

Hongos y algas como indicadores de la calidad del agua de un arroyo urbano

SEBASTIÁN KRAVETZ^{1,2}; M. CAROLINA RODRÍGUEZ CASTRO^{1,2}; CAROLINA VILCHES^{1,2};
FLORENCIA HUTA³ & ADONIS GIORGI^{1,2}✉

¹Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable INEDES (UNLu-CONICET). Luján, Buenos Aires, Argentina. ²Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján. Luján, Buenos Aires, Argentina. ³Universidad Nacional de Luján. Luján, Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN. En este se analizó la respuesta de los hongos anamórficos y de las algas del biofilm a los cambios en variables físico-químicas de calidad del agua. Las muestras se colectaron en 5 sitios del arroyo Gutiérrez, cerca de Luján (Buenos Aires, Argentina): dos sitios aguas arriba del ingreso de un canal que transporta efluentes de industrias textiles y tres sitios aguas abajo. En muestras de cada sitio se midió oxígeno disuelto, temperatura, pH, conductividad, nitratos, amonio, cloruros, DBO, DQO, y también se colectaron muestras de algas del biofilm sobre sustratos sumergidos y de hongos anamórficos sobre hojarasca. En las algas se estimó biomasa, producción y eficiencia fotosintética por fluorometría. Mediante recuentos bajo microscopio se estimó la abundancia relativa y total de los distintos grupos. En cuanto a los hongos, se determinaron las especies presentes en los distintos sitios, se estimó la tasa de esporulación y las actividades de tres enzimas. Los indicadores señalaron las zonas más contaminadas del arroyo; particularmente, los indicadores biológicos confirmaron la información y permitieron detectar una recuperación incipiente. Las variables químicas más apropiadas para establecer las zonas contaminadas fueron las concentraciones de amonio, fosfatos y DQO. Las especies de hongos acuáticos resultaron buenas indicadores, particularmente al analizar su abundancia específica respecto al primer sitio. La sensibilidad de las algas a la contaminación se detectó a partir de la concentración de clorofila y de la fluorescencia mínima (Fo). Otros indicadores (e.g., tasas de esporulación y actividades enzimáticas de hongos y grupos algales) aportaron información complementaria para comprender el estado del arroyo, resultando sensibles a la contaminación difusa y a la puntual por efluentes. Según estos resultados, se recomienda usar conjuntamente indicadores químicos y biológicos para incrementar la sensibilidad de los análisis de calidad del agua y para evaluar los efectos de los cambios producidos por la contaminación.

[Palabras clave: bioindicadores, cuenca del río Luján, algas perifíticas, hongos anamórficos]

ABSTRACT. *Fungi and algae as indicators of water quality in an urban stream.* This study evaluated the response of anamorphic fungi and biofilm algae to changes in physicochemical variables of water quality. Samples were taken at five sites of the Gutiérrez stream, located in the vicinity of Luján city (Buenos Aires Province, Argentina), a system affected by effluents from textile industries. The samples were taken at five sampling sites: two upstream sites and three sites downstream the effluent. Samples for the study of physicochemical variables (dissolved oxygen, temperature, pH, conductivity, nitrates, ammonium, chlorides, BOD, COD), as well as samples of algal biofilms developing on submerged substrates, and fungi developing on litter were collected from each site. In the case of the algae, fluorometric measurements were done to estimate biomass, production and photosynthetic efficiency. The relative and total abundances of the groups present were evaluated through microscopic observations. Regarding fungi, the species present in the different sites were determined and the sporulation rate and activities of three enzymes were evaluated. These indicators were useful to point out polluted areas, and in particular the biological indicators also showed recovery areas. The most important chemical variables indicating contaminated areas were ammonia, phosphates and COD concentration. The species of aquatic fungi were very indicative, particularly the abundance of species compared to the first site. Regarding algae, the highest sensitivity to contamination was detected through chlorophyll and minimum fluorescence (Fo). Other indicators such as sporulation rates, enzymatic activities and algae groups, provided complementary information to evaluate the state of the stream, and were sensitive to diffuse and point contamination. The application of chemical and biological indicators is recommended to increase the sensitivity of water quality analyses and to evaluate the effects of pollution.

[Keywords: bioindicators, Luján river basin, periphytic algae, anamorphic fungi]

INTRODUCCIÓN

El deterioro del ambiente se ha acelerado fuertemente durante los últimos años producto del aumento del consumo y de la producción industrial para sustentar las demandas de la población. Los sistemas fluviales son afectados particularmente en zonas cercanas a las ciudades ya que reciben todo tipo de contaminantes con diversos grados de toxicidad (Walsh et al. 2005). Las industrias textiles se encuentran entre las que aportan mayor cantidad de contaminantes a los sistemas fluviales. Entre los compuestos más utilizados por este tipo de industrias se destacan los colorantes, pigmentos, metales (i.e., cadmio y cromo), pesticidas, fosfatos, sodio, cloruros y sulfatos como así también materia orgánica (Rott and Minke 1999). La magnitud que alcanzan los contaminantes en los cursos de agua receptores dificulta su eliminación por procesos de autodepuración resultando fuertemente perjudicados (Wesenberg et al. 2003; Cortazar-Martínez et al. 2012). Además, numerosos contaminantes son retenidos en los sedimentos o en la biota (O'Neill et al. 1999).

La evaluación del estado de los ambientes acuáticos por medio de parámetros físico-químicos estandarizados demostró ser una herramienta eficaz para valorar su situación ambiental. Sin embargo, evaluar la calidad del agua no es suficiente para describir la salud ecosistémica, y, por lo tanto, se usan parámetros que detallan su estado biológico y el de su entorno (Bartell 2006; Domínguez et al. 2020). La limitación de los índices físico-químicos radica en que pueden variar de forma abrupta al modificarse el caudal por lluvias eventuales y estacionales. La calidad del agua puede mejorar o empeorar luego de lluvias o en inviernos fríos, y suele empeorar en época de caudal basal, en verano o con el ingreso de un efluente puntual (Thomaz et al. 2007; Vilches et al. 2011). El análisis integrado de diferentes bioindicadores y de parámetros físico-químicos de estos sistemas posibilita una visión amplia de los efectos de la contaminación (Equiua Zamora et al. 2014).

Las industrias textiles utilizan gran cantidad de agua y de compuestos recalcitrantes con elevada toxicidad ambiental para los procesos de tinción, lavado y acabado (Rott and Minke 1999; Chequer et al. 2013). Estos efluentes generalmente pasan por una planta de tratamiento que suele brindar un

procesamiento ineficiente o inadecuado; incluso, en algunos casos, se liberan de forma directa sin ningún tipo de tratamiento hacia cursos de agua cercanos (Wesenberg et al. 2003; Luchetti and Giorgi 2009).

Los ensambles de microorganismos acuáticos que se desarrollan adheridos a sustratos sumergidos se denominan genéricamente biofilm o perifiton, y son susceptibles a los ingresos de contaminantes en los sistemas fluviales (Gessner and Chauvet 2002). Estos ensambles contienen bacterias, hongos y algas. Los hongos anamórficos acuáticos u hongos ingoldianos constituyen un grupo filogenéticamente artificial y heterogéneo (Ingold 1975), y han sido utilizados como bioindicadores de calidad de agua (Fernández et al. 2017; Bai et al. 2018). Las algas explotan los mismos sustratos y se han usado en los últimos 40 años como especies indicadoras o para evaluar impactos a través de sus respuestas estructurales comunitarias (Schubert 1984).

Los hongos anamórficos acuáticos incluyen especies que se ubican en familias de los Phylum Ascomycota y Basidiomycota. Su función ecológica es fundamental en los sistemas acuáticos, ya que permiten la mineralización de compuestos recalcitrantes a través de la liberación de enzimas extracelulares, e incorporan nutrientes directamente desde la columna de agua hacia la materia orgánica en descomposición donde se desarrollan (Sabater et al. 2006). De esa forma, contribuyen al proceso de descomposición y permiten el flujo de la energía hacia los niveles superiores de las redes tróficas de los ríos (Bärlocher 2005). Asimismo, una proporción importante de estos hongos crece y esporula en condiciones físico-químicas y microbiológicas particulares, por lo general con tenores altos de oxígeno disuelto, aunque hay especies que prosperan a bajos niveles (Medeiros et al. 2008). También pueden crecer en un rango variable de turbulencia, según la especie (Ferreira and Graça 2006), mientras que otros toleran concentraciones elevadas de materia orgánica, de macronutrientes o de metales pesados, resultando buenos indicadores de calidad de agua (Bärlocher 2000; Pascoal and Cassio 2004; Gulis et al. 2006). Su distribución cosmopolita y susceptibilidad a determinados contaminantes ambientales permite realizar una valoración del estado de los cursos de agua mediante el análisis de distintos parámetros funcionales y de la dinámica de sus comunidades (Solé

et al. 2008; Medeiros et al. 2009; Tolkkinen et al. 2015). En la Argentina, el estudio de estos hongos se ha enfocado en trabajos taxonómicos y de distribución (Arambarri et al. 1987a; Arambarri et al. 1987b; Arambarri et al. 1987c; Cazau et al. 1990; Cabello et al. 1990; Cabello et al. 1993; Cazau 1994; Schoenlin-Crusius and Piccolo Grandi 2003; Kravetz et al. 2018; Tarda et al. 2019). Se los ha utilizado poco para evaluar la calidad del agua en sistemas lóticos, aunque hay menciones sobre su potencial indicador en los artículos citados previamente.

Por otro lado, las algas constituyen el componente autotrófico del biofilm y poseen óptimos y rangos de tolerancia especie-específicos frente a diferentes variables ambientales, por lo que resultan apropiadas como indicadoras de contaminación en diferentes ambientes (Whitton et al. 1991; Cochero et al. 2014). En ambientes pampeanos se ha construido un índice de diatomeas basado sobre todo en algas epipélicas (Gómez and Licursi 2001a), y también se analizaron las malformaciones producidas por los metales pesados (Licursi and Gómez 2013). En los últimos años se incorporaron en los análisis de la región medidas funcionales que también contribuyen a evaluar los cambios en las algas del biofilm. Algunos parámetros metabólicos, como la producción neta y la actividad de exoenzimas (e.g., fosfatasa alcalina), permiten evaluar efectos de contaminantes rurales (Vilches et al. 2013) o el impacto de nutrientes (Vilches et al. 2014). La técnica de fluorometría por pulsos de amplitud modulada (PAM) permite estudiar de modo no destructivo los cambios de biomasa, producción neta y eficiencia fotosintética en comunidades con predominio de autótrofos (Rodríguez Castro et al. 2015). Hasta el momento existen pocas investigaciones sobre la capacidad bioindicadora del biofilm, en particular con relación a la contaminación por efluentes textiles, y resulta necesario evaluar su eficiencia y potencialidad de uso en combinación con otros indicadores (Gómez and Licursi 2001b; Giorgi and Malacalza 2002; Cortelezzi et al. 2013).

En la actualidad existen diversos métodos de biomonitorio para cuantificar el impacto humano sobre los ecosistemas acuáticos. Sin embargo, se generan continuamente nuevas demandas de herramientas efectivas para evaluar la calidad del agua y diseñar medidas de gestión adecuadas para su conservación y restauración (Gómez et al. 2020).

El objetivo de este estudio fue comparar la respuesta de los hongos anamórficos acuáticos y de las algas del biofilm frente los cambios en la calidad del agua de un arroyo afectado por ingresos puntuales de efluentes de industrias textiles. Nuestras hipótesis fueron: a) el ingreso del efluente textil modifica las condiciones físicas y químicas del arroyo, y b) los ensambles de hongos y de algas del biofilm se ven afectados negativamente por el ingreso del efluente textil. En relación con la primera hipótesis se predice la disminución de las concentraciones de oxígeno disuelto e incremento de las concentraciones de nutrientes y de materia orgánica. En relación con la segunda, se predice un incremento de las actividades enzimáticas asociadas a la descomposición y una reducción de la riqueza de hongos anamórficos acuáticos. Asimismo, se espera observar una reducción de la biomasa y la eficiencia de captación de luz por parte del biofilm autotrófico. Por último, se plantea la comparación de los registros sobre el biofilm de hongos y de algas y del índice de calidad del agua basado en variables físicas y químicas con la finalidad de integrar el potencial indicador de las comunidades biológicas y la información de parámetros físico-químicos de calidad de agua.

MATERIALES Y MÉTODOS

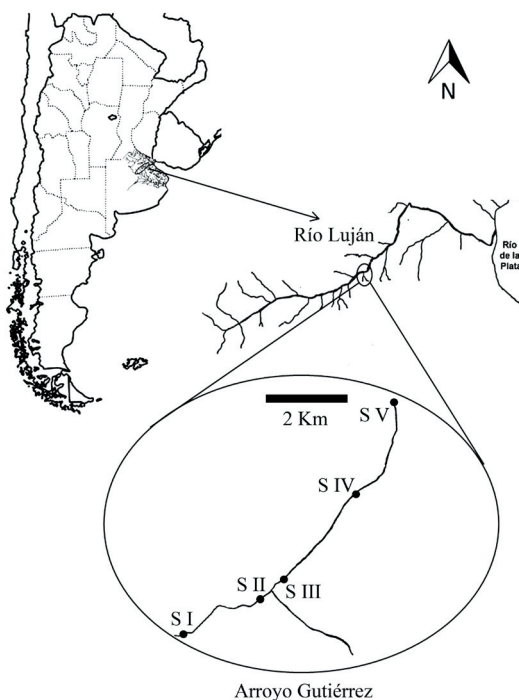
Para cumplir el objetivo se evaluó el efecto del ingreso de aguas residuales de una industria textil en el arroyo Gutiérrez, afluente del río Luján (Buenos Aires, Argentina), utilizando parámetros físicos y químicos de calidad del agua, el análisis de los ensambles de hongos anamórficos acuáticos y de la comunidad de algas del biofilm. Con este propósito se realizaron muestreos en diferentes sitios a lo largo del arroyo para determinar variables físicas, químicas y biológicas.

Sitios de estudio

Se tomaron muestras en 5 sitios situados en el arroyo Gutiérrez (Tabla 1). Este arroyo circula por los límites sur y oeste de la ciudad de Luján y desemboca en el río Luján (Figura 1). El arroyo discurre por una región de clima templado y húmedo, posee una longitud aproximada de 7 km y presenta una pendiente menor al 1%. A lo largo de su trayectoria atraviesa una urbanización, una zona rural, un área industrial, un barrio con servicios sanitarios deficientes y una reserva forestal municipal, para desembocar luego en el Río Luján (Figura 1).

Tabla 1. Características de los sitios de estudio en el arroyo Gutiérrez.**Table 1.** Characteristics of the study sites in Gutiérrez stream.

Sitios	Vegetación acuática	Lecho	Características ribereñas	Muestras analizadas
I (Control-500 m aguas arriba de un efluente industrial)	<i>Rorippa Nasturtium-aquaticum</i>	Tosca	Gramíneas y árboles implantados	Físicas y químicas Algas y hongos
II (Transición-50 m aguas arriba del efluente industrial posterior a pequeñas chacras con ganadería)	<i>Typha latifolia Egeria densa</i>	Tosca y sedimentos	Gramíneas y árboles implantados	Físicas y químicas Algas y hongos
III (Impactado-10 m aguas abajo del efluente industrial)	<i>Egeria densa</i>	Tosca y sedimentos	<i>Gleditsia triacanthos</i>	Físicas y químicas Algas y hongos
IV (Post-impacto-200 m aguas abajo del ingreso del efluente industrial)	<i>Egeria densa Typha latifolia</i>	Tosca y sedimentos	<i>Gleditsia triacanthos</i> gramíneas	Físicas y químicas Algas y hongos
V (Desembocadura-3000 m aguas abajo del efluente industrial)	Sin plantas acuáticas	Tosca y sedimentos	<i>Ligustrum</i> sp. <i>Gleditsia triacanthos</i>	Físicas y químicas Hongos

**Figura 1.** Mapa del arroyo Gutiérrez mostrando los sitios de estudio. Los efluentes industriales ingresan al arroyo entre los sitios II y III.**Figure 1.** Map of the Gutiérrez stream showing the study sites. Industrial waste water incorporated to the stream between sites II and III.

A pesar de sus dimensiones pequeñas, este arroyo recibe contaminantes en cada tramo de su recorrido. Sin embargo, el ingreso más importante se produce aproximadamente en la mitad de su trayectoria, donde ingresan efluentes líquidos de industrias textiles dedicadas a la manufactura y tinción de

telas (Luchetti and Giorgi 2009). El caudal de los efluentes industriales suele ser igual o mayor al del arroyo y por sus características produce modificaciones importantes en las comunidades biológicas (Giorgi and Malacalza 2002). En la Tabla 1 se caracterizan los sitios de colecta de muestras.

Parámetros físicos y químicos

Se midió la profundidad, el ancho medio y la velocidad del agua, y con estos parámetros se estimó el caudal (Gordon et al. 1992). En zonas centrales de cada uno de los tramos del arroyo se midió la temperatura, el pH, la conductividad, la concentración y el porcentaje de saturación de oxígeno disuelto con una sonda multiparamétrica HACH HQ 40 (HACH Company, Loveland, Colorado). Se colectaron muestras de agua por triplicado en botellas de polietileno para realizar los análisis de nutrientes. Las muestras se almacenaron a 4 °C y se transportaron al laboratorio, donde se filtraron por filtros de fibra de vidrio de 0.7 mm de tamaño de poro (Munktell® MF/F) en un lapso de cuatro horas después de tomada la muestra. Los análisis se realizaron de acuerdo con las técnicas y recomendaciones de APHA (2005). El fósforo reactivo soluble (PRS) se estimó usando el método del ácido ascórbico; el amonio, por el método del fenol-hipoclorito, mientras que la concentración de nitratos se estimó mediante una sonda Hach para determinar nitratos (ISENO3181). También se estimó la concentración de la materia orgánica particulada (MPO) e inorgánica particulada (MPI) por gravimetría a partir del material obtenido en la filtración mencionada antes.

El agua sin filtrar se utilizó para determinar cloruros mediante el método de Mohr y para determinar la demanda biológica de oxígeno (5 días) (DBO_5) y la demanda química de oxígeno (DQO). La DQO se estimó por el método fotométrico utilizando el kit SQ 118 Spectroquant® Merck. La DBO_5 se midió por diferencia entre la concentración del oxígeno disuelto al comienzo y al final de la incubación en muestras con distinto grado de dilución (APHA 2005).

Índice de calidad de agua (ICA)

Algunos de los datos físico-químicos (temperatura, oxígeno disuelto, saturación de oxígeno, cloruros, amonio y DBO_5) se utilizaron para calcular el índice de calidad del agua de Berón (1984), aplicado con anterioridad en la cuenca del Río Luján (Frida et al. 1996; Giorgi et al. 1999; Mastrángelo et al. 2022). El índice de calidad se calcula en base a la sumatoria de los valores de las variables mencionadas y fluctúa entre 1 y 10, siendo estos valores indicadores de menor y mayor calidad, respectivamente.

$$ICA = \frac{\sum_{i=1}^n q_i}{\sum_{i=1}^n w_i} \quad \text{Ecuación 1}$$

donde q_i corresponde a cada uno de los parámetros y w_i indica el peso de esos parámetros. Ambos se detallan en la Tabla 2.

Ensamblajes de hongos anamórficos acuáticos del biofilm

La riqueza de especies y las tasas de esporulación de hongos anamórficos acuáticos asociados a la descomposición de hojarasca se analizaron mediante la técnica de esporulación en medio líquido, la observación de los conidios y la ontogenia conidial (Graça et al. 2005). Para

ello, se usaron bolsas de descomposición con malla de 500 μm que permitieron solo el ingreso de microorganismos. Se les agregó 5 g de hojas de acacia negra (*Gleditsia triacanthos*), secas y sin fragmentar, colectadas inmediatamente luego de su senescencia. Se utilizó esta especie por ser una leñosa que está colonizando rápidamente las márgenes de los arroyos de la zona, incluido el arroyo Gutiérrez. Las bolsas de descomposición se colocaron sumergidas en cada tramo por triplicado y se retiraron luego de 20 días de colonización, período que presenta la mayor actividad de hongos anamórficos acuáticos (Graça and Canhoto 2006; Graça et al. 2015). En el laboratorio, se tomaron 6 folíolos por bolsa, se los lavó superficialmente para eliminar sedimentos y se los incubó durante 48 horas en 60 mL de agua esterilizada con agitación a 75 rpm. El agua de incubación con los conidios liberados por los hongos fue filtrada a través de membranas de acetato de celulosa de 5 μm de poro. Luego, las membranas se tiñeron con lactofenol y azul de algodón y se observaron en microscopio óptico (Zeiss Primo Star) a 400X para determinar las especies. La hojarasca remanente se incubó en cajas de Petri con agua estéril para confirmar las identificaciones mediante la observación de los conidióforos y la ontogenia conidial. Las especies se identificaron con las claves de Gulis et al. (2005) y Marvanová (2011). Cabe mencionar que la determinación de las especies mediante la observación de los conidios y la ontogenia conidial puede subestimar el número de especies presentes, dado que no todas esporulan en las mismas condiciones. Las especies identificadas se utilizaron para estimar la riqueza y el déficit o ausencia de especies del sitio previo a los ingresos de efluente textil y en los sitios posteriores, respectivamente. El conteo de

Tabla 2. Variables utilizadas para el cálculo del ICA (Berón 1984)

Table 2. Variables used to calculate the WQI (Berón 1984)

Temperatura (°C)	Peso	Cloruros (mg/L)	Peso	N-amoniaco (mg/L)	Peso	D.B.O. (mg/L)	Peso	Oxígeno disuelto (%sat)	Peso	mg/L	Peso
0-17.5	10	0-50	10	0-0.2	30	0-2	30	>90-105	10	>9	10
>17.5-19.5	9	>50-150	7	>0.2-0.5	24	>2-4	27	>80-90	8	>8-9	8
>19.5-21.5	7	>150-300	5	>0.5-1.0	18	>4-6	24	>105-120	8	>6-8	6
>21.5-23.0	5	>300-620	3	>1.0-2.0	12	>6-10	18	>60-80	6	>4-6	4
>23.0-25.0	3	>620	0	>2.0-5.0	6	>10-15	12	>120	6	>1-4	2
>25.0	1			>5.0-10.0	3	>15-25	6	>40-60	4	0-1	0
				>10.0	0	>25-50	3	>10-40	2		
						>50	0	0-10	0		

conidios se realizó mediante la observación de un mínimo de 30 campos o 100 conidios por cada membrana (Romaní et al. 2009).

Las tasas de esporulación (E) a los 20 días se calcularon mediante la ecuación:

$$E = (n \times A / a) / t \times PS \quad \text{Ecuación 2}$$

dónde n=número promedio de conidios por campo de microscopio; a=área de 1 campo de microscopio (unidad); A=área de la membrana con la que se filtró la suspensión de esporas (unidad); t=tiempo (días) y PS=peso seco de los folíolos (gramos).

Se analizó la actividad de las enzimas extracelulares fosfatasa alcalina, β -glucosidasa y celobiohidrolasa en la hojarasca en descomposición colocada en cada tramo. Para evaluar cada enzima se realizaron dos tipos de estimaciones: a) considerando el total de los microorganismos descomponedores, y b) eliminando el componente fúngico mediante la aplicación del fungicida pentacloronitrobenzeno (PCNB).

Se tomaron 12 folíolos de $\sim 0.5 \text{ cm}^2$ de superficie por cada réplica, y se lavaron superficialmente con agua estéril. Seis de los folíolos de cada muestra fueron incubados durante 48 horas en 60 mL de agua esterilizada, en oscuridad, con agitación a 75 rpm y a 20 °C. Los folíolos restantes fueron procesados de forma similar, pero incluyendo en el medio de incubación 50 ppm del fungicida PCNB. Este valor se obtuvo mediante un ensayo preliminar de inhibición de la actividad de las enzimas luego de 48 horas de incubación con el fungicida. Luego de la incubación, los folíolos se dispusieron de a uno en frío y oscuridad en recipientes de vidrio esterilizados conteniendo 2 mL de agua estéril. Las enzimas se determinaron usando un sustrato artificial de metilumbeliferona (MUF) que fluoresce al degradarse por la acción enzimática (Romaní et al. 2001) y midiendo la fluorescencia en un espectrofluorómetro Shimadzu DR-3. En cada recipiente que contuvo un folíolo de acacia negra (el que se retiró al finalizar la incubación) se agregaron 2 mL del sustrato artificial de cada enzima. Se realizó una incubación en oscuridad, con agitación a 50 rpm durante una hora a 17 °C, y luego se midió la emisión de fluorescencia en un rango de excitación/emisión de 350/450 nm. La fluorescencia del agua estéril (blanco) se descontó en la expresión final de los resultados. Finalmente, cada folíolo se secó en estufa a 60 °C para determinar su peso

seco. El cálculo de la actividad enzimática, determinada como la máxima velocidad de hidrólisis obtenida mediante la ecuación Lineweaver-Burk sobre la base de la ley de Michaelis-Menten (Romaní et al. 2001), se realizó con la siguiente fórmula:

$$AE = MUF / t \times PS \quad \text{Ecuación 3}$$

donde AE=actividad de cada enzima; MUF=peso de sustrato artificial degradado (ng); t=tiempo de incubación del sustrato artificial (horas) y PS=peso seco del sustrato (gramos).

Para obtener la concentración final de sustrato degradado se realizó de forma previa una curva de calibración para el MUF a distintas concentraciones, y se relacionó la fluorescencia observada en cada muestra con la concentración de cada sustrato.

Algas del biofilm

En cada sitio seleccionado se colocaron sustratos artificiales (tiras de acetato de 40 cm^2) para la colonización por parte del biofilm. Los sustratos se ataron y se sumergieron en el agua, quedando paralelos a la dirección de flujo, evitando que fueran cubiertos por sedimentos. La profundidad a la que se colocaron los sustratos varió entre 10 y 15 cm para asegurar la exposición a la luz y permitir el desarrollo de una comunidad autotrófica. Una vez finalizada la exposición, luego de 4 semanas de colonización, los sustratos se extrajeron del arroyo cuidando de evitar que se desprendieran del biofilm. Cada sustrato se ubicó en compartimentos separados conteniendo agua del sitio hasta el retorno al laboratorio. Un grupo de cada sitio (n=5) se utilizó para estimar por fluorescencia la clorofila-a y otros parámetros derivados utilizando un fluorímetro de amplitud modulada (FMS-1 de Hansatech) y siguiendo los procedimientos detallados en Corcoll et al. (2011). Se midió el mínimo rendimiento de fluorescencia (F_0) como una estimación de la clorofila-a, que se utiliza como medida de la biomasa algal. También se evaluó el rendimiento máximo (ΦM , que representa el rendimiento fotosintético máximo) y el rendimiento efectivo ($\Phi M'$, que representa la eficiencia fotosintética máxima (Genty et al. 1989).

Otro grupo de sustratos de cada sitio se sometió a ultrasonido para extraer el biofilm que luego se preservó con formol para

realizar la observación microscópica a 400X. Se estimaron las abundancias relativas de los organismos de las distintas divisiones de algas presentes en la muestra y la densidad de cianobacterias y de algas totales por observación y conteo en microscopio óptico (Zeiss Primo Star, Zeiss Co., Alemania). Los datos se registraron como individuos por unidad de área (algas/cm²) (Schubert 1984).

Análisis estadísticos

Se utilizó el programa InfoStat (Di Rienzo et al. 2008). Se estudió la diferencia entre variables aplicando ANOVA y comparaciones *a posteriori* por medio de la prueba de Holm-Sidak en datos que cumplieron los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Las comparaciones entre los parámetros que no pasaron las pruebas de normalidad o homocedasticidad se realizaron mediante la prueba de comparaciones múltiples no paramétrica de Kruskal-Wallis. En el caso de los hongos anamorfos, se calculó el déficit de especies de Kothé considerando aquellas especies que se encontraron en el sitio I y no en los siguientes (Schubert 1984). Los datos físico-químicos se analizaron mediante un análisis de componentes principales (ACP) para evaluar la relación entre las variables y los sitios de muestreo. Los promedios de los datos biológicos obtenidos del biofilm algal

y de los hongos anamórficos acuáticos se correlacionaron con las variables ambientales de mayor contribución en el índice de calidad del agua resultantes del ACP; para ello, se usó la prueba de correlación de Spearman.

RESULTADOS

Parámetros físicos y químicos

El caudal, la conductividad y la concentración de cloruros y de amonio aumentaron fuertemente a partir del sitio III, en coincidencia con el ingreso del efluente industrial. El pH fue alcalino en todos los sitios. La concentración de fosfatos y la DQO alcanzaron en el sitio II valores intermedios entre el I y el III. Las variables relacionadas con el oxígeno (OD, porcentaje de saturación) se vieron afectadas negativamente por el efluente industrial, mientras que el material particulado en suspensión (MPS) presentó una variabilidad elevada (Tabla 3).

El PCA realizado para estudiar la variabilidad de parámetros físico-químicos a lo largo del arroyo indicó con claridad la influencia del efluente industrial sobre la calidad del agua. El primer componente explicó 52.2% de la varianza, con predominio de variables indicadoras de contaminación (concentración de fosfatos y amonio y DQO)

Tabla 3. Características físico-químicas del arroyo Gutiérrez. Media y desvío estándar de cada variable entre paréntesis (MPS: material particulado en suspensión; MI: materia inorgánica; MO: materia orgánica; DBO: demanda biológica de oxígeno; DQO: demanda química de oxígeno. ICA: índice de calidad del agua).

Table 3. Physic-chemical characteristics of Gutiérrez stream. Mean value and standard deviation of the variables between brackets (MPS: suspended solids; MI: inorganic matter; MO: organic matter; DBO: biological oxygen demand; DQO: chemical oxygen demand; ICA: water quality index).

Variable	Sitio I	Sitio II	Sitio III	Sitio IV	Sitio V
MPS (mg/L)	4.86(0.25)	3.95(1.74)	3.20(0.191)	4.77 (0.43)	3.13(0.28)
MI (mg/L)	3.7(0.19)	3.15(0.13)	2.47(0.15)	3.35 (0.21)	1.96(0.17)
MO (mg/L)	1.2(0.06)	7.8(0.35)	7.21(0.04)	1.41 (0.32)	1.17(0.11)
Cloruros (mg/L)	17.99(1.00)	19.99(5.29)	158.95(20.87)	70.31 (3.21)	74.31(17.55)
Amonio (µg/l)	12.03(20.85)	0	725.91(949)	121.20 (9.03)	1604(1394)
Fosfato (mg/L P-PO ₄ ⁻)	0.124(0.03)	0.277(0.07)	0.529(0.02)	0.377 (0.06)	0.439(0.12)
Nitratos (mg/L N-NO ₃ ⁻)	75.2(1.63)	25.3(1.76)	27.0(0.22)	29.47 (0.90)	18.8(0.12)
Velocidad (cm/s)	53	32	26	13	56
Profundidad (cm)	11	23	35	12	26
Ancho (cm)	300	300	540	260	400
Caudal (L/s)	19	23	60	57	59
Oxígeno Disuelto (mg/L)	8.69	10.7	8.49	7.81	7.44
Conductividad (µS/cm)	1033	1069	1288	1503	1608
pH	8.59	8.78	8.19	8.75	8.97
Temperatura °C	14.2	14	12.9	12.5	10.8
Saturación de oxígeno (%)	94.5	108.9	80.3	73.1	66.9
DBO (mg O ₂ /L)	0.2(0.33)	1.37(0.19)	0.4(0.35)	0.16(0.07)	1.13(0.23)
DQO (mg/O ₂ /L)	0.75(0.3)	59(0.10)	117.57(40)	91.76(10.)	81.56(8.0)
ICA	9.8	9.8	7.7	8.3	7.1

en el lado positivo del eje. En el lado negativo del componente I aumenta la concentración de oxígeno, el material particulado inorgánico, los nitratos y la temperatura, lo que indica una situación de menor contaminación. Este primer componente marca un eje de la contaminación y discrimina los sitios I y II previos al efluente y menos contaminados, y los sitios III y V, con un nivel mayor de contaminación. El segundo componente explicó 19.9% de la varianza, lo cual implica a la materia orgánica y la demanda biológica de oxígeno, cuyo incremento puede deberse a factores como la abundancia de organismos microscópicos o de material vegetal en descomposición (Figura 2).

Ensamblajes de hongos anamórficos acuáticos del biofilm

En todos los tramos se observó la presencia de hongos anamórficos acuáticos en la hojarasca. *Aquanectria penicillioides* y *Flagellospora curvula* fueron las únicas especies presentes en todos los sitios. A excepción de *Camposporium pelucidum*, todos los hongos observados en los sitios estudiados estuvieron presentes en el sitio no impactado. Además, en cada sitio se observaron algunas especies que no se presentaron en los demás (Tabla 4).

La riqueza de hongos acuáticos fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en el tramo con menor grado de impacto (sitio I), mientras que disminuyó en aquellos con mayor impacto y en el sitio de transición. El sitio no impactado presentó gran variabilidad entre las réplicas; las tasas de esporulación fueron significativamente mayores en el sitio I que en los tramos siguientes ($P < 0.05$) (Tabla 4).

Actividades enzimáticas extracelulares

Al comparar el efecto del tratamiento fungicida y los controles, se observó una disminución significativa ($P < 0.05$) en las actividades enzimáticas extracelulares con y sin hongos, a excepción de las celobiohidrolasas, lo que indica la participación activa del ensamble de hongos en la descomposición de hojarasca. Sin embargo, no se registraron diferencias significativas entre los sitios para cada una de las enzimas. La actividad enzimática atribuible a los hongos alcanzó los valores máximos en el sitio I en el caso de la fosfatasa alcalina, que superó el 50%. En el caso de la actividad β -glucosidasa, se observó en el sitio IV y de la celobiohidrolasa en el sitio V. Sin embargo, en todos los tramos, los hongos contribuyeron con un porcentaje alto de la actividad medida (Figura 3).

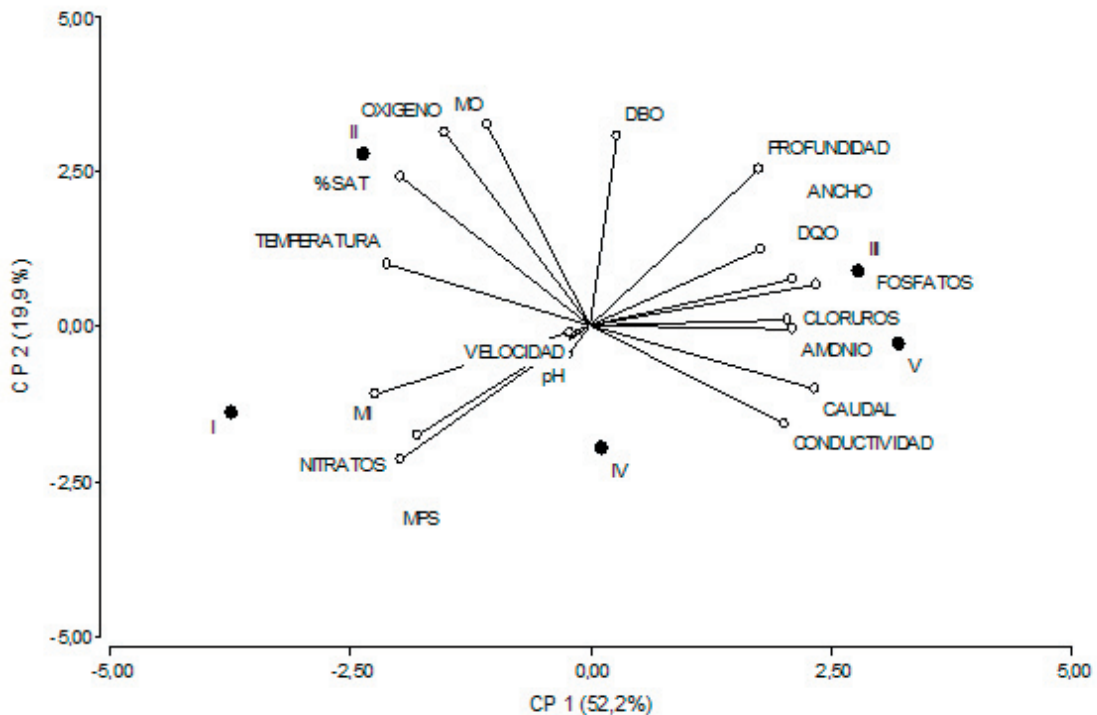


Figure 2. Análisis de componentes principales (gráfico de CP 1 vs. CP 2) incluyendo variables físico-químicas para estudiar la calidad del agua en diferentes sitios a lo largo del arroyo Gutiérrez.

Figure 2. Principal component analysis (CP 1 vs. CP 2 plot) including physic-chemical variables to study water quality from different sites (I to V) along Gutiérrez stream.

Tabla 4. Hongos anamórficos acuáticos asociados a la descomposición de hojas de acacia negra en cinco sitios del arroyo Gutiérrez. Se indican la riqueza, el número de conidios y el déficit de especies para cada sitio. X: sitios donde fueron registradas cada una de las especies. Para la riqueza y el número de conidios se indican valores medios, y entre paréntesis, el desvío estándar. *indica diferencias significativas ($P<0.05$) de ANOVA (prueba de comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis). Número de muestras por sitio=3.

Table 4. Anamorphic aquatic fungi associated to honey locust leaves decomposition at five sites of Gutiérrez stream. Species deficit, richness and conidia number at each site were indicated. X: indicates the species presence. The last two lines show mean richness and conidia number and their standard deviation between brackets. *indicates significant differences ($P<0.05$) of ANOVA (Kruskal-Wallis test). Number of samples per site=3.

Especies	Sitio I	Sitio II	Sitio III	Sitio IV	Sitio V
<i>Alatospora acuminata</i> Ingold	X				
<i>Amniculicola longissima</i> (Sacc. and Syd.) Nadeeshan and Hyde	X			X	
<i>Anguillospora crassa</i> Ingold	X				
<i>Anguillospora filiformis</i> Greathead	X	X			X
<i>Anguillospora pseudolingissima</i> Ranzoni	X		X		
<i>Aquanectria penicillioides</i> (Ingold) Lombard <i>et al</i>	X	X	X	X	X
<i>Camposporium pelucidum</i> (Groove) Hughes				X	X
<i>Camptobasidium hydrophilum</i> Marvanová y Suberkropp	X			X	
<i>Flagellospora curvula</i> Ingold	X	X	X	X	X
<i>Lunulospora curvula</i> Ingold	X				X
<i>Lunulospora cymbiformis</i> Miura	X				X
<i>Neotorula aquatica</i> Luo and Hyde			X	X	
<i>Sigmoidea aurantiaca</i> Descals				X	
<i>Sigmoidea prolifera</i> (Petersen) Crane	X		X	X	X
<i>Trichocladium angelicum</i> Roldán and Honrubia					X
<i>Vargamyces aquaticus</i> (Dudka) Tóth			X		
Déficit de especies	0	73	64	55	46
Riqueza	6(9)	2(0)	3(4)	3(2)	3(6)
Número de conidios	1447.57* (1000)	13.73 (10)	20.47 (10)	45.37 (20)	197.75 (400)

La disminución en la variabilidad asociada a algunos parámetros biológicos en el sitio más impactado (e.g., la riqueza de especies de hongos acuáticos, las tasas de esporulación y la actividad celobiohidrolasa) indica que el efluente textil produce una disminución en la heterogeneidad ambiental que afecta de manera significativa a los ensambles de hongos acuáticos y su multiplicación en el arroyo.

Algas del biofilm

La fluorescencia mínima (F_0), la capacidad fotosintética máxima (ϕM) y la eficiencia fotosintética ($\phi M'$) fueron significativamente más bajas en el sitio impactado (III) con respecto a los tramos anteriores (Figura 4). La densidad de algas disminuyó de 70000 a 15000 organismos desde el sitio de transición situado antes del ingreso del efluente industrial. En las estaciones siguientes, los valores de densidad se mantuvieron bajos. Aunque en todos los sitios predominaron las diatomeas, se halló

una mayor proporción previo al ingreso del efluente textil (Figura 5).

Asociación entre las variables biológicas e el ICA

Se realizó un análisis de correlación entre los promedios de las variables biológicas utilizadas junto a las variables químicas de mayor peso en el análisis de componentes principales, y el ICA. Las variables que resultaron significativas y que correlacionaron significativamente fueron la F_0 estimada por fluorometría y la clorofila-a del biofilm. Las concentraciones de amonio y los fosfatos correlacionaron positivamente con el ICA ($P=0.001$ y $P<0.05$, respectivamente) (Tabla 5).

DISCUSIÓN

La variación de los parámetros medidos en el arroyo Gutiérrez evidencia los cambios drásticos que produce el ingreso del efluente textil con un alto nivel de contaminantes y

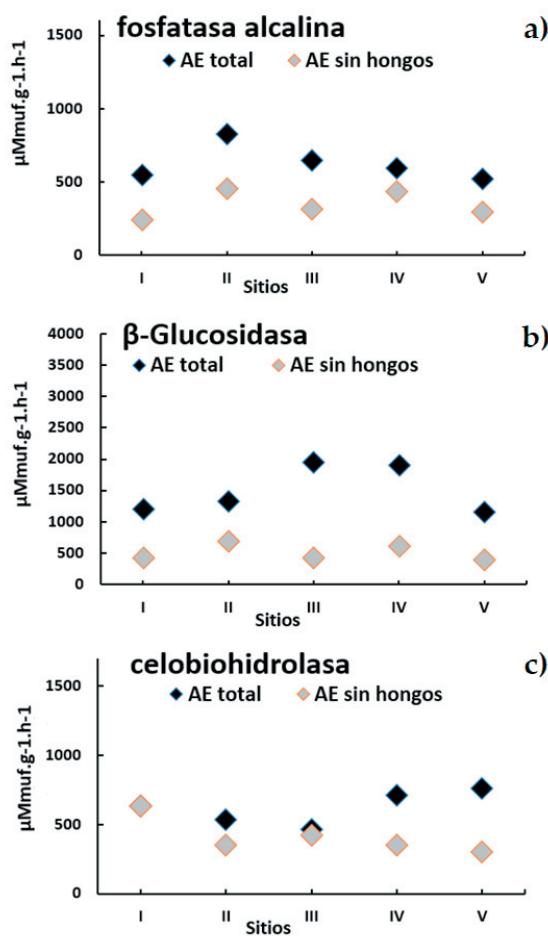


Figura 3. Actividades enzimáticas extracelulares de los microorganismos descomponedores de hojas de acacia negra en el arroyo Gutiérrez (sitios I a V). a) fosfatasa alcalina; b) β -glucosidasa; c) celobiohidrolasa. Rombos negros: actividad enzimática total (AE total). Rombos grises: actividad enzimática sin hongos (AE sin hongos). Se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis. N por sitio = 12.

Figure 3. Extracellular enzymatic activities of decomposing microorganisms of black locust leaves in the Gutiérrez stream (sites I to V). a) alkaline phosphatase; b) β -glucosidase; c) cellobiohydrolase. Black diamonds: total activity. Grey diamonds: activity without fungi. Kruskal-Wallis test was applied. N per site = 12.

un caudal que suele triplicar el nivel de base del arroyo. El incremento de los cloruros y de la conductividad indica el ingreso de una cantidad excesiva de sales o de compuestos fácilmente ionizables. Del mismo modo, tanto el fósforo reactivo soluble como el amonio y la DQO presentaron valores muy superiores luego del ingreso del efluente respecto al tramo previo, lo cual indica que el efluente aporta grandes cantidades de nutrientes inorgánicos. Los incrementos de las concentraciones de

Tabla 5. Coeficientes de correlación de Spearman entre las variables biológicas y el índice de calidad del agua (ICA). N=5. P<0.01: altamente significativo; P<0.05: significativo; P<0.1: marginalmente significativo.

Table 5. Spearman correlation coefficients among biological variables and the water quality index (WQI). N=5. P<0.01; highly significant; P<0.05: significant; P<0.1: marginally significant.

Variables	Coef. de correlación	Valor de P
Riqueza de hongos anamórficos	0.00	n.s.
Esporulación	0.10	n.s.
Act. glucosidasa	0.11	n.s.
Act. fosfatasa	0.55	n.s.
Act. celobiosa	-0.36	n.s.
Densidad algas	-0.11	n.s.
Abundancia cianobacterias	0.32	n.s.
Fo	1.0	<0.01
Eficiencia fotosintética	0.83	n.s.
Clorofila-a	0.55	<0.05
Número de conidios	0.67	n.s.
Déficit de especies de hongos	0.10	n.s.
Material particulado inorgánico	0.82	<0.1
Amonio	-0.97	0.001
Fosfatos	-0.87	<0.05

nutrientes coincidieron con lo esperado dado el tipo de efluente. Sin embargo, el oxígeno disuelto no presentó una reducción drástica; es probable que esto se deba al aumento del caudal por el ingreso del efluente, que contribuiría a generar un flujo turbulento y, por lo tanto, un mayor intercambio de oxígeno con la atmósfera.

El índice de calidad del agua da cuenta de un estado relativamente bueno del arroyo. No obstante, el sitio III, donde ingresa el efluente industrial, presentó los valores más bajos de calidad. Este índice también evidenció falta de recuperación del estado ecológico del arroyo al final del recorrido. El incremento observado en los valores de DQO en el sitio III señala que el efluente aporta sustancias muy recalcitrantes a la degradación biológica que provendrían de la industria textil (e.g., las anilinas), y también concentraciones elevadas de fosfatos y amonio (Branco 1984).

La riqueza de especies de hongos anamórficos acuáticos y las tasas de esporulación fueron muy sensibles a este tipo de perturbación tomando valores significativamente mayores en el sitio I que en los sitios impactados. Si bien esto coincide con nuestra predicción, también observamos una disminución en la zona de transición (sitio II), previo al ingreso del efluente, que se debería a un efecto de contaminación por reflujos del efluente. También es posible que hayan ingresado otros contaminantes en forma difusa desde

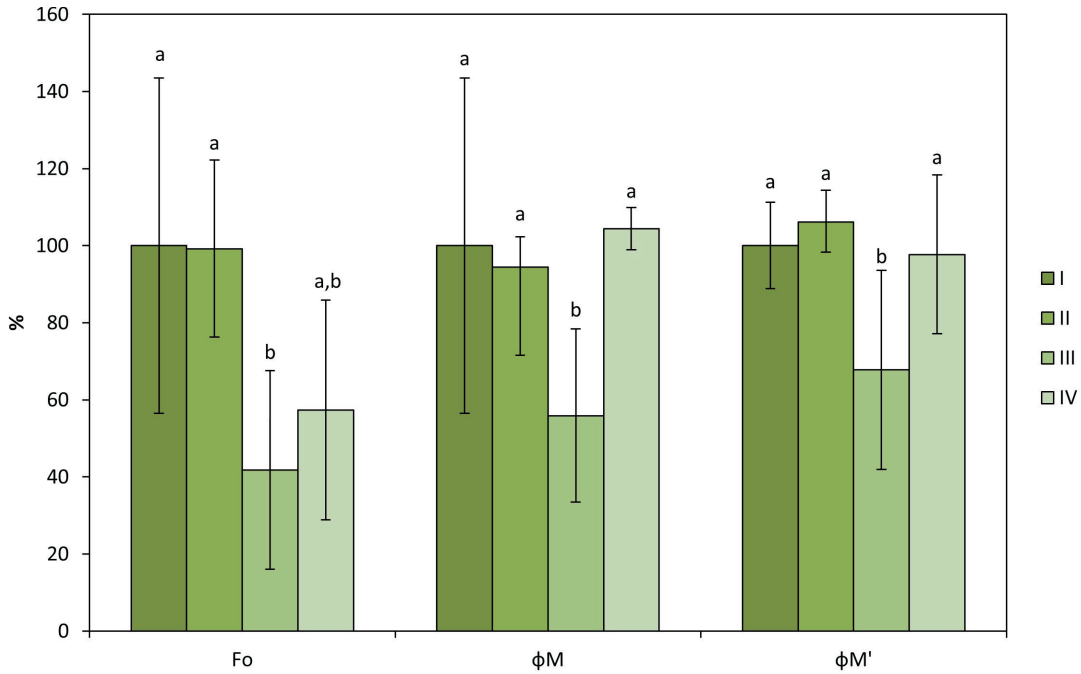


Figura 4. Valores medios y desvíos estándar de fluorescencia mínima (Fo), capacidad fotosintética máxima (ϕM) y eficiencia fotosintética ($\phi M'$) para los sitios I a IV del arroyo Gutiérrez (N por sitio = 5). Los datos de cada parámetro están expresados como porcentaje del parámetro en el sitio I. Las letras indican diferencias significativas detectadas mediante la prueba *a posteriori* de Holm-Sidak.

Figure 4. Mean values and standard deviation of the minimum fluorescence (Fo), maximum photosynthetic capacity (ϕM) and photosynthetic efficiency ($\phi M'$) to sites I and IV of Gutiérrez stream (N per site = 5). Data of each parameter are expressed as percent of the parameter at site I. Letters indicate significant differences detected through the Holm-Sidak *post-hoc* test.

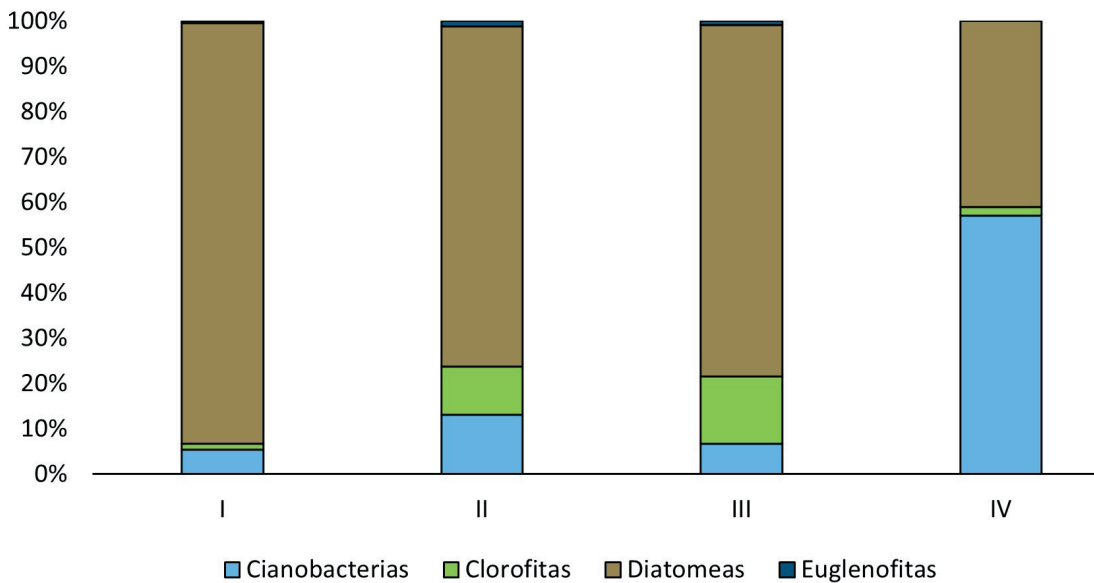


Figura 5. Grupos principales de algas presentes en el biofilm de los distintos sitios del arroyo Gutiérrez.

Figure 5. Principal groups of algae present in the biofilm of different sites of the Gutiérrez stream.

emprendimientos agropecuarios, que afectaron a los organismos. Los hongos anamórficos acuáticos serían sensibles a estos ingresos, manifestando una reducción del número de especies o su tasa de esporulación y producción de conidios. En este caso, fue más importante como indicador el déficit en la composición específica del ensamble respecto al sitio I y la recuperación observada en los sitios IV y V.

Las especies *L. curvula*, *L. cymbiformis*, *C. subtilis* y *A. longissima*, presentes en el primer sitio, solo se observaron aguas abajo en los sitios IV y V, que fueron susceptibles a los cambios producidos por el impacto pero que presentaron algún grado de recuperación. Sin embargo, otras como *F. curvula* y *A. penicillioides* fueron tolerantes y estuvieron presentes en todos los tramos. De acuerdo con Lecerf y Chauvet (2008), *A. penicillioides* es tolerante en ambientes con diferentes grado de contaminación. Sin embargo, las especies tolerantes produjeron conidios a una tasa muy baja, excepto en el sitio V, donde se observó una recuperación parcial. Las especies más susceptibles, como algunas de las presentes en el sitio I, desaparecen rápidamente de los ambientes muy contaminados (Solé et al. 2008). En particular, *Alatospora acuminata* es considerada tolerante a la perturbación por bacterias coliformes, que podrían ingresar por contaminación difusa originada por los animales de cría, y asociada a altas concentraciones de nitratos y conductividad (Fernandez et al. 2017; Fernandez and Smits 2020). Esta especie indicaría una contaminación difusa previa, como ya se mencionó. Por otro lado, *F. curvula* es considerada tolerante a cargas de sólidos en suspensión, turbidez, contaminantes orgánicos, metales pesados y nitratos (Bärlocher et al. 2010; Lecerf and Chauvet 2008). Esta especie se mantuvo en todos los sitios. Harrington (1997) y Fernández y Smits (2020) consideran a ambas especies como tolerantes a diversos factores de estrés, presentando una alta frecuencia en la producción de esporas en ambientes con baja calidad del agua. Los hongos anamórficos acuáticos son considerados bioindicadores de calidad y pureza del agua en ecosistemas lóticos (Pascoal and Cassio 2004; Tarda et al. 2019). De acuerdo con esto, la diversidad de especies halladas en el sitio I evidenciaría una buena calidad ambiental.

Las actividades enzimáticas extracelulares fueron aportadas tanto por los hongos como

por algas y bacterias, y presentaron diferencias según la enzima analizada. Predecimos un incremento en las actividades enzimáticas por efecto del ingreso del efluente. En general, se espera que la fosfatasa alcalina aumente cuando hay pocos nutrientes en solución; la β -glucosidasa, cuando hay pocos azúcares simples, y la celobiohidrolasa, cuando hay poca celulosa en descomposición (Vilches et al. 2014). Esto no sucedió con la fosfatasa alcalina y la β -glucosidasa, que se vieron poco impactadas, probablemente porque los niveles de nutrientes y azúcares no limitaron el funcionamiento de las comunidades de organismos. Por otro lado, la actividad celobiohidrolasa se diferenció entre los sitios, aunque las diferencias no resultaron significativas. El incremento en la actividad de esta enzima asociada a los hongos aguas abajo del sitio IV se relacionaría con la mayor vegetación arbórea en las riberas y la consecuente disponibilidad de material vegetal (sustrato) para el desarrollo de los microorganismos, junto con un incremento en la producción de enzimas para degradar sustratos más complejos (Graça and Canhoto 2006).

Por otro lado, con respecto a la componente autotrófica en el biofilm, en el sitio más contaminado se observó una disminución de las diatomeas y un incremento de las cianobacterias. Este patrón fue descrito con anterioridad en un estudio realizado en el mismo arroyo luego del ingreso de contaminantes (Giorgi and Malacalza 2002). El predominio de cianobacterias puede deberse a la máxima tolerancia a los contaminantes de las especies de este grupo, así como al escaso ingreso de luz debido a los colorantes en el agua y al exceso de fósforo (que estos organismos pueden aprovechar más rápidamente) (Darley 1987). El crecimiento de las algas y su producción también pueden estar afectados por la presencia de los colorantes que transporta el efluente, ya que los sitios aguas abajo del ingreso presentaron menor desarrollo del biofilm algal. El efecto negativo de los colorantes fue mencionado en un estudio previo en el que se evaluaron métodos biológicos para decolorar efluentes textiles (Kravetz et al. 2016).

Por lo tanto, tal como esperábamos, el efluente redujo la biomasa del biofilm, aunque no su eficiencia fotosintética. La disminución de la capacidad fotosintética máxima en el sitio III indicaría daños en los fotosistemas,

lo cual se refleja en el menor crecimiento algal en comparación con los otros sitios. Con respecto a la eficiencia fotosintética ($\Phi M'$), la respuesta funcional de las algas en el sitio III fue escasa, lo que indica que las algas no fotosintetizaron de manera eficiente. Sin embargo, la respuesta se incrementa en el sitio IV, lo que indicaría una recuperación. Otros estudios en la región mostraron que la presencia crónica de metales pesados (e.g., cromo) puede no afectar la biomasa de las algas, aunque sí la composición específica de la comunidad o la morfología de los organismos (Licursi and Gómez 2013). Por otro lado, en experimentos controlados se detectó una disminución en la biomasa de biofilm y en la densidad de diatomeas ante la exposición al cadmio (Morin et al. 2008). La presencia de estos metales es frecuente en efluentes textiles, lo que también afectaría negativamente a la biomasa del biofilm algal.

A partir de lo analizado se puede concluir que el efluente industrial produce un impacto muy grande en el arroyo Gutiérrez, que se manifiesta en la disminución de la calidad del agua y afecta a los ensambles de hongos anamórficos acuáticos y al biofilm algal, aunque esta disminución de la calidad no se manifieste en el ICA. Los bioindicadores utilizados muestran una recuperación

incipiente de la calidad del agua en los sitios posteriores al ingreso del efluente industrial.

Las comunidades biológicas sésiles tienen capacidad de seguir los cambios en el arroyo (Gómez et al. 2009) —cambios que el análisis de variables físicas y químicas de la masa de agua no siempre indica—, por lo cual complementan la información. De los bioindicadores utilizados, la presencia y ausencia de especies de hongos anamórficos acuáticos tienen una alta capacidad explicativa. Sin embargo, en este estudio, las algas se analizaron a partir de otras variables que presentan distinta capacidad de respuesta y son más rápidas para estimar, como la biomasa (tanto como clorofila-a o como fluorescencia mínima), ya que ambas medidas responden claramente a la calidad del agua del arroyo y son afectadas por el ingreso del efluente industrial.

AGRADECIMIENTOS. El estudio fue apoyado por el PICT 1017/2014 (ANPCYT). Agradecemos la colaboración en la toma de muestras de Melina Eiroa, Fátima Lieutier, Mauricio Piccinini y Eduardo Zunino. Agradecemos también los aportes de dos revisores anónimos y de la editora asociada, cuyas observaciones y sugerencias mejoraron sustancialmente la versión inicial del manuscrito.

REFERENCIAS

- APHA. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA, Washington, DC, USA.
- Arambarri, A. M., M. N. Cabello, and A. Mengascini. 1987a. New Hyphomycetes from Santiago river (Bs. As. Province, Argentina). *Mycotaxon* 29:29-35.
- Arambarri, A. M., M. N. Cabello, and A. Mengascini. 1987b. Estudio sistemático de los Hyphomycetes del Río Santiago I. *Darwiniana* 2:293-301.
- Arambarri, A. M., M. N. Cabello, and A. Mengascini. 1987c. New Hyphomycetes from Santiago river II. *Mycotaxon* 30:263-267.
- Bai, Y., Q. Wang, K. Liao, Z. Jian, C. Zhao, and J. Qu. 2018. Fungal Community as a Bioindicator to Reflect Anthropogenic Activities in a River Ecosystem. *Front Microbiol* 9:3152. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03152>.
- Bärlocher, F. 2005. Leaf Mass Loss Estimated by Litter Bag Technique. Pp. 37-42 *en* M. A. Graça, F. Bärlocher and M. O. Gessner (eds.). *Methods to Study Litter Decomposition*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/1-4020-3466-0_6.
- Bärlocher, F. 2000. Water-borne conidia of aquatic hyphomycetes: seasonal and yearly patterns in Catamaran Brook, New Brunswick, Canada. *Can J Bot* 78:157-167. <https://doi.org/10.1139/b99-172>.
- Bärlocher, F., J. Helson, and D. Williams. 2010. Aquatic hyphomycete communities across a land-use gradient of Panamanian streams. *Fundam Appl Limnol* 177(3):209-221. <https://doi.org/10.1127/1863-9135/2010/0177-0209>.
- Bartell, S. M. 2006. Biomarkers, Bioindicators, and Ecological Risk Assessment - A Brief Review and Evaluation. *Environ Bioindic* 1:60-73. <https://doi.org/10.1080/15555270591004920>.
- Berón, L. 1984. Evaluación de la calidad de las aguas. Secretaría de Vivienda y Ordenamiento Ambiental Ministerio de Salud y Acción Social 1-51. Buenos Aires. Argentina.
- Branco, S. M. 1984. Limnología Sanitaria, Estudio de la Polución de Aguas Continentales. Monografía N° 28. OEA.
- Cabello, M. N., M. C. Cazau, and A. M. Arambarri. 1990. New Hyphomycetes from Santiago river III (Buenos Aires province, Argentina). *Mycotaxon* 38:15-19.
- Cabello, M. N., M. C. Cazau, and A. M. Arambarri. 1993. Estudio sistemático de los Hyphomycetes del río Santiago VI. Buenos Aires, Argentina. *Bol Soc Arg Bot* 29:11-14.

- Cazau, M. C., A. M. Arambarri, and M. N. Cabello. 1990. New Hyphomycetes from Santiago river IV (Buenos Aires Province, Argentina). *Mycotaxon* 38:21-25.
- Cazau, M. C. 1994. Estudio ecológico de Hyphomycetes de Río Santiago. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo Tesis n°: 0629 Área: Ecología.
- Chequer, F., G. Olivera, E. Ferraz, J. Cardoso, M. Zaroni, and D. Olivera. 2013. Textile dyes: dyeing process and environmental impact. Pp. 151-176 *en* M. Günay (ed.). Ecofriendly textile dyeing and finishing. InTech, Rijeka, Croacia. <https://doi.org/10.5772/53659>.
- Cochoero, J., M. Licursi, and N. Gómez. 2014. Changes in the epipelic diatom assemblage in nutrient rich streams to the variations of simultaneous stressors. *Limnologia* 51:15-23. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2014.10.004>.
- Cortázar Martínez, A., C. González Ramírez, C. Coronel Olivares, J. Escalante Lozada, J. Castro Rosas, and J. Villagómez Ibarra. 2012. Biotecnología aplicada a la degradación de colorantes de la industria textil. *Universidad y Ciencia Trópico Húmedo* 28:187-199.
- Corcoll, N., B. M. Bonet, M. Leira, and H. Guasch. 2011. Chl-a fluorescence parameters as biomarkers of metal toxicity in fluvial biofilms: an experimental study. *Hydrobiologia*. 673(1):119-136. <https://doi.org/10.1007/s10750-011-0763-8>.
- Cortezzi, A., M. V. Sierra, N. Gómez, C. Marinelli, and A. Rodrigues Capítulo. 2013. Macrophyte s, Epipelic Biofilm, and Invertebrates as Biotic Indicators of Physical Habitat Degradation of Lowland Streams (Argentina). *Environ Monit Assess* 185:5801-5815. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2985-2>.
- Darley, W. M. 1987. *Biología de las Algas. Enfoque fisiológico*. Limusa. México D.F.
- Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. González, M. Tablada, and C. W. Robledo. 2008. InfoStat, versión 2020, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Domínguez, E., A. Giorgi, and N. Gómez (comps.). 2020. La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de Argentina. Bases para el análisis de la Integridad Ecológica EUDEBA. Pp. 272.
- Equihua Zamora, M. N., O. García-Alaniz, G. Pérez Maqueo, M. Benítez, M. Kolb, et al. 2014. Integridad ecológica como indicador de la calidad ambiental. Pp. 687-710 *en* Bioindicadores: guardianes de nuestro futuro ambiental, El Colegio de la Frontera Sur, Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático.
- Fernández, R., S. Vincenzo, and G. Smits. 2017. Evaluación de los hifomicetos acuáticos como bioindicadores de calidad ambiental en el río Chirgua (Bejuma, Venezuela). *Gestión y Ambiente* 20(1):82-94. <https://doi.org/10.15446/ga.v20n1.62241>.
- Fernández, R., and G. Smits. 2020. Hifomicetos acuáticos como bioindicadores de calidad ambiental en el río Vigirima (Guacara, Carabobo-Venezuela). *Gestión y Ambiente* 23(2):165-181. <https://doi.org/10.15446/ga.v23n2.95686>.
- Ferreira, V., and M. A. S. Graça. 2006. Do invertebrate activity and current velocity affect fungal assemblage structure in leaves? *Internat Rev Hydrobiol* 91:1-14. <https://doi.org/10.1002/iroh.200510833>.
- Frida, I., G. Reboredo, S. Mulvany, and A. Pascual. 1996. El cauce inferior del Río Luján. Calidad de sus aguas y dinámica fluvial. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de la Plata. La Plata. Buenos Aires, Argentina. Pp. 1-13.
- Genty, B., J. M. Briantais, and N. R. Baker. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 990(1): 87-92. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9).
- Gessner, M. O., and E. Chauvet. 2002. A case for using litter breakdown to assess functional stream integrity. *Ecol Appl* 12:498-510. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2002\)012\[0498:ACFULB\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2002)012[0498:ACFULB]2.0.CO;2).
- Giorgi, A., M. Banhero, S. Rivelli, O. Clarenso, and W. Cuevas. 1999. Algunas variables indicativas de la calidad del agua del tramo medio del río Luján. *Actas VII Jornadas Pampeanas de Ciencias Naturales*. Pp. 155-162.
- Giorgi, A., and L. Malacalza. 2002. Effect of an industrial discharge on water quality and periphyton structure in pampean stream. *Environ Monit Assess* 75:107-119. <https://doi.org/10.1023/A:1014474128740>.
- Gómez, N., and M. Licursi. 2001a. The Pampean Diatom Index (IDP) for assessment of rivers and streams in Argentina. *Aquat Ecol* 35:173-181.
- Gómez, N., and M. Licursi. 2001b. Abnormal forms in *Pinnularia gibba* (Bacillariophyceae) in a polluted lowland stream from Argentina. *Nova Hedwigia* 77(3):389-398. <https://doi.org/10.1127/0029-5035/2003/0077-0389>.
- Gómez, N., M. V. Sierra, J. Cochoero, M. Licursi, and D. E. Bauer. 2009. Epipelic biofilms as indicators of environmental changes in lowland fluvial systems. *En Biofilms: Formation, Development and Properties*. Hauppauge New York: Nova Science.
- Gómez, N., E. Domínguez, A. Rodrigues Capítulo, and H. Fernández. 2020. Los indicadores biológicos. Pp. 57-71 *en* E. Domínguez, A. Giorgi and N. Gómez (comps.) La bioindicación em el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de la Argentina: bases para el análisis de la integridad ecológica.
- Gordon, N. D., T. A. Mc Mahon, and B. L. Finlayson. 1992. *Stream hydrology*. J. Wiley and Sons, Toronto.
- Graça, M. A. S., F. Bärlocher, and M. O. Gessner (eds.). 2005. *Methods to study litter decomposition: A practical guide*. Springer. Pp. 329.
- Graça, M. A. S., and C. Canhoto. 2006. Leaf litter processing in low order streams. *Limnética* 25:1-10. <https://doi.org/10.23818/limn.25.01>.
- Graça, M. A. S., V. Ferreira, C. Canhoto, A. C. Encalada, F. Guerrero-Bolaño, K. Wantzen, and L. Boyero. 2015. A conceptual model of litter breakdown in low order streams. *Int Rev Hydrobiol* 100:1-2. <https://doi.org/10.1002/iroh.201401757>.
- Gulis, V., L. Marvanová, and E. Descals. 2005. An illustrated key to the common temperate species of aquatic

- hyphomycetes. Pp. 153-167 *en* M. A. S. Graça, F. Bärlocher and M. O. Gessner (eds.). *Methods to study litter decomposition: A practical guide*. Springer, The Netherlands. https://doi.org/10.1007/1-4020-3466-0_21.
- Gulis, V., V. Ferreira, and M. A. S. Graça. 2006. Stimulation of leaf litter decomposition and associated fungi and invertebrates by moderate eutrophication: implications for stream assessment. *Freshw Biol* 51:1655-1669. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2006.01615.x>.
- Harrington, T. 1997. Aquatic Hyphomycetes of 21 Rivers in Southern Ireland. *Biology and Environment: Proc R Irish Acad* 97(2):139-148.
- Ingold, C. 1975. Hooker Lecture 1974: Convergent evolution in aquatic fungi: the tetradiate spore. *Biol J Linn Soc* 7(1):1-25. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1975.tb00731.x>.
- Kravetz, S., A. Giorgi, and B. González. 2016. Evaluación de una matriz para decolorar efluentes textiles utilizando *Pleurotus ostreatus*. *Gestión y Ambiente* 19(2):252-263.
- Kravetz, S., B. González, A. Marano, and A. Giorgi. 2018. The genus *Tetracladium* in Pampean streams (Buenos Aires, Argentina). *Phytotaxa* 338(3):276-284. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.338.3.5>.
- Lecerf, A., and E. Chauvet. 2008. Diversity and functions of leaf-associated fungi in human-altered streams. *Freshw Biol* 53(8):1658-1672. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2008.01986.x>.
- Licursi, M., and N. Gómez. 2013. Short-term toxicity of hexavalent-chromium to epipsammic diatoms of a microtidal estuary (Río de la Plata): Responses from the individual cell to the community structure. *Aquat Toxicol* 134-135:82-91. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.03.007>.
- Luchetti, M. C., and A. Giorgi. 2009. ¿Cómo considerar las propiedades ecológicas de los sistemas acuáticos superficiales en la gestión ambiental pública? El caso del partido de Luján, Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Ingeniería Sanitaria y Ambiental* 103:75-78.
- Marvanová, L. 2011. Aquatic hyphomycete genera. *En* K. Seifert, G. Morgan-Jones, W. Gams and B. Kendrick (eds.). *The Genera of Hyphomycetes*. CBS_KNAW, Netherlands. Pp. 997.
- Mastrángelo, M. M., M. E. Valdés, B. Eissa, N. A. Ossana, D. Barceló, et al. 2022. Occurrence and accumulation of pharmaceutical products in water and biota of urban lowland rivers. *Sci Total Environ* 828:154303. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154303>.
- Medeiros, A. O., P. Rocha, C. A. Rosa, and M. Graça. 2008. Litter breakdown in a stream affected by drainage from a gold mine. *Fundament Appl Limnol* 171:59-70. <https://doi.org/10.1127/1863-9135/2008/0172-0059>.
- Medeiros, A. O., C. Pascoal, and M. Graça. 2009. Diversity and activity of aquatic fungi under low oxygen conditions. *Freshw Biol* 54:142-149. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2008.02101.x>.
- Morin, S., T. T. Duong, and O. Herlory. 2008. Cadmium Toxicity and Bioaccumulation in Freshwater Biofilms. *Arch Environ Contam Toxicol* 54:173-186. <https://doi.org/10.1007/s00244-007-9022-4>.
- O'Neill, C., F. R. Hawkes, D. L. Hawkes, N. D. Lourenco, H. M. Pinheiro, and W. Delee. 1999. Colour in textile effluents - sources measurement, discharge consents and simulations: A review. *J Chem Technol Biotechnol* 74:1009-1018. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4660\(199911\)74:11<1009::AID-JCTB153>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4660(199911)74:11<1009::AID-JCTB153>3.0.CO;2-N).
- Pascoal, C., and F. Cassio. 2004. Contribution of fungi and bacteria to leaf decomposition in a polluted river. *Appl Environ Microbiol* 70:5266-5273. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.9.5266-5273.2004>.
- Rodríguez Castro, M. C., G. Urrea, and H. Guasch. 2015. Influence of the interaction between phosphate and arsenate on periphyton's growth and its nutrient uptake capacity. *Sci Total Environ* 503-504:122-132. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.094>.
- Romaní, A. M. 2001. Biofilms fluvials. *Metabolisme heterotrofic I autotrofic en rius mediterranis (Arxius de les seccions de ciències: 129)*. Biología. Premi Institut de Estudis Catalans d' Ecologia. Pp. 254.
- Romaní, M. A., J. Artigas, A. Camacho, M. A. Graça, and C. Pascoal. 2009. La biota de los ríos: los microorganismos heterotróficos. Pp. 206-210 *en* A. Elosegi and S. Sabater (eds.). *Conceptos y técnicas en ecología fluvial*. Bilbao: Rubes editores.
- Rott, U., and R. Minke. 1999. Overview of wastewater treatment and recycling in the textile processing industry. *Water Sci Technol* 40:137-144. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(99\)00381-9](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(99)00381-9).
- Sabater, S., H. Guasch, I. Muñoz, and A. Romaní. 2006. Hydrology, light and the use of organic and inorganic materials as structuring factors of biological communities in Mediterranean streams. *Limnetica* 25(1-2):335-348. <https://doi.org/10.23818/limn.25.23>.
- Schoenlein-Crusius, I. H., and R. A. Piccolo Grandi. 2003. The diversity of aquatic Hyphomycetes in South America. *Braz J Microbiol* 34:183-193.
- Shubert, L. E. (ed.). 1984. *Algae as ecological indicators*. Academic Press, Inc. London.
- Solé, M., I. Fetzer, R. Wennrich, K. Sridhar, H. Harms, and G. Krauss. 2008. Aquatic hyphomycete communities as potential bioindicators for assessing antropogenic stress. *Sci Total Environ* 389:557-565. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.09.010>.
- Tarda, S., M. Saparrat, and N. Gómez. 2019. Assamblage of dematiaceous and Ingoldian fungi associated with leaf litter decomposing *Typha latifolia* L. (Typhaceae) in reiverine wetlands of the pampean plain (Argentina) exposed to different water quality. *J Environ Manage* 250:109409. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109409>.
- Tolkkinen, M., H. Mykrä, M. Annala, A. Markkola, K. Vuori, and T. Muotka. 2015. Multi-stressor impacts on fungal diversity and ecosystem functions in streams: natural vs. anthropogenic stress. *Ecology* 96:672-683. <https://doi.org/10.1890/14-0743.1>.
- Thomaz, S. M., L. M. Bini, and R. L. Bozelli. 2007. Floods increase similarity among aquatic habitats in river-floodplain

- systems. *Hydrobiologia* 579:1-13. <https://doi.org/10.1007/s10750-006-0285-y>.
- Vilches, C., A. Giorgi, M. Mastrángelo, and L. Ferrari. 2011. Non point contamination homogenizes the water quality of pampean streams. *Bull Environm Contam Toxicol* 87:147-151. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0312-1>.
- Vilches, C., A. Giorgi, and M. A. Casco. 2013. Periphyton responses to non-point pollution in naturally eutrophic conditions in Pampean streams. *Fundam Appl Limnol* 183(1):63-74. <https://doi.org/10.1127/1863-9135/2013/0415>.
- Vilches, C., A. Giorgi, M. C. Rodríguez Castro, and M. A. Casco. 2014. Periphyton Responses to non-point Pollution in Eutrophic-Humic Environments: An Experimental Study. *Int J Environ Res* 8(3):523-530.
- Walsh, C., A. Roy, J. Feminella, P. Cottingham, P. Groffman, and R. Morgan II. 2005. The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. *J N Am Benthol Soc* 24(3):706-723. <https://doi.org/10.1899/04-028.1>.
- Wesenberg, D., I. Kyriakides, and S. Agathos. 2003. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. *Biotechnol Adv* 22:161-187. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2003.08.011>.
- Whitton, B. A., E. Rott, and G. Friedrich (eds.). 1991. Use of Algae for Monitoring Rivers. Innsbruck: STUDIA, Studentenförderungs-Ges. m.b.H. Pp. 193.