal density in the copepod, *Calanus helgolandicus*. *Science of the total environment*, 687, 780-789.

Cottingham K.L. y Schindler D.E. 2000. Effects of grazer community structure on phytoplankton response to nutrient pulses. *Ecology* 81: 183-200.

Cowles, T. J., Olson, R. J., & Chisholm, S. W. (1988). Food selection by copepods: discrimination on the basis of food quality. *Marine Biology*, 100, 41-49.

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

Dawson, A., Huston, W., Kawaguchi, S., King, C., Cropp, R., Wild, S., ... & Bengtson Nash, S. (2018 b). Uptake and depuration kinetics influence microplastic bioaccumulation and toxicity in Antarctic krill (*Euphausia superba*). *Environmental science & technology*, 52(5), 3195-3201.

De Feo Sánchez, B. (2021). Aporte de materia orgánica, invertebrados y plásticos al ambiente marino-costero a través de dos arroyos de deshielo de la Isla Rey Jorge (Antártida Marítima). Tesis de grado. Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Ciencias. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/29515>

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.

Desforges, J. P. W., Galbraith, M., Dangerfield, N., & Ross, P. S. (2014). Widespread distribution of microplastics in subsurface seawater in the NE Pacific Ocean. *Marine pollution bulletin*, 79(1-2), 94-99.

Desforges, J. P. W., Galbraith, M., & Ross, P. S. (2015). Ingestion of microplastics by zooplankton in the Northeast Pacific Ocean. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 69, 320-330.

Ding, L., fan Mao, R., Guo, X., Yang, X., Zhang, Q., & Yang, C. (2019). Microplastics in surface waters and sediments of the Wei River, in the northwest of China. *Science of the Total Environment*, 667, 427-434.

Du, Y., Liu, X., Dong, X., & Yin, Z. (2022). A review on marine plastisphere: biodiversity, formation, and role in degradation. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 20, 975-988.

Dusaucy, J., Gateuille, D., Perrette, Y., & Naffrechoux, E. (2021). Microplastic pollution of worldwide lakes. *Environmental Pollution*, 284, 117075.

- Ebbesen, L. G., Strange, M. V., Gunaalan, K., Paulsen, M. L., Herrera, A., Nielsen, T. G., ... & Almeda, R. (2024). Do weathered microplastics impact the planktonic community? A mesocosm approach in the Baltic Sea. *Water Research*, 255, 121500.
- Eerkes-Medrano, D., Thompson, R. C., & Aldridge, D. C. (2015). Microplastics in freshwater systems: a review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs. *Water research*, 75, 63-82.
- Egessa, R., Nankabirwa, A., Ocaya, H., & Pabire, W. G. (2020). Microplastic pollution in surface water of Lake Victoria. *Science of the Total Environment*, 741, 140201.
- 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.
- Enders, K., Lenz, R., Stedmon, C. A., & Nielsen, T. G. (2015). Abundance, size and polymer composition of marine microplastics $\geq 10 \mu\text{m}$ in the Atlantic Ocean and their modelled vertical distribution. *Marine pollution bulletin*, 100(1), 70-81.
- Ergas, M., Figueroa, D., Paschke, K., Urbina, M. A., Navarro, J. M., & Vargas-Chacoff, L. (2023). Cellulosic and microplastic fibers in the Antarctic fish *Harpagifer antarcticus* and Sub-Antarctic *Harpagifer bispinis*. *Marine Pollution Bulletin*, 194, 115380.
- Eriksen, M., Lebreton, L. C., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C. J., Borroero, 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.
- Evtimova, V., Pandourski, I., & Kenderov, L. (2024). Freshwater invertebrates from Livingston and Horseshoe Islands, Maritime Antarctica. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1305, No. 1, p. 012004). IOP Publishing.
- Fabra, M., Williams, L., Watts, J. E., Hale, M. S., Couceiro, F., & Preston, J. (2021). The plastic Trojan horse: Biofilms increase microplastic uptake in marine filter feeders impacting microbial transfer and organism health. *Science of the total environment*, 797, 149217.
- Fagiano, V., Compa, M., Alomar, C., Ríos-Fuster, B., Morato, M., Capó, X., & Deudero, S. (2023). Breaking the paradigm: Marine sediments hold two-fold microplastics than sea surface waters and are dominated by fibers. *Science of The Total Environment*, 858, 159722.
- Farrell, P., & Nelson, K. (2013). Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). *Environmental Pollution*, 177, 1-3.
- Fileman, E., Smith, T., & Harris, R. (2007). Grazing by *Calanus helgolandicus* and *Para-Pseudocalanus spp.* on phytoplankton and protozooplankton during the spring bloom in the Celtic Sea. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 348(1-2), 70-84.
- Fischer, E. K., Paglialonga, L., Czech, E., & Tamminga, M. (2016). Microplastic pollution in lakes and lake shoreline sediments—a case study on Lake Bolsena and Lake Chiusi (central Italy). *Environmental pollution*, 213, 648-657.

- Foley, C. J., Feiner, Z. S., Malinich, T. D., & Höök, T. O. (2018). A meta-analysis of the effects of exposure to microplastics on fish and aquatic invertebrates. *Science of the total environment*, 631, 550-559.
- Free, C. M., Jensen, O. P., Mason, S. A., Eriksen, M., Williamson, N. J., & Boldgiv, B. (2014). High-levels of microplastic pollution in a large, remote, mountain lake. *Marine pollution bulletin*, 85(1), 156-163.
- Frost B.W. 1972. Effects of size and concentration of food particles on the feeding behavior of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. *Limnology and Oceanography* 17: 805-815.
- García-Regalado, A., Herrera, A., & Almeda, R. (2024). Microplastic and mesoplastic pollution in surface waters and beaches of the Canary Islands: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 201, 116230.
- García-Rodríguez, F., Piccini, C., Carrizo, D., Sánchez-García, L., Pérez, L., Crisci, C., ... & Lüning, S. (2021). Centennial glacier retreat increases sedimentation and eutrophication in Subantarctic periglacial lakes: A study case of Lake Uruguay. *Science of The Total Environment*, 754, 142066.
- Galvão, A., Aleixo, M., De Pablo, H., Lopes, C., & Raimundo, J. (2020). Microplastics in wastewater: microfiber emissions from common household laundry. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 26643-26649.
- Garza, T. N., Barnes, D. K., Scourse, J. D., Whitaker, J. M., & Janosik, A. M. (2023). Quantifying microplastics in fjords along the Western Antarctic Peninsula. *Marine pollution bulletin*, 193, 115144.
- Gasca R. y Suárez Morales E. 1996. Introducción al estudio del zooplancton marino. El Colegio de la Frontera Sur. Chetumal, Quintana Roo, México.
- 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.
- Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science advances*, 3(7), e1700782.
- Gliaudelyté, U., Persson, M., & Daukantienė, V. (2024). Impact of textile composition, structure, and treatment on microplastic release during washing: a review. *Textile Research Journal*, 00405175241260066.
- Gliwicz Z.M. & Pijanowska J. 1989. The role of predation in zooplankton succession. En: *Plankton Ecology: Succession in Plankton Communities*, Sommer U. (Ed.), pp. 253-296, Springer-Verlag, New York, U.S.A.
- González-Aravena, M., Iturra, G., Font, A., Cárdenas, C. A., Rondon, R., Bergami, E., & Corsi, I. (2022). Unravelling the suitability of *Branchinecta gaini* as a potential biomonitor of contaminants of emerging concern in the Antarctic Peninsula region. *Antarctic Science*, 34(4), 281-288.

- 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., Lozoya, J. P., Leganés, F., Fernández-Piñas, F., Rosal, R., Teixeira-de-Mello, F. (2021.a). A pilot study about microplastics and mesoplastics in an Antarctic glacier. *The Cryosphere* 15(6): 2531–2539.
- González-Pleiter, M., Velázquez, D., Casero, M. C., Tytgat, B., Verleyen, E., Leganés, F., ... & Fernández-Piñas, F. (2021.b). Microbial colonizers of microplastics in an Arctic freshwater lake. *Science of the Total Environment*, 795, 148640.
- 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.
- Gunaalan, K., Nielsen, T. G., Rodríguez Torres, R., Lorenz, C., Vianello, A., Andersen, C. A., ... & Almeda, R. (2023). Is zooplankton an entry point of microplastics into the marine food web?. *Environmental science & technology*, 57(31), 11643-11655.
- Hale, R. C., Seeley, M. E., La Guardia, M. J., Mai, L., & Zeng, E. Y. (2020). A global perspective on microplastics. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 125(1), e2018JC014719.
- Han, M., Niu, X., Tang, M., Zhang, B. T., Wang, G., Yue, W., ... & Zhu, J. (2020). Distribution of microplastics in surface water of the lower Yellow River near estuary. *Science of the Total Environment*, 707, 135601.
- Hansson, L. A., & Tranvik, L. J. (1996). Quantification of invertebrate predation and herbivory in food chains of low complexity. *Oecologia*, 108(3), 542-551.
- Hassett, R. P., & Landry, M. R. (1988). Short-term changes in feeding and digestion by the copepod *Calanus pacificus*. *Marine Biology*, 99, 63-74.
- Hawes, T. C. (2008). Feeding behaviour in the Antarctic fairy shrimp, *Branchinecta gaini*. *Polar Biology*, 31(10), 1287-1289.
- Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R. C., & Thiel, M. (2012). Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. *Environmental science & technology*, 46(6), 3060-3075.
- Horie, Y., Mitsunaga, K., Yamaji, K., Hirokawa, S., Uaciquete, D., Ríos, J. M., ... & Okamura, H. (2024). Variability in microplastic color preference and intake among selected marine and freshwater fish and crustaceans. *Discover Oceans*, 1(1), 5.
- Horton, A. A., Walton, A., Spurgeon, D. J., Lahive, E., & Svendsen, C. (2017). Microplastics in freshwater and terrestrial environments: Evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities. *Science of the total environment*, 586, 127-141.

- Horton, A. A., & Barnes, D. K. (2020). Microplastic pollution in a rapidly changing world: Implications for remote and vulnerable marine ecosystems. *Science of The Total Environment*, 738, 140349.
- Howell, L. (2019). Microplastic pollution in the Arctic Ocean: Assessing ingestion and potential health effects in *Calanus* and *Neocalanus* copepods.
- 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., & Costa, M. F. (2014). The present and future of microplastic pollution in the marine environment. *Environmental pollution*, 185, 352-364.
- Izaguirre, I., Allende, L., & Marinone, M. C. (2003). Comparative study of the planktonic communities of three lakes of contrasting trophic status at Hope Bay (Antarctic Peninsula). *Journal of Plankton Research*, 25(9), 1079-1097.
- Jones-Williams, K., Galloway, T., Cole, M., Stowasser, G., Waluda, C., & Manno, C. (2020). Close encounters-microplastic availability to pelagic amphipods in sub-antarctic and antarctic surface waters. *Environment International*, 140, 105792.
- Jurasz, W., Kittel, W., & Presler, P. (1983). Life cycle of *Branchinecta gaini* Daday, 1910, (Branchiopoda, Anostraca) from King George Island, South Shetland Islands. *Polish Polar Research*, 143-154.
- Karnaukhov, D. M. I. T. R. Y., Silow, E., Biritskaya, S., Dolinskaya, E., Teplykh, M., Silenko, N., & Ermolaeva, Y. (2020). Pollution by macro-and microplastic of large lacustrine ecosystems in Eastern Asia. *Pollution Research*, 39(2), 353-355.
- Kejna, M., Arażny, A., & Sobota, I. (2013). Climatic change on King George Island in the years 1948–2011. *Polish Polar Research*, (2), 213-235.
- Kelly, M. R., Lant, N. J., Kurr, M., & Burgess, J. G. (2019). Importance of water-volume on the release of microplastic fibers from laundry. *Environmental science & technology*, 53(20), 11735-11744.
- 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.
- 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.
- Kirstein IV, K. (2016). S, Wichels, A, Garin-Fernandez, A, Erler, R, Löder, M, Gerds, G: Dangerous hitchhikers? Evidence for potentially pathogenic *Vibrio spp.* on microplastic particles. vol. 120. *Marine Environmental Research*, 1-8.
- 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.

- Koelmans, A. A., Redondo-Hasselerharm, P. E., Mohamed Nor, N. H., & Kooi, M. (2020). Solving the nonalignment of methods and approaches used in microplastic research to consistently characterize risk. *Environmental science & technology*, 54(19), 12307-12315.
- Koelmans, A. A., Redondo-Hasselerharm, P. E., Nor, N. H. M., de Ruijter, V. N., Mintenig, S. M., & Kooi, M. (2022). Risk assessment of microplastic particles. *Nature Reviews Materials*, 7(2), 138-152.
- Koski, M., Søndergaard, J., Christensen, A. M., & Nielsen, T. G. (2021). Effect of environmentally relevant concentrations of potentially toxic microplastic on coastal copepods. *Aquatic Toxicology*, 230, 105713.
- Krojmal, E. (2021.). Microplásticos en la Bahía Collins (Península Fildes, Antártida) y su interacción con el zooplancton mediante un modelo experimental. Tesis de grado. Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Ciencias. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/28312>
- Kučera, J., Púček Belišová, N., Mackuľak, T., Ryba, J., Douda, K., Bondarev, D., ... & Horký, P. (2022). Polystyrene Microparticles and the Functional Traits of Invertebrates: A Case Study on Freshwater Shrimp *Neocardina heteropoda*. *Fishes*, 7(6), 323.
- Kvale, K., Prowe, A. E. F., Chien, C. T., Landolfi, A., & Oschlies, A. (2021). Zooplankton grazing of microplastic can accelerate global loss of ocean oxygen. *Nature Communications*, 12(1), 2358.
- 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.
- 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.
- Lan, D., He, H., Song, X., & Ma, Y. (2024). Effects of food quantity on the ingestion and egestion of MPs with different colors by *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 106976.
- Laybourn-Parry, J., & Pearce, D. A. (2007). The biodiversity and ecology of Antarctic lakes: models for evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 362(1488), 2273-2289.
- Lawrence, J., Santolini, C., Binda, G., Carnati, S., Boldrocchi, G., Pozzi, A., & Bettinetti, R. (2023). Freshwater Lacustrine Zooplankton and Microplastic: An Issue to Be Still Explored. *Toxics*, 11(12), 1017.
- Lebreton, L. C., Van Der Zwet, J., Damsteeg, J. W., Slat, B., Andrady, A., & Reisser, J. (2017). River plastic emissions to the world's oceans. *Nature communications*, 8(1), 1-10.
- Lee, J. W., Nam, J. H., Kim, Y. H., Lee, K. H., & Lee, D. H. (2008). Bacterial communities in the initial stage of marine biofilm formation on artificial surfaces. *The journal of microbiology*, 46(2), 174-182.

- Leites, L. (2024). Diversidad y actividad bacteriana del lago antártico Uruguay en la Península Fildes. Tesis de Grado de Licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad de la República. 46 pp.
- Lenzi, J., Bresesti, F., Lozoya, J. P., De Feo, B., Krojmal, E., Lacerot, G., ... & de Mello, F. T. (2022). Diet and Debris Ingestion of Skuas on Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica. *Marine Pollution Bulletin*, 185, 114211.
- Li, C., Busquets, R., & Campos, L. C. (2020). Assessment of microplastics in freshwater systems: A review. *Science of the Total Environment*, 707, 135578. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135578>
- Lozoya, J. P., Carranza, A., Lenzi, J., Machín, E., de Mello, F. T., González, S., ... & Weinstein, F. (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.
- Lozoya, J. P., Lacerot, G., De Feo, B., Krojmal, E., González-Pleiter, M., Ramos, A., & de Mello, F. T. (2024). CHALLENGES IN STUDYING PLASTICS AND MICROPLASTICS IN ANTARCTICA: CONSIDERATIONS FROM THE AntarPLAST PROJECT. *Antarctic Affairs*. Vol 10, 17-29.
- Luoto, T. P., Rantala, M. V., Kivilä, E. H., Nevalainen, L., & Ojala, A. E. (2019). Biogeochemical cycling and ecological thresholds in a High Arctic lake (Svalbard). *Aquatic Sciences*, 81, 1-16.
- Lv, L., Yan, X., Feng, L., Jiang, S., Lu, Z., Xie, H., ... & Li, C. (2021). Challenge for the detection of microplastics in the environment. *Water Environment Research*, 93(1), 5-15.
- Machín Olivera, E. (2022). Metanogénesis en lagos de la Antártida marítima. Tesis de maestría. Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Ciencias - PEDECIBA. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/31607>
- Malcolm, J. R., Liu, C., Neilson, R. P., Hansen, L., & Hannah, L. E. E. (2006). Global warming and extinctions of endemic species from biodiversity hotspots. *Conservation biology*, 20(2), 538-548.
- Management Plan for Antarctic Specially Protected Area No. 150. (2009). [archivo PDF] Recuperado de https://documents.ats.aq/recatt/att427_e.pdf
- Mariano, S., Tacconi, S., Fidaleo, M., Rossi, M., & Dini, L. (2021). Micro and nanoplastics identification: classic methods and innovative detection techniques. *Frontiers in toxicology*, 3, 636640.
- Martínez-Rosales, C., & Castro-Sowinski, S. (2011). Antarctic bacterial isolates that produce cold-active extracellular proteases at low temperature but are active and stable at high temperature. *Polar research*, 30(1), 7123.
- Mattsson, K., da Silva, V.U., Deonaraine, A., Louie, S.M., Gondikas, A. (2021). Monitoring anthropogenic particles in the environment: Recent developments and remaining challenges at the forefront of analytical methods, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 56:101513. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2021.101513>.

- Maturana, C. S., Rosenfeld, S., Naretto, J., Convey, P., & Poulin, E. (2019). Distribution of the genus *Boeckella* (Crustacea, Copepoda, Calanoida, Centropagidae) at high latitudes in South America and the main Antarctic biogeographic regions. *ZooKeys*, 854, 1.
- Mavrianos, S., Manzi, F., Agha, R., Azoubib, N., Schampera, C., & Wolinska, J. (2023). Nanoplastics modulate the outcome of a zooplankton–microparasite interaction. *Freshwater Biology*, 68(5), 847-859.
- Mihai, F. C., Gündoğdu, S., Khan, F. R., Olivelli, A., Markley, L. A., & Van Emmerik, T. (2022). Plastic pollution in marine and freshwater environments: abundance, sources, and mitigation. In *Emerging Contaminants in the Environment* (pp. 241-274). Elsevier.
- Minor, E. C., Lin, R., Burrows, A., Cooney, E. M., Grosshuesch, S., & Lafrancois, B. (2020). An analysis of microlitter and microplastics from Lake Superior beach sand and surface-water. *Science of The Total Environment*, 744, 140824.
- Monràs-Riera, P., Angulo-Preckler, C., & Avila, C. (2023). Quantification and distribution of marine microdebris in the surface waters of Livingston Island (South Shetland Islands, Antarctica). *Marine Pollution Bulletin*, 195, 115516.
- 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.
- Morel, M. A., Braña, V., Martínez-Rosales, C., Cagide, C., & Castro-Sowinski, S. (2015). Five-year bio-monitoring of aquatic ecosystems near Artigas Antarctic Scientific Base, King George Island. *Advances in Polar Science*, 26(1), 102-106.
- Morley, S. A., Abele, D., Barnes, D. K. A., Cárdenas, C. A., Cotté, C., Gutt, J., Henley, S. F., Höfer, J., Hughes, K. A., Martin, S. M., Moffat, C., Raphael, M., Stammerjohn, S. E., Suckling, C. C., Tulloch, V. J. D., Waller, C. L., & Constable, A. J. (2020). Global Drivers on Southern Ocean Ecosystems: Changing Physical Environments and Anthropogenic Pressures in an Earth System. *Frontiers in Marine Sciences*, 7:547188. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.547188>
- Müller, C., Townsend, K., & Matschullat, J. (2012). Experimental degradation of polymer shopping bags (standard and degradable plastic, and biodegradable) in the gastrointestinal fluids of sea turtles. *Science of the Total Environment*, 416, 464-467.
- Muller-Karanassos, C., Arundel, W., Lindeque, P. K., Vance, T., Turner, A., & Cole, M. (2021). Environmental concentrations of antifouling paint particles are toxic to sediment-dwelling invertebrates. *Environmental Pollution*, 268, 115754.
- 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.
- Murray, F., & Cowie, P. R. (2011). Plastic contamination in the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). *Marine pollution bulletin*, 62(6), 1207-1217.

Nakatani, H., Ohshima, Y., Uchiyama, T., & Motokucho, S. (2022). Degradation and fragmentation behavior of polypropylene and polystyrene in water. *Scientific Reports*, 12(1), 18501.

Noonan, M. J., Grechi, N., Mills, C. L., & de AMM Ferraz, M. (2023). Microplastics analytics: why we should not underestimate the importance of blank controls. *Microplastics and Nanoplastics*, 3(1), 17.

Okeke, E. S., Ezeorba, T. P. C., Chen, Y., Mao, G., Feng, W., & Wu, X. (2022). Ecotoxicological and health implications of microplastic-associated biofilms: a recent review and prospect for turning the hazards into benefits. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(47), 70611-70634.

Paffenhöfer, G. A. (1971). Grazing and ingestion rates of nauplii, copepodids and adults of the marine planktonic copepod *Calanus helgolandicus*. *Marine Biology*, 11, 286-298.

Paggi, J. C. (1996). Feeding ecology of *Branchinecta gaini* (crustacea: Anostraca) in ponds of south Shetland Islands, Antarctica. *Polar Biology*, 16(1), 13-18.

Pan, Y., Long, Y., Hui, J., Xiao, W., Yin, J., Li, Y., ... & Chen, L. (2022). Microplastics can affect the trophic cascade strength and stability of plankton ecosystems via behavior-mediated indirect interactions. *Journal of Hazardous Materials*, 430, 128415.

Pearson, T. H., Gray, J. S., & Johannessen, P. J. (1983). Objective selection of sensitive species indicative of pollution-induced change in benthic communities. 2. Data analyses. *Marine ecology progress series*. Oldendorf, 12(3), 237-255.

Pedrotti, M. L., Petit, S., Elineau, A., Bruzaud, S., Crebassa, J. C., Dumontet, B., ... & Cózar, A. (2016). Changes in the floating plastic pollution of the Mediterranean Sea in relation to the distance to land. *PloS one*, 11(8), e0161581.

Peter, H. U., Buesser, C., Mustafa, O., & Pfeiffer, S. (2008). Risk assessment for the Fildes Peninsula and Ardley Island, and development of management plans for their designation as Specially Protected or Specially Managed Areas. German Federal Environment Agency, Dessau.

Petsch, C., Rosa, K. K. D., Vieira, R., Braun, M. H., Costa, R. M., & Simões, J. C. (2020). The effects of climatic change on glacial, proglacial and paraglacial systems at Collins Glacier, King George Island, Antarctica, from the end of the Little Ice Age to the 21st century. *Investigaciones geográficas*, (103).

Piccini, C., Bertoglio, F., Sommaruga, R., Martínez de la Escalera, G., Pérez, L., Bugoni, L., ... & García-Rodríguez, F. (2024). Prokaryotic richness and diversity increased during Holocene glacier retreat and onset of an Antarctic Lake. *Communications Earth & Environment*, 5(1), 94.

Pisani, X. G., Lompré, J. S., Pires, A., & Greco, L. L. (2022). Plastics in scene: A review of the effect of plastics in aquatic crustaceans. *Environmental research*, 212, 113484.

Plastics Europe (2023). Plastics - the facts 2023: an analysis of European plastics production, demand and waste data. Preprint at [Plastics – the fast Facts 2023 • Plastics Europe](#)

Pociecha, A. (2007). Effect of temperature on the respiration of an Antarctic freshwater anostracan, *Branchinecta gaini* Daday 1910, in field experiments. *Polar Biology*, 30(6), 731-734.

Pociecha, A., & Dumont, H. J. (2008). Life cycle of *Boeckella poppei* Mrazek and *Branchinecta gaini* Daday (King George Island, South Shetlands). *Polar Biology*, 31(2), 245-248.

Prata, J. C., Castro, J. L., da Costa, J. P., Duarte, A. C., Rocha-Santos, T., & Cerqueira, M. (2020). The importance of contamination control in airborne fibers and microplastic sampling: Experiences from indoor and outdoor air sampling in Aveiro, Portugal. *Marine pollution bulletin*, 159, 111522.

Prata, J. C., Reis, V., da Costa, J. P., Mouneyrac, C., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. (2021). Contamination issues as a challenge in quality control and quality assurance in microplastics analytics. *Journal of Hazardous Materials*, 403, 123660.

Procter, J., Hopkins, F. E., Fileman, E. S., & Lindeque, P. K. (2019). Smells good enough to eat: Dimethyl sulfide (DMS) enhances copepod ingestion of microplastics. *Marine pollution bulletin*, 138, 1-6.

Pruszek 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

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>

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.

Richardson A.J. 2008. In hot water: zooplankton and climate change. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil* 65: 279-295.

Ríos, J. M., Tesitore, G., & de Mello, F. T. (2022). Does color play a predominant role in the intake of microplastics fragments by freshwater fish: an experimental approach with *Psalidodon eigenmanniorum*. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(32), 49457-49464.

Rochera, C. (2012). Functional ecology of microbial freshwater communities from Byers Peninsula (Livingston Island, Antarctica) (Doctoral dissertation, Universitat de València).

Rochera, C., & Camacho, A. (2019). Limnology and aquatic microbial ecology of Byers Peninsula: A Main freshwater biodiversity hotspot in Maritime Antarctica. *Diversity*, 11(10), 201.

Rodríguez-Torres, R., Almeda, R., Kristiansen, M., Rist, S., Winding, M. S., & Nielsen, T. G. (2020). Ingestion and impact of microplastics on arctic *Calanus* copepods. *Aquatic Toxicology*, 228, 105631.

Roldán, D. M., Carrizo, D., Sánchez-García, L., & Menes, R. J. (2022). Diversity and effect of increasing temperature on the activity of methanotrophs in sediments of fildes Peninsula freshwater lakes, King George Island, Antarctica. *Frontiers in Microbiology*, 13, 822552.

- Rota, E., Bergami, E., Corsi, I., & Bargagli, R. (2022). Macro-and microplastics in the Antarctic environment: ongoing assessment and perspectives. *Environments*, 9(7), 93.
- Rowlands, E., Galloway, T., Cole, M., Lewis, C., Peck, V., Thorpe, S., & Manno, C. (2021). The effects of combined ocean acidification and nanoplastic exposures on the embryonic development of Antarctic krill. *Frontiers in Marine Science*, 8, 709763.
- Rowlands, E., Jones-Williams, K., Primpke, S., Galloway, T., Cole, M., Waluda, C., & Manno, C. (2023). Microplastics in Antarctica-a Plastic Legacy in the Antarctic Snow?. *Research Square*; 2023. DOI: 10.21203/rs.3.rs-3389603/v1.
- Rummel, C. D., Jahnke, A., Gorokhova, E., Kühnel, D., & Schmitt-Jansen, M. (2017). Impacts of biofilm formation on the fate and potential effects of microplastic in the aquatic environment. *Environmental science & technology letters*, 4(7), 258-267.
- Saborowski, R., Korez, Š., Riesbeck, S., Weidung, M., Bickmeyer, U., & Gutow, L. (2022). Shrimp and microplastics: A case study with the Atlantic ditch shrimp *Palaemon varians*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 234, 113394.
- Sarijan, S., Azman, S., Said, M. I. M., & Jamal, M. H. (2021). Microplastics in freshwater ecosystems: a recent review of occurrence, analysis, potential impacts, and research needs. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-16. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11171-7>.
- Sarma S., Nandini S. y Gulati R. 2005. Life history strategies of cladocerans: comparisons of tropical and temperate taxa. *Hydrobiologia* 542: 315-333.
- Scherer, C., Weber, A., Lambert, S., & Wagner, M. (2018). Interactions of microplastics with freshwater biota (pp. 153-180). Springer International Publishing.
- Schmid, T., López-Martínez, J., Guillaso, S., Serrano, E., d'Hondt, O., Koch, M., ... & Maestro, A. (2017). Geomorphological mapping of ice-free areas using polarimetric RADARSAT-2 data on Fildes Peninsula and Ardley Island, Antarctica. *Geomorphology*, 293, 448-459.
- Schmidt, R., Mäusbacher, R., & Müller, J. (1990). Holocene diatom flora and stratigraphy from sediment cores of two Antarctic lakes (King George Island). *Journal of paleolimnology*, 3, 55-74.
- Schminke H.K. 2007. Entomology for the copepodologist. *Journal of Plankton Research* 29: 149-162.
- Schwarz, A. E., Ligthart, T. N., Boukris, E., & Van Harmelen, T. (2019). Sources, transport, and accumulation of different types of plastic litter in aquatic environments: a review study. *Marine pollution bulletin*, 143, 92-100.
- Setälä, O., Fleming-Lehtinen, V., & Lehtiniemi, M. (2014). Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. *Environmental pollution*, 185, 77-83.
- Sharma, J., Rai, M., & Robert, S. (2024). Microplastics influence the functional responses of a tropical estuarine calanoid *Pseudodiaptomus annandalei*.

Shevnina, E., & Kourzeneva, E. (2017). Thermal regime and components of water balance of lakes in Antarctica at the Fildes peninsula and the Larsemann Hills. *Tellus A: Dynamic Meteorology and Oceanography*, 69(1), 1317202.

Statista 2019. Production of plastics worldwide from 1950 to 2019 (in million metric tons). Disponible en: <https://www.statista.com/statistics/282732/global-production-of-plastics-since-1950/>

Suaría, 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.

Tarafdar, A., Lim, J. Y., & Kwon, J. H. (2022). UV stabilizers can foster early development of biofilms on freshwater microplastics. *Environmental Pollution*, 315, 120444.

Textile Exchange. Preferred Fiber & Materials Market Report 2023. <https://textileexchange.org/app/uploads/2023/11/Materials-Market-Report-2023.pdf>.

Timilsina, A., Adhikari, K., Yadav, A. K., Joshi, P., Ramena, G., & Bohara, K. (2023). Effects of microplastics and nanoplastics in shrimp: Mechanisms of plastic particle and contaminant distribution and subsequent effects after uptake. *Science of the Total Environment*, 894, 164999.

Torres, L. G., Brander, S. M., Parker, J. I., Bloom, E. M., Norman, R., Van Brocklin, J. E., ... & Hildebrand, L. (2023). Zoop to poop: Assessment of microparticle loads in gray whale zooplankton prey and fecal matter reveal high daily consumption rates. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1201078.

Traboni, C., Sarno, D., Ribera d'Alcalà, M., & Mazzocchi, M. G. (2023). Microplastics in the menu of Mediterranean zooplankton: Insights from the feeding response of the calanoid copepod *Centropages typicus*. *Marine Ecology*, e12760.

Trestrail, C. (2021). Microplastics-induced energy flux in the digestive and antioxidant systems of the mussel, *Mytilus galloprovincialis*. Declaration of originality (Doctoral dissertation, RMIT University).

Trevan, J. W. (1927). The error of determination of toxicity. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 101(712), 483-514.

Trokhymets, V., Zinkovskiy, A., & Dykyy, I. (2024). Distribution of *Boeckella poppei* (Copepoda: Centropagidae) in the region of the Wilhelm Archipelago (Kyiv Peninsula, Maritime Antarctica). *Polar Biology*, 1-17.

Tsugeki N.K., Ishida S. y Urabe J. 2009. Sedimentary records of reduction in resting egg production of *Daphnia galeata* Lake Biwa during the 20th century: a possible effect of winter warming. *Journal of Paleolimnology* 42: 155-165.

Tu, C., Zhou, Q., Zhang, C., Liu, Y., & Luo, Y. (2020). Biofilms of microplastics. *Microplastics in terrestrial environments: emerging contaminants and major challenges*, 299-317.

Turner J.T. (2002). Zooplankton fecal pellets, marine snow and sinking phytoplankton blooms. *Aquatic Microbial Ecology* 27: 57-102.

- Turner, J. T. (2015). Zooplankton fecal pellets, marine snow, phytodetritus and the ocean's biological pump. *Progress in oceanography* 130, 205-248.
- Turner, A. (2021). Paint particles in the marine environment: an overlooked component of microplastics. *Water rEsearch* x, 12, 100110.
- 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.
- Uddin, S., Behbehani, M., Habibi, N., Fowler, S. W., Al-Sarawi, H. A., & Alonso-Hernandez, C. (2023). Microplastics Residence Time in Marine Copepods: An Experimental Study. *Sustainability*, 15(20), 14970.
- Uurasjärvi, E., Hartikainen, S., Setälä, O., Lehtiniemi, M., & Koistinen, A. (2020). Microplastic concentrations, size distribution, and polymer types in the surface waters of a northern European lake. *Water Environment Research*, 92(1), 149-156.
- Valdez-Cibrián, A., Kozak, E. R., & Franco-Gordo, C. (2024). Microplastic ingestion in marine mesozooplankton species associated with functional feeding traits. *Marine Environmental Research*, 106650.
- Van Colen, C., Vanhove, B., Diem, A., & Moens, T. (2020). Does microplastic ingestion by zooplankton affect predator-prey interactions? An experimental study on larviphagy. *Environmental Pollution*, 256, 113479.
- Van Emmerik, T., & Schwarz, A. (2020). Plastic debris in rivers. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Water*, 7(1), e1398.
- Varnhorn, A. (2016). Plásticos en el pescado y el marisco. Departamento Científico de Greenpeace.
- 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.
- 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>
- Vieira, R., Marotta, H., da Rosa, K. K., Jaña, R., Simões, C. L., de Souza Júnior, E., ... & de Sá Felizardo, J. P. (2015). Análisis sedimentológico y geomorfológico de áreas lacustres en la Península Fildes, Isla Rey Jorge, Antártica Marítima. *Investigaciones Geográficas*, 49, 3-30.
- 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.

- 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.
- Walkinshaw, C., Tolhurst, T. J., Lindeque, P. K., Thompson, R. C., & Cole, M. (2023). Impact of polyester and cotton microfibers on growth and sublethal biomarkers in juvenile mussels. *Microplastics and Nanoplastics*, 3(1), 5.
- Wang, Y., Mao, Z., Zhang, M., Ding, G., Sun, J., Du, M., ... & Wang, J. (2019). The uptake and elimination of polystyrene microplastics by the brine shrimp, *Artemia parthenogenetica*, and its impact on its feeding behavior and intestinal histology. *Chemosphere*, 234, 123-131.
- Welden, N. A., & Lusher, A. (2020). Microplastics: from origin to impacts. In *Plastic waste and recycling* (pp. 223-249). Academic Press.
- Wieczorek, A. M., Croot, P. L., Lombard, F., Sheahan, J. N., & Doyle, T. K. (2019). Microplastic ingestion by gelatinous zooplankton may lower efficiency of the biological pump. *Environmental science & technology*, 53(9), 5387-5395.
- Williamson, C. E., Salm, C., Cooke, S. L., & Saros, J. E. (2010). How do UV radiation, temperature, and zooplankton influence the dynamics of alpine phytoplankton communities?. *Hydrobiologia*, 648, 73-81.
- Windsor, F. M., Tilley, R. M., Tyler, C. R., & Ormerod, S. J. (2019). Microplastic ingestion by riverine macroinvertebrates. *Science of the total environment*, 646, 68-74.
- Wong, J. K. H., Lee, K. K., Tang, K. H. D., & Yap, P. S. (2020). Microplastics in the freshwater and terrestrial environments: Prevalence, fates, impacts and sustainable solutions. *Science of the total environment*, 719, 137512. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137512>
- Xu, J., Rodríguez-Torres, R., Rist, S., Nielsen, T. G., Hartmann, N. B., Brun, P., ... & Almeda, R. (2022). Unpalatable plastic: efficient taste discrimination of microplastics in planktonic copepods. *Environmental science & technology*, 56(10), 6455-6465.
- Yin, L., Wen, X., Du, C., Jiang, J., Wu, L., Zhang, Y., ... & Gu, Q. (2020). Comparison of the abundance of microplastics between rural and urban areas: a case study from East Dongting Lake. *Chemosphere*, 244, 125486.
- Yu, S. P. Y., Cole, M. C., & Chan, B. K. (2020). Effects of microplastic on zooplankton survival and sublethal responses. *Oceanography and marine biology*.
- 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.

Zhang, K., Su, J., Xiong, X., Wu, X., Wu, C., & Liu, J. (2016). Microplastic pollution of lakeshore sediments from remote lakes in Tibet plateau, China. *Environmental pollution*, 219, 450-455.

Zhang, S., Wu, H., & Hou, J. (2023). Progress on the effects of microplastics on aquatic crustaceans: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5523.

Zubris, K. A. V., & Richards, B. K. (2005). Synthetic fibers as an indicator of land application of sludge. *Environmental pollution*, 138(2), 201-211.

Anexos

Anexo 1. Datos fisicoquímicos obtenidos de visitar al Lago Uruguay y Ionosférico. 31/01/2022 corresponde al día en el cual se extrajeron las muestras de agua para generar las incubaciones de MPs para formación de biofilm. 13/02/2022 corresponde al día en el cual se colectó mas agua de cada lago para los experimentos y se colectaron organismos de *B.gaini* en Lago Ionosférico. 20/01/2023 corresponde al día de extracción de muestras de agua para analisis de MPs.

Sitio	Fecha	Temperatura (°C)	Conductividad	Turbidez (NTU)	Clo-a (µg/l)	pH
Lago Uruguay	31/01/2022	5	139	0,0	0,0	-
	13/02/2022	5,9	147	-	-	-
Lago Ionosférico	31/01/2022	1,4	86	12,91	0,0	-
	13/02/2022	4,2	87	-	-	-
Entrada Lago Ionosférico	20/01/2023	4	63	-	-	8,17
Salida Lago Ionosférico	20/01/2023	3,4	56	-	-	8,4

Anexo 2. Datos de la toma de muestras de MPs ambientales. Nótese que el volumen filtrado se divide por dos ya que se analizó una única mitad de la muestra.

Fecha	Réplica	Tiempo (min)	Cte flujómetro (m)	Área boca red (m ²)	Área real (m ²)	Fi	Ff	Δ	Volumen filtrado (m ³)/2
Entrada enero.23	a	10	0,3	Completa -4 cm y -9 cm	0,093	64095	65269	1174	16,29
	b	10	0,3	Completa -7 cm	0,090	65269	66944	1675	22,61
	c	10	0,3	Completa -7 cm y -9 cm	0,085	66944	68185	1241	15,82
Salida enero.23	a	10	0,3	Completa - 1 cm	0,120	68872	69581	709	12,76
	b	11	0,3	Completa - 2 cm	0,115	69581	70518	937	16,16
	c	10	0,3	Completa -6 cm y -7 cm	0,093	70518	71647	1129	15,66

Anexo 3. Detalles de la técnica de análisis de los medios experimentales para obtención de datos sobre consumo de MPs.

La técnica se definió en 5 pasos:

1. Crear solución salina saturada (36 g/l de sal, verificando valores con un refractómetro para salinidad).
2. Filtrar solución salina 2 veces por filtros Gf/f (0,7 μm)
3. Seteo del análisis (rango de tamaño a analizar, volumen de análisis)
4. Analizar blanco (100% solución salina filtrada)
5. Analizar los medios experimentales de los controles y los tratamientos. La cantidad de partículas se analiza de forma diferencial según la concentración del tratamiento: MP1 (concentración experimental 0,01 g/l) diluido 50:50; MP10 (concentración experimental 0,1 g/l) diluido 25:75.

Debido a su novedad este protocolo presentó algunos desafíos que fueron capaces de resolverse a partir de precauciones a considerar. El primer desafío fue que el volumen total (mezcla de muestra con solución salina) debió ser suficiente para 3 réplicas, y se debe evitar que aire ingrese al equipo durante la medición. Por otro lado, concentraciones muy altas pueden generar obstrucciones o un número de coincidencia muy alto, esto quiere decir que pasan muchas partículas al mismo tiempo y el programa no puede diferenciar una partícula de otra y las contabiliza como una. Para evitarlo es necesario diluir aún más con solución salina o disminuir el volumen de análisis. Además, siempre se debe mirar por la cámara mientras se analiza por si ocurren obstrucciones. Otra precaución a considerar es la medición de partículas muy pequeñas entre 10 y 30 μm ya que pueden identificarse como partículas no plásticas, debido a que la filtración del agua experimental se realizó con una malla de 23 μm . Por esta razón, solo se consideraron las partículas de tamaños a partir de 30 μm y hasta 130 μm ya que el rallado irregular era menor a 125 μm .

Anexo 4. Condiciones experimentales durante el experimento de *B. poppei* (A) y *B. gaini* (B).

A)

15/02/2022	Horas Homogeneizaciones	Temperatura aire heladera (°C)	Luz:Oscuridad
1°	1:30	10	Apagado luz
2°	6:30	6,5	Prendido luz
3°	9:30	7	Luz
4°	13:30	5,5	Luz
5°	17:30	3,5	Luz
6°	21:30	5	Finalización Exp

B)

13/02/2022	Horas Homogeneizaciones	Temperatura aire heladera (°C)	Luz:Oscuridad
1°	23:15	9	Apagado luz
2°	4:30	6	Prendido luz
3°	7:15	6	Luz
4°	11:15	5,5	Luz
5°	16:15	5	Luz
6°	19:15	9,5	Finalización Exp

Anexo 5. Categorías de polímeros según color y forma del total de las partículas antropogénicas colectadas en el Lago Ionosférico.

Forma	Color	N° total analizados	N° sintéticos celulósicos $\geq 70\%$	N° sintéticos celulósicos 50-70%	N° plásticos $\geq 70\%$	N° plásticos 50-70%	% Sintéticos no plásticos	% Plásticos
Fibra	azul	20	10	1	0	9	50	45
Fibra	transparente	38	18	0	5	15	47	39
Fibra	gris	19	11	1	1	5	58	26
Fibra	negro	28	15	1	3	8	54	29
Fibra	roja	5	1	0	0	4	20	80
Fibra	celeste	3	3	0	0	0	100	0
Fibra	rosado	1	1	0	0	0	100	0
Conjuntos de fibras	gris y azul	1	0	0	0	1	0	100
Conjuntos de fibras	negro	1	0	0	0	1	0	100
Fragmento	blanco	1	0	0	0	1	0	100
Fragmento	rojo	4	0	0	1	3	0	75
Fragmento	negro	2	0	0	0	2	0	100

Anexo 6. Identificación de las partículas antropogénicas según las categorías de polímeros (A) y cantidad de MPs según tipos de polímeros (B).

A)

Total de APs analizadas	Plásticos $\geq 70\%$	Plásticos 50%-70%	Sin identificación	Sintéticos Celulósicos $\geq 70\%$	Sintéticos Celulósicos 50%-70%
96	31	10	5	40	10

B)

Plásticos $\geq 70\%$	Nylon/Poliamida	Resina Alquídica	Acrílico	PES	PE	PP
31	3	2	5	20	1	2

Anexo 7. Densidades de MPs totales, fibras, fragmentos y conjuntos de fibras (A) y porcentajes de fibras, fragmentos y conjuntos de fibras (B).

A)

Muestra	Réplica	Densidad total (items/m ³)	Densidad fibras (items/m ³)	Densidad fragmentos (items/m ³)
Entrada Lago	a	0,7	0,61	0,06
	b	0,4	0,35	0,00
	c	1,3	0,88	0,25
Salida Lago	a	0,8	0,71	0,08
	b	1,6	1,48	0,12
	c	1,1	1,15	0,00

B)

Muestra	Réplica	% de fibras	% fragmentos	% conjunto de fibras
Entrada Lago	a	91	9	0
	b	100	0	0
	c	70	20	10
Salida Lago	a	90	10	0
	b	92	8	0
	c	100	0	0

Anexo 8. Partículas antropogénicas observadas en los controles de laboratorio de todas las muestras analizadas, incluyendo el control de muestreo y el control de procesamiento.

Muestra	Forma	Tamaño (mm)	Color	Polímeros	N° de coincidencias
Entrada A	-				0
Entrada B	Fibra	1,5	transparente		0
	Fibra	1	azul		0
	Fibra	2,6	transparente		0
Entrada C	Fibra	5	gris		0
Salida A	Fibra	1	negro	PES (coincidencia >70%)	0
	Fibra	1	gris		0
	Fibra	1	gris		0
	Fibra	0,5	rojo	Algodón (coincidencia >70%)	0
Salida B	Fibra	3	transparente		1
Salida C	Fibra	2,1	negro		1
	Fibra	1,1	azul		0
	Fibra	2	azul		0
	Fibra	5	azul		0
	Fibra	4	celeste	Algodón (coincidencia >70%)	0
Control Procedimiento	Fibra	1	roja		0
	Fibra	2,3	transparente		0
Blanco	-				0

Anexo 9. Partículas antropogénicas observadas en el control de procesamiento.

Forma	Tamaño (mm)	Color	Polímeros	N° de coincidencias
Fibra	1	azul		2
Fibra	1	negro	Celofán (coincidencia < 70%; > 50%)	3
Fibra	1,5	transparente		4
Fibra	3	negro	Celofán (coincidencia < 70%; > 50%)	1
Fibra	2,1	transparente	Celofán (coincidencia < 70%; > 50%)	3

Anexo 10. Partículas antropogénicas observadas en el control de muestreo.

Forma	Tamaño (mm)	Color	Polímeros	N° de coincidencias
Fibra	1,8	azul	PET (coincidencia < 70%; > 50%)	2
Fibra	0,8	azul	Polyethyl cyanoacrylate (coincidencia < 70%; > 50%)	2
Fibra	1,6	rojo	PET (coincidencia >70%)	0
Fibra	0,7	gris	Algodón (coincidencia >70%)	4
Fibra	1	gris	Lino (coincidencia >70%)	1
Fibra	0,8	gris		1
Fibra	2,5	transparente	Algodón (coincidencia >70%)	3
Fibra	1,7	transparente	PEVA (coincidencia <50%)	1
Fibra	1,1	transparente	Algodón (coincidencia >70%)	3
Fibra	1,2	transparente		0
Fibra	2,4	transparente	Acrílico y PEVA (coincidencia >70%)	1
Fibra	1,4	transparente		1
Fibra	1,1	transparente		2
Fibra	1,6	transparente		0
Fibra	1,3	transparente		1
Fibra	6,3	transparente		0
Fibra	2,1	transparente	Acrílico (coincidencia < 70%; > 50%)	2
Fibra	2	transparente		1
Fibra	1,2	transparente		0
Fibra	0,8	verde	PES (coincidencia < 70%; > 50%)	0
Fibra	6	negro	PES (coincidencia >70%)	0
Fragmento	2,1	blanco	Cianoacrilato de polietilo (coincidencia >70%)	0

Anexo 11. Tamaños promedio de los MPs encontrados, con sus respectivos desvíos (A). Fibras agrupadas por color para cada muestra (B). Fragmentos agrupados por color para cada muestra (C).

A)

Muestra	Rango de tamaño de fibras (mm)	Tamaño medio y desvío de fibras (mm)	Rango de tamaño de fragmentos (mm)	Tamaño medio y desvío de fragmentos (mm)	Rango de tamaño de conjunto de fibras (mm)	Tamaño medio y desvío de conjuntos de fibras (mm)
Entrada A	1-6,5	2,5 ± 1,3	0,5--	--	--	--
Entrada B	0,5-4,6	1,7 ± 1,4	--	--	--	--
Entrada C	0,6-7	1,8 ± 1,7	0,6-6	2,2 ± 2,5	0,3-1,5	0,9 ± 0,8
Salida A	0,4-4	1,8 ± 0,9	0,4--	--	--	--
Salida B	0,6-6	2,1 ± 1,5	0,3-1,2	0,8 ± 0,6	--	--
Salida C	0,2-6,5	1,9 ± 1,6	--	--	--	--

B)

Muestra	Transparente	Azul	Gris	Rojo	Negro	Rosado	Blanco	Marrón	Amarillo	Celeste
Entrada A	7	1	1	1	0	0	0	0	0	0
Entrada B	0	2	2	1	2	1	0	0	0	0
Entrada C	2	2	3	0	4	1	0	0	0	0
Salida A	1	2	3	0	2	0	1	0	0	0
Salida B	2	6	3	0	10	0	0	1	1	0
Salida C	4	3	1	2	6	0	1	0	0	1

C)

Muestra	Rojo	Blanco	Negro	Gris
Entrada A	1	0	0	0
Entrada B	0	0	0	0
Entrada C	2	1	0	1
Salida A	0	0	1	0
Salida B	1	0	1	0
Salida C	0	0	0	0

Anexo 12. Link a vídeo de reconstrucción 3D de biofilm MPs (incubado en agua del Lago Ionosferico).

<https://youtu.be/8TqmDUnsvAo>

Anexo 13. Concentraciones de MPs para cada tratamiento y control en el experimento con *B. gaini* (G) y *B. poppei* (P).

Tratamiento/Control	Concentraciones finales de microplásticos (items/ml)		Tratamiento/Control	Concentraciones finales de microplásticos (items/ml)
GMP10	459,300		PMP10	518,718
GMP10	336,300		PMP10	656,400
GMP10	444,800		PMP10	654,445
GMP10	496,600		PMP10	571,402
GMP10	485,500		PMP10	762,571
CGMP10	608,200		CPMP10	740,754
CGMP10	574,300		CPMP10	513,764
CGMP10	543,300		CPMP10	530,369
CGMP10	659,200		CPMP10	789,833
CGMP10	482,400		CPMP10	574,103
GMP1	58,000		PMP1	45,269
GMP1	61,500		PMP1	55,494
GMP1	52,100		PMP1	42,324
GMP1	47,800		PMP1	43,497
GMP1	53,200		PMP1	41,737
CGMP1	171,200		CPMP1	48,029
CGMP1	46,600		CPMP1	54,350
CGMP1	43,900		CPMP1	70,612
CGMP1	49,428		CPMP1	52,665
CGMP1	55,200		CPMP1	51,716
GMP1+B	48,685		PMP1+B	52,736
GMP1+B	31,294		PMP1+B	48,451
GMP1+B	54,237		PMP1+B	50,853
GMP1+B	27,968		PMP1+B	56,587
GMP1+B	31,435		PMP1+B	56,092
CGMP1+B	36,136		CPMP1+B	130,997
CGMP1+B	35,507		CPMP1+B	88,937
CGMP1+B	37,532		CPMP1+B	62,286
CGMP1+B	45,687		CPMP1+B	53,791
CGMP1+B	54,430		CPMP1+B	52,145
GMP10+B	440,398		PMP10+B	553,458
GMP10+B	321,595		PMP10+B	571,543

GMP10+B	567,598		PMP10+B	499,097
GMP10+B	444,183		PMP10+B	468,535
GMP10+B	428,860		PMP10+B	470,544
CGMP10+B	469,867		CPMP10+B	941,985
CGMP10+B	404,855		CPMP10+B	671,166
CGMP10+B	406,874		CPMP10+B	629,408
CGMP10+B	381,676		CPMP10+B	469,966
CGMP10+B	361,473		CPMP10+B	488,247

Anexo 14. Tasas de aclarado (mL ind-1 h-1) y de ingestión (MPs ind-1 h-1) para el rango de MPs 30-130 µm en el experimento con *B. gaini* (G) y *B. poppei* (P).

Tratamiento	TA # 30-130	TI # 30-130		Tratamiento	TA # 30-130	TI # 30-130
GMP1	1,2	38,9		PMP1	0,1	2,6
GMP1	0,9	29,0		PMP1	0,0	0,0
GMP1	1,8	56,6		PMP1	0,1	3,4
GMP1	2,2	70,9		PMP1	0,1	3,1
GMP1	1,7	53,0		PMP1	0,1	3,6
GMP10	1,2	287,9		PMP10	0,1	27,6
GMP10	2,8	692,2		PMP10	0,0	0,0
GMP10	1,3	329,5		PMP10	0,0	0,0
GMP10	0,7	186,6		PMP10	0,1	13,9
GMP10	0,9	216,0		PMP10	0,0	0,0
GMP1+B	0,0	0,0		PMP1+B	0,2	6,8
GMP1+B	1,5	27,5		PMP1+B	0,2	8,3
GMP1+B	0,0	0,0		PMP1+B	0,2	7,4
GMP1+B	2,1	38,2		PMP1+B	0,2	5,6
GMP1+B	1,5	27,1		PMP1+B	0,2	5,7
GMP10+B	0,0	0,0		PMP10+B	0,1	21,1
GMP10+B	1,2	211,1		PMP10+B	0,1	16,4
GMP10+B	0,0	0,0		PMP10+B	0,1	36,0
GMP10+B	0,0	0,0		PMP10+B	0,2	45,2
GMP10+B	0,0	0,0		PMP10+B	0,2	44,6

Anexo 15. Tasas de aclarado (mL ind-1 h-1) y de ingestión (MPs ind-1 h-1) según rangos de tamaño de MPs para *B.poppei*.

Tratamiento	TA # 30-50	TA # 50-70	TA # 70-90	TA # 90-110	TA # 110-130	TI # 30-50	TI # 50-70	TI # 70-90	TI # 90-110	TI # 110-130
PMP1	0,9	1,1	1,8	1,8	0	13	6	0	4	0
PMP1	0	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0
PMP1	0,9	2,5	1,8	1,8	0	13	27	0	4	0
PMP1	1,1	1,6	1,8	1,8	0	19	12	0	4	0
PMP1	0	8,8	0	0	0	0	132	0	0	0
PMP10	0,8	1,1	1,4	1,7	0	243	140	56	17	0
PMP10	0	0,1	0	0	0	0	9	0	0	0
PMP10	0	1,2	0	0	0	0	157	0	0	0
PMP10	0,4	0,9	0,9	0,3	0	113	107	34	0	0
PMP10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PMP1+B	2,7	0,6	1,9	1,4	0	96	0	4	9	0
PMP1+B	2,7	1,9	1,9	1,4	0	96	24	4	9	0
PMP1+B	2,7	1,6	1,9	1,4	0	96	17	4	9	0
PMP1+B	2	1,2	1,1	1,4	0	66	11	0	9	0
PMP1+B	2	1,6	1,1	1,4	0	66	17	0	9	0
PMP10+B	0,7	0,5	0,9	1,4	2	209	55	40	17	3
PMP10+B	0,6	0,7	0,2	0	1,1	173	84	1	0	0
PMP10+B	1,3	1,1	1,4	1,1	3,2	382	148	68	11	13
PMP10+B	1,5	1,7	1,4	2,4	2	469	233	68	37	3
PMP10+B	1,4	1,6	1,8	2	3,2	437	226	93	30	13

Anexo 16. Tasas de aclarado (mL ind-1 h-1) y de ingestión (MPs ind-1 h-1) según rangos de tamaño para *B. gaini*.

Tratamiento	TA # 30-50	TA # 50-70	TA # 70-90	TA # 90-110	TA # 110-130	TI # 30-50	TI # 50-70	TI # 70-90	TI # 90-110	TI # 110-130
GMP1	2,9	0	0	0,9	0,3	113	0	0	3	0
GMP1	2,6	0	0	0	0	97	0	0	0	0
GMP1	2,6	0,7	0,1	0,6	1,8	97	0	1	2	1
GMP1	3,9	0,3	0,1	0	3,9	158	25	1	0	2
GMP1	2,9	0,2	0,2	0	0	111	7	2	0	0
GMP10	1,1	1,6	0,7	0,7	0,6	270	216	23	0	11
GMP10	3,2	2,7	1,2	3,1	1,8	904	389	48	45	33
GMP10	1	1,7	1,5	2,4	1	260	237	66	32	18
GMP10	0,6	1,1	0,6	0,3	2,5	136	140	21	0	0
GMP10	0,1	1,7	1,9	4,8	4,5	12	233	87	80	86
GMP1+B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GMP1+B	2,2	0,3	1,2	0	0	41	14	13	0	0
GMP1+B	0	0	0	0,6	0	0	0	0	1	0
GMP1+B	3,1	0,7	0	7,1	0	64	0	0	8	0
GMP1+B	1,4	1,8	1	5	0	22	8	9	6	0
GMP10+B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GMP10+B	1,5	0,7	0,9	1	0	313	51	18	0	0
GMP10+B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GMP10+B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GMP10+B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0