

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL**

**Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas**



Tesis para la obtención del Grado Académico  
de Doctora en Ciencias Biológicas

**EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN  
DIRECTA Y DIFUSA POR PLAGUICIDAS  
SOBRE EL ZOOPLANCTON A DISTINTAS  
ESCALAS DE ANÁLISIS**

Lic. Victoria Soledad Andrade

Directora de Tesis: Dra. Ana María Gagneten

Co-directora de Tesis: Dra. María Florencia Gutierrez

Lugar de realización: Laboratorio de Ecotoxicología - Departamento  
de Ciencias Naturales - Facultad de Humanidades y Ciencias -  
Universidad Nacional del Litoral

**-2021-**

## Agradecimientos

Agradezco en primer lugar a mi Universidad Nacional del Litoral (UNL), que me permitió formarme tanto en la hermosa carrera que es la Licenciatura en Biodiversidad, como en el Doctorado en Ciencias Biológicas. Además, agradezco a la UNL por el financiamiento de proyectos CAI+D que me permitieron acceder a parte del equipamiento, insumos y servicios para la realización de mi Tesis:

- CAI+D 2011: Biomarcadores de metales y fitosanitarios en plancton y crustáceos de humedales de la región central de la Provincia de Santa Fe. Directora: Dra. Ana María Gagneten. Facultad de Humanidades y Ciencias (UNL).
- CAI+D 2016: Procesos biológicos en organismos acuáticos y efectos subletales de Contaminantes Orgánicos: implicancias para la evaluación de riesgo ecológico. Directora: Dra. María Florencia Gutierrez. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (UNL).
- CAI+D 2016: Remediación: uso de microorganismos para optimizar la eficiencia del tratamiento de líquidos lixiviados de residuos sólidos urbanos. Directora: Dra. Luciana Regaldo. Facultad de Humanidades y Ciencias (UNL).
- CAI+D Orientado 2017: Elaboración de un índice de sostenibilidad (indicadores ecológicos, económicos y sociales) de sistemas acuáticos de la provincia de Santa Fe. Dra. Ana María Gagneten. Facultad de Humanidades y Ciencias (UNL).

A la Facultad de Humanidades y Ciencias, que con su diversidad nos brinda un ámbito de contención y constante aprendizaje. A los docentes que nos formaron como biólogos, por enseñarnos a cuestionar, a repensar y a discutir los conocimientos, y que la Biología no es una ciencia de leyes, sino de excepciones.

A la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, sede del Doctorado en Ciencias Biológicas, por brindarme la posibilidad de continuar mi formación y especializarme en lo que me apasiona.

A los jurados de esta tesis, los Doctores Jorge Marcovecchio y Pablo Demetrio, y la Doctora Cristina Perez Coll, por sus sugerencias y comentarios que contribuyeron a mejorar la calidad del manuscrito de la presente tesis.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas por permitirme iniciarme como trabajadora de la ciencia, vocación que aprendí a amar y reafirmo cada día.

A mi directora, Ana María Gagneten y a mi co-directora, María Florencia Gutierrez, por su guía, por fomentar el pensamiento crítico, su generosidad, su compañerismo, por ser fuente de inspiración y alentarme siempre a superarme y a no rendirme frente a las adversidades. Gracias por brindarme la oportunidad de crecer tanto en lo profesional como en lo personal, por todas las experiencias compartidas y por el invaluable apoyo recibido.

A mis compañeras y compañeros del Laboratorio de Ecotoxicología, en especial a Luciana, Ulises y Natalí, por el constante intercambio de experiencias y por brindarme sus conocimientos tanto en el campo como en el laboratorio.

A mi amor y compañero Iván, por su contención y sostén incondicional.

A mi papá y mi mamá por apoyarme siempre para seguir adelante y superarme.

A mis amigas y amigos de la vida, de la facu y de la lucha por nuestros derechos, por estar ahí siempre y tener las palabras justas de apoyo y contención.

A mis hermanos y en especial a mi hermana Sofi, por las charlas, los consejos y el abrigo de hermanita mayor.

A mis abuelos por alentarme siempre a superarme cada día.

A mis tíos postizos Aldo y Stella, por acompañarme en este proceso y apoyarme siempre.

A las políticas públicas que apoyan a la educación pública y a la ciencia como herramientas de desarrollo soberano.

Es todo este recorrido y todo el apoyo de estas personas que me acompañaron lo que le da valor a este título. Me siento muy orgullosa no sólo por cerrar esta etapa, sino principalmente por mirar para atrás y tener tanto por agradecer,

Gracias,

Sin ciencia no hay futuro.

## Publicaciones

**Andrade VS**, Gutierrez MF, Fantón N, Gagneten AM. (2018) Shifts in zooplankton behavior caused by a mixture of pesticides. *Water Environment Research*, 229(4), 107. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3752-y>

**Andrade VS**, Polla WM, Gutierrez MF, Regaldo L, Reno U, Popielarz A, Gervasio S, Fernández V, Gagneten AM. (2020) Effect of a glyphosate formulation on freshwater plankton: a community combined metrics approach. *Journal of Environmental Biology* (aceptado).

**Andrade VS**, Gutierrez MF, Reno U, Popielarz A, Gervasio S, Gagneten AM (2021) Synergy between glyphosate and cypermethrin formulations on zooplankton: evidences from a single-specie test and a community mesocosm experiment. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12619-0>

## Índice

<b>Abreviaturas</b> .....	7
<b>1. Resumen</b> .....	10
1.1. Resumen.....	10
1.2. Abstract.....	12
<b>2. Introducción</b> .....	14
2.1. Objetivos.....	16
2.1.1. Objetivo General.....	16
2.1.2. Objetivos Específicos.....	16
2.2. Hipótesis.....	16
<b>3. Capítulo 1: Sinergia entre dos formulaciones de glifosato y cipermetrina en el zooplancton: evidencias a escala individual y comunitaria</b> .....	17
3.1. Introducción.....	17
3.2. Objetivo del capítulo.....	18
3.3. Materiales y Métodos.....	18
3.3.1. Selección de formulados de plaguicidas.....	18
3.3.2. Diseño experimental.....	18
3.3.2.1. Ensayo de toxicidad aguda.....	18
3.3.2.2. Experimento de mesocosmos.....	20
3.3.3. Análisis de datos.....	21
3.3.3.1. Ensayo de toxicidad aguda.....	21
3.3.3.2. Experimento de mesocosmos.....	22
3.4. Resultados.....	22
3.4.1. Ensayo de toxicidad aguda.....	22
3.4.2. Experimento de mesocosmos.....	23
3.5. Discusión.....	26
3.5.1. Ensayo de toxicidad aguda.....	26
3.5.2. Experimento de mesocosmos.....	27

<b>4. Capítulo 2: Incidencia de las precipitaciones en la deriva de plaguicidas y nutrientes hacia arroyos en la región central de la provincia de Santa Fe.....</b>	<b>29</b>
4.1. Introducción.....	29
4.2. Objetivo del capítulo.....	30
4.3. Materiales y Métodos.....	30
4.3.1. Área de estudio.....	30
4.3.2. Diseño de estudio.....	31
4.3.3. Variables geomorfológicas e hidrológicas.....	32
4.3.4. Análisis de plaguicidas.....	33
4.3.5. Análisis de datos.....	33
4.4. Resultados.....	34
4.4.1. Evento de precipitación: efecto en la calidad del agua de los arroyos.....	36
4.4.2. Estado fenológico: efectos en el agua de los arroyos.....	38
4.4.3. Agua de escorrentía.....	39
4.5. Discusión.....	42
4.5.1. Evento de precipitación: efecto en la calidad del agua de los arroyos.....	42
4.5.2. Estado fenológico: efectos en el agua de los arroyos.....	43
4.5.3. Agua de escorrentía.....	44
<b>5. Capítulo 3: Efecto del ingreso de plaguicidas y nutrientes por precipitaciones en zonas agrícolas sobre la comunidad zooplanctónica en arroyos de la región central de la provincia de Santa Fe.....</b>	<b>47</b>
5.1. Introducción.....	47
5.2. Objetivo del capítulo.....	48
5.3. Materiales y Métodos.....	48
5.3.1. Diseño de estudio.....	48
5.3.1. Análisis de datos.....	49
5.4. Resultados.....	50
5.4.1. Evento de precipitación: efecto en la comunidad del zooplancton.....	51
5.4.2. Estado fenológico: efectos en la comunidad del zooplancton.....	52
5.5. Discusión.....	53

5.5.1. Evento de precipitación: efecto en la comunidad del zooplancton.....	55
5.5.2. Estado fenológico: efectos en la comunidad del zooplancton.....	56
<b>6. Conclusiones Generales.....</b>	<b>58</b>
<b>7. Referencias Bibliográficas.....</b>	<b>59</b>
<b>Anexo I:</b> Concentraciones de plaguicidas en agua de escorrentía (E1, E2 y E3), agua de los arroyos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) y sedimento ( $\mu\text{g Kg}^{-1}$ ) en todos los sitios (S1, S2 y S3) y tiempos de muestreo: 1 día antes del primer evento de lluvia (InterPre), 1 día después (Post1), 7 días después (InterPos7), y 1 día después de otros dos eventos de lluvia (Post2 y Post3).....	78
<b>Anexo II:</b> Clasificación de los plaguicidas detectados según su solubilidad ( $\text{mg L}^{-1}$ ) y su movilidad (Log Koc) acorde a la FAO.....	79
<b>Anexo III:</b> Listado de taxa detectados en todos los sitios (S1, S2 y S3) y tiempos de muestreo: 1 día antes del primer evento de lluvia (InterPre), 1 día después (Post1), 7 días después (InterPos7), y 1 día después de otros dos eventos de lluvia (Post2 y Post3).....	80

## Abreviaturas

2,4-D: ácido 2,4-diclorofenoxiacético

ACoP: análisis de coordenadas principales

ACP: análisis de componentes principales

AltSolub: alta solubilidad

AMPA: ácido aminometilfosfónico

ANOVA: análisis de varianza

AreaCuenc: área de la subcuenca

BajSolub: solubilidad baja

CIA: criterio de información Akaike

Cip: cipermetrina

CL50: concentración letal 50

ConcPlag: concentración total de plaguicidas

Cond: conductividad

CP1, CP2: componentes principales 1 y 2

Ctrl: control

DBO: demanda biológica de oxígeno

E1, E2 y E3: agua de escorrentía de los muestreos Post1, Post2 y Post3

e.a.: equivalentes ácidos

EFS: Extracción en Fase Sólida

Escorr: caudal de escorrentía probable

Exp: efecto aditivo esperado de la mezcla

FDA fosfato diamónico

FMOC-Cl: Fluorenilmetilossicarbonil cloruro

FRS: fósforo reactivo soluble

GC-MS/MS: cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas

Gli: glifosato

HPLC: cromatografía líquida de alto rendimiento

InPre7: muestreo 7 días después de la lluvia

InterPre: muestreo 24h antes de la lluvia

IntPrecip: intensidad de precipitaciones, ( $\text{mm h}^{-1}$ )

LC: límite de cuantificación

LC-MS/MS: cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas

LD: límite de detección

LeñosaRib: cobertura ribereña leñosa

LigMov: ligeramente movable

MAltSolub: muy alta solubilidad

MANOVA: análisis multivariante de la varianza

MBajSolub: solubilidad muy baja

MedSolub: media solubilidad

micro-ECD: detector de captura de micro electrones

Mix: mezcla

MLG: modelos lineales generalizados

ModMov: moderadamente movable

Mov: movable

MRANOVA: análisis de varianza de medidas repetidas

MSPD: matriz de dispersión en fase sólida

Obs: efecto observado de la mezcla

OD: oxígeno disuelto

PendLat: pendiente lateral

PERMANOVA: análisis de varianza multivariado permutacional

Post1, Post2, Post3: muestreos 24h después de la lluvia

Precip: precipitaciones (mm)

QuEChERS: sigla en inglés para extracción rápida, fácil, barata, efectiva, robusta y segura -Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe-).

S1, S2 y S3: sitios de muestreo 1,2 y 3 respectivamente

SCS: Servicio de Conservación del Suelo

SIGA-INTA: Sistema de Información y Gestión Agrometeorológica - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

SolubALTA: plaguicidas MAltSolub+AltSolub

Turb: turbidez

UTmix: unidades tóxicas de la mezcla

$\Delta$ CIA: diferencia entre el valor más bajo de CIA y el CIA de todos los demás modelos

## 1. Resumen

### 1.1. Resumen

En las últimas décadas se ha incrementado vertiginosamente el uso de plaguicidas, principalmente como consecuencia de la siembra directa de cultivos resistentes. Estos poluentes alcanzan los cuerpos de agua por diferentes vías, siendo una de las principales la escorrentía por lluvias. El ingreso de plaguicidas en los ambientes acuáticos es variable y depende de diversos factores, como las precipitaciones, los períodos de máxima aplicación y los productos aplicados en las diferentes etapas o estados fenológicos de los cultivos (pre y post emergencia de los cultivos). En los ambientes acuáticos, los plaguicidas convergen conformando complejas mezclas, en las que pueden interactuar, incrementando (sinergia) o disminuyendo (antagonismo) su toxicidad sobre organismos no-blanco. El zooplancton es una comunidad muy sensible a los cambios en el ambiente, por su reducida talla y su corto tiempo generacional, posibilitando además el trabajo a diferentes escalas de análisis. Esta comunidad interviene en la transferencia de materia y energía desde los organismos autótrofos hacia niveles tróficos superiores y contribuye al ciclado de nutrientes, desempeñando un rol clave en los ecosistemas acuáticos continentales.

El objetivo de la presente tesis fue analizar los efectos de los plaguicidas sobre el zooplancton: por exposición directa a concentraciones conocidas en ensayos toxicológicos, y difusa: por exposición en sistemas acuáticos naturales a la presencia de plaguicidas provenientes de actividades agrícolas. Estos estudios se realizaron a distintas escalas de análisis. Por un lado, el efecto del glifosato y la cipermetrina aislados y en mezcla se evaluó tanto en ensayos monoespecíficos de toxicidad letal sobre *Ceriodaphnia dubia*, como en mesocosmos donde se analizaron los efectos sobre parámetros comunitarios del zooplancton. Por otro lado, en campo se analizó la escorrentía de plaguicidas y nutrientes por lluvias, y su efecto sobre la comunidad del zooplancton en sistemas acuáticos de la región central de la Provincia de Santa Fe.

En ensayos monoespecíficos de laboratorio la toxicidad aguda de una mezcla equitóxica de glifosato y cipermetrina en *C. dubia* fue 3 y 4 veces mayor que la toxicidad aislada de cada plaguicida, respectivamente. Es decir, el glifosato y la cipermetrina interactuaron de forma sinérgica sobre la toxicidad letal de *C. dubia*. Se destaca la relevancia de este resultado, dado que numerosos estudios han concluido que sólo el 5% de las mezclas muestran un efecto sinérgico dos veces mayor que el efecto hipotético aditivo.

En mesocosmos, ambos plaguicidas también interactuaron presentando un efecto sinérgico negativo en las densidades de Cladocera y Copepoda. No se encontraron interacciones entre plaguicidas para Rotifera, por lo tanto, el efecto de la mezcla se consideró como aditivo para este grupo. Los resultados obtenidos indicaron que la interacción entre el glifosato y la cipermetrina puede depender de los grupos de organismos estudiados, siendo esta información de gran interés para las agencias de regulación ambiental cuando se definen los organismos no-blanco a ser utilizados para los estudios de toxicidad.

En estudios de campo, las concentraciones de plaguicidas en los arroyos monitoreados presentaron un incremento generalizado luego del evento de lluvia, viéndose además afectada la calidad del agua en términos de aumento de amonio, fósforo reactivo soluble (FRS), demanda biológica de oxígeno (DBO) y turbidez. Se observó una mayor incidencia del estado fenológico de los cultivos que de la intensidad de las precipitaciones en el tipo de plaguicidas y las concentraciones de nutrientes detectados, siendo crítica la etapa de pre-emergencia. En esta etapa el amonio, el FRS, la DBO y la turbidez fueron significativamente superiores, además de la concentración de plaguicidas pre-emergentes como el metolaclo, con respecto a los muestreos de post-emergencia. Las concentraciones de los plaguicidas detectados en agua de escorrentía dependieron principalmente de su solubilidad, la pendiente lateral de los arroyos y el porcentaje de vegetación ribereña leñosa.

La escorrentía por lluvias en zonas agrícolas, y la consecuente deriva de plaguicidas y nutrientes, afectaron significativamente a la comunidad del zooplancton, principalmente disminuyendo su equitatividad por incremento de la dominancia de grupos aparentemente tolerantes. Si bien el caudal fue uno de los factores determinantes de la densidad de los diferentes componentes de la comunidad (Cladocera, Copepoda y Rotifera), la densidad de los cladóceros se vio afectada además por una serie de factores naturales (conductividad y precipitaciones) y antrópicos (turbidez, DBO y FRS) relacionados con los eventos de precipitación y las diferentes prácticas realizadas en cada etapa fenológica de los cultivos.

La comunidad del zooplancton, a pesar de haber sido afectada por variables físicas como el caudal, respondió con una sensibilidad diferencial a las perturbaciones ambientales vinculadas a las actividades agrícolas.

Estos resultados constituyen un aporte significativo al estudio de los efectos de las mezclas de plaguicidas, escasamente estudiadas, y manifiestan la relevancia de realizar monitoreos ambientales de calidad del agua y comunidades biológicas considerando los factores que inciden en la dinámica de los ambientes de aguas superficiales y en la deriva de plaguicidas y nutrientes hacia los mismos.

## 1.2. Abstract

The amount of pesticides applied has drastically increased in the last decades, mainly as consequence of the no-till direct seeding of resistant crops. These pollutants reach the water bodies through different ways, being the runoff caused by precipitations, one of the main sources of diffuse drift. The pesticide input on freshwater environments is variable and depends on several factors such as precipitations, the periods of maximum application, and the products applied in the different stages or phenological states of the crops (pre and post emergence of the crops). In freshwater environments, pesticides converge conforming complex mixtures, in which they can interact, increasing (synergy) or decreasing (antagonism) their toxicity to non-target organisms. The zooplankton is a community very sensitive to environmental changes, due to its small size and short generational time, making it useful for testing at different scales of study. This community participate in the transfer of matter and energy from autotrophic organisms to higher trophic levels and contributes to the nutrient cycling, playing a key role in continental aquatic ecosystems.

The aim of the present thesis was to analyse the effects on zooplankton: by direct exposition to known concentrations in toxicological bioassays, and diffuse: by exposition in natural systems to the presence of pesticides derived from agricultural practices. These studies were made in different analysis scales. On the one hand, the effect of glyphosate and cypermethrin isolated and in mixture was evaluated both in monospecific lethal toxicity tests on *Ceriodaphnia dubia*, and in mesocosms where the effect on community parameters of zooplankton was evaluated. On the other hand, in the field the runoff of pesticides and nutrients due to rainfall was analysed, as well as its effect on the zooplankton community in aquatic systems of the central region of Santa Fe Province.

In laboratory monospecific bioassays, the acute toxicity of the equitoxic mixture of glyphosate and cypermethrin in *C. dubia* was 3 and 4 times higher than the isolated toxicity of each pesticide, respectively. This means that, glyphosate and cypermethrin interacted synergistically on the lethal toxicity of *C. dubia*. The relevance of this result is highlighted since numerous studies have concluded that only 5% of the mixtures show a synergistic effect more than twofold greater than the hypothetic additive effect.

In the mesocosms, both pesticides also interacted presenting a synergic negative effect over Cladocera and Copepoda densities. No interactions between pesticides were found for Rotifera, therefore, the effect of the mixture was considered additive in this case. These results indicated that the interaction between glyphosate and cypermethrin may depend on the groups of organisms studied, being this information of great interest for the environmental regulatory agencies when defining non-target organisms to be used for toxicity studies.

In field studies, the pesticides concentrations on the monitored streams presented a generalized increase after the rain event, the quality of the water also being affected in terms of increases in ammonium, soluble reactive phosphorus (SRP), biological oxygen demand (BOD), and turbidity. The incidence of the phenological state of the cultures was greater than the precipitation intensity in the pesticides type and the

nutrients concentrations detected, and the pre-emergence stage was a critical period. On these stages, the ammonium, SRP, BOD, and turbidity were significantly higher, also in addition to the concentration of pre-emerging pesticides such as metolachlor, with respect to the post-emergence samplings. The concentrations of the pesticides detected on runoff water depended mostly on their solubility, the lateral slope of the streams, and the percentage of woody riparian vegetation cover.

The runoff by precipitations in agricultural areas, and the consequent drift of pesticides and nutrients, affected significantly the zooplankton community, mainly decreasing its equitability. Although the flow was one of the determining factors of the density of the different components of the community (Cladocera, Copepoda and Rotifera), the cladocerans density was also affected by several natural (conductivity and precipitations) and anthropic factors (turbidity, BOD and SRP) related to the precipitation events and the different practices carried out in each phenological stage of the crops.

Although the zooplankton community was affected by physical variables such as flow due to its mobility, it showed to be sensitive to environmental disturbances linked to agricultural activities.

These results constitute a significant contribution to the study of the effects of pesticide mixtures, still poorly studied. Also, the obtained results show the relevance of conducting environmental monitoring of water quality and biological communities considering factors that affect the dynamics of surface water environments and the drift of pesticides and nutrients towards them.

## 2. Introducción

Los ecosistemas acuáticos continentales son de gran importancia ya que contribuyen a la diversidad biológica y aportan invaluables recursos y servicios ecosistémicos a la sociedad. Sin embargo, la intervención antropogénica sobre los mismos se ha intensificado en las últimas décadas. El aporte de plaguicidas por actividades agrícolas es una de las principales causas de la actual disminución en la calidad del agua y de la desaparición selectiva de las especies menos tolerantes [1]. Los plaguicidas pueden alcanzar los cuerpos de agua por vías difusas, debido a la escorrentía superficial y a la lixiviación producidas por lluvias, la volatilización en el momento de aplicación, la revolatilización desde los suelos, y los compuestos arrastrados desde la atmósfera por las precipitaciones, o por vías directas debido a la limpieza de maquinaria agrícola en los arroyos, la acumulación de envases con residuos de plaguicidas en los campos o porque las pulverizaciones se realizan directamente sobre la superficie del agua [2–6]. Esta variedad de sucesos hace que la entrada de plaguicidas y fertilizantes en los cuerpos de agua sea intermitente e irregular, según los períodos de máxima aplicación, los diferentes compuestos utilizados en cada etapa de los cultivos, los volúmenes utilizados, y diversos factores ambientales, provocando que las concentraciones de plaguicidas en los ambientes sean muy variables. La deriva difusa, generada por fuentes no puntuales, es actualmente la principal causa de contaminación del agua en países con alta producción agrícola, siendo su principal fuente el agua de escorrentía con fitosanitarios procedentes de los agroecosistemas [7].

En las últimas décadas, Argentina ha atravesado un proceso de expansión agrícola hacia áreas ambientalmente más frágiles y de intensificación en las áreas tradicionalmente agrícolas [8]. La simplificación de los sistemas agrícolas y el uso creciente de agroquímicos, constituyen problemas que acompañan a estos procesos [9].

No obstante, la información referida al impacto ambiental por pérdidas de fitosanitarios desde agroecosistemas, y particularmente a su transporte hacia cursos de agua, es escasa, siendo incipiente el conocimiento de sus efectos sobre las comunidades acuáticas y el ecosistema en su conjunto [10, 11]. Por tal motivo, es necesario analizar los diferentes factores que determinan la dinámica de la deriva de los plaguicidas y sus efectos en los ecosistemas, considerando que la sensibilidad de cada especie varía según sus características bioecológicas y que la conversión de los ecosistemas nativos en agroecosistemas aumenta el riesgo ecológico para sus poblaciones.

El zooplancton desempeña un rol clave en los ecosistemas acuáticos continentales, ya que interviene en la transferencia de materia y energía desde los organismos autótrofos hacia niveles tróficos superiores y contribuye al ciclado de nutrientes [11, 12]. Además, es una de las comunidades más sensibles a perturbaciones antrópicas debido a que son especies pequeñas, con alta tasa reproductiva y gran capacidad de dispersión, por lo que responden rápidamente a los cambios en el ambiente. Las alteraciones detectadas en el zooplancton pueden, a su vez, afectar a otros niveles tróficos mediante mecanismos *top down* y

*bottom up*, por lo que sus respuestas a las alteraciones ambientales pueden repercutir en todo el ecosistema e informar sobre la magnitud del impacto causado sobre el mismo [13, 14].

La mayoría de los estudios de efectos de los plaguicidas sobre el zooplancton están restringidos a bioensayos de laboratorio con pocas especies, muchas no nativas de la región (por ejemplo, *Daphnia magna*) y a plaguicidas aislados [15–17]. Por esta razón, varios estudios destacan la necesidad de considerar los efectos sobre las interacciones inter e intraespecíficas y los factores ambientales, así como el efecto de las mezclas de plaguicidas, cuando se analizan sus impactos en las comunidades acuáticas [18].

Los ensayos de mesocosmos se han sugerido para reducir la brecha entre los estudios a campo y los experimentos de laboratorio, usualmente monoespecíficos [19]. Esta metodología se ha empleado para analizar tanto procesos ecológicos como ecotoxicológicos. En este último caso, demostraron ser herramientas valiosas para entender cómo los poluentes (incluyendo los plaguicidas) afectan a los ecosistemas ya que permiten medir tiempos de exposición, efectos crónicos, interacciones depredador-presa y cambios en la dinámica poblacional y comunitaria [20–23]. Los mesocosmos son considerados una herramienta experimental a escala intermedia entre los experimentos de laboratorio y las complejas condiciones del campo, incorporando mayor reproducibilidad experimental respecto a estudios a campo, y mayor relevancia ecológica respecto a ensayos a menor escala [24–26].

En este marco, en la presente tesis se diseñaron estudios complementarios a diferentes escalas: microcosmos, mesocosmos y campo, para para aportar al conocimiento de los posibles efectos de plaguicidas de amplio uso en las prácticas agrícolas sobre la comunidad zooplanctónica.

## 2.1. Objetivos

### 2.1.1. Objetivo General

Analizar los efectos de la exposición directa y difusa a plaguicidas sobre el zooplancton a distintas escalas de análisis.

### 2.1.2. Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de la polución por glifosato, cipermetrina y su mezcla sobre el zooplancton a escala monoespecífica (*Ceriodaphnia dubia*) y comunitaria.
- Evaluar el efecto de la escorrentía por lluvias sobre la deriva de plaguicidas y nutrientes de zonas agrícolas a arroyos de la región central de la provincia de Santa Fe.
- Evaluar el efecto de las precipitaciones y el ingreso de plaguicidas y nutrientes de zonas agrícolas sobre la comunidad zooplanctónica en arroyos de la región central de la provincia de Santa Fe.

## 2.2. Hipótesis

- Formulados de glifosato y cipermetrina aislados y en mezcla aumentan la mortalidad de *Ceriodaphnia dubia*, y disminuyen la densidad, riqueza y diversidad de la comunidad zooplanctónica.
- La mezcla tiene un efecto sinérgico (es decir, su efecto será mayor al de los dos plaguicidas aislados) sobre la mortalidad de *C. dubia* y los parámetros de la comunidad mencionados.
- Cladóceros y copépodos son menos tolerantes que rotíferos en los tratamientos con los formulados aislados y en mezcla.
- La escorrentía por precipitaciones disminuye la calidad del agua de arroyos de la región central de la Provincia de Santa Fe, arrastrando plaguicidas y nutrientes de los campos cultivados aledaños.
- Mayores concentraciones de plaguicidas en campo se correlacionan con una menor riqueza, equitatividad y diversidad de organismos zooplanctónicos.

### 3. Capítulo 1: Sinergia entre dos formulaciones de glifosato y cipermetrina en el zooplancton: evidencias a escala mono-específica y comunitaria

#### 3.1. Introducción

El aumento y la intensificación de las prácticas agrícolas para aumentar los rindes económicos y satisfacer las demandas que generan las crecientes desigualdades sociales y el desperdicio de alimentos y recursos [27, 28], implican el uso de grandes cantidades de plaguicidas asociados a la producción de cultivos genéticamente modificados [9, 29]. Los agroquímicos pueden alcanzar los cuerpos de agua por deriva, potencialmente afectando a organismos no-blanco [30, 31]. Su peligrosidad reside en el hecho de que constituyen complejas mezclas en los ambientes acuáticos, ya sea porque son aplicados en mezcla, o porque los plaguicidas provenientes de diferentes prácticas convergen en los ambientes [32–34]. Cuando conforman mezclas, estos poluentes pueden interactuar sinérgicamente, cuando el efecto de la mezcla es superior a la suma de los efectos individuales; o antagónicamente, cuando el efecto de la mezcla es inferior a la suma de los efectos individuales. Por otro lado, si los poluentes no interactúan, el efecto de la mezcla es aditivo, siendo igual a la suma de los efectos aislados [35, 36]. Por su parte, Piggott y col. [37] plantearon que la identificación del tipo de interacción puede ser dificultosa cuando las direcciones de los efectos de cada poluyente aislado son opuestas. En este sentido, establecieron que en estos casos la interacción se considera sinérgica cuando el efecto de la mezcla es más negativo que el efecto individual del poluyente que afectó negativamente a la variable de interés. Si bien las regulaciones ambientales actuales consideran que los test de toxicidad deben incluir bioensayos con mezclas debido a su representatividad, aún hay poca información acerca de los efectos de mezclas de plaguicidas en especies y comunidades no-blanco [38–40].

El glifosato [N-(fosfonometil)glicina], un herbicida post-emergente de amplio espectro, es el herbicida más ampliamente empleado en el mundo para control de malezas [41, 42]. Su amplio uso, y por tanto su gran ubiquidad en los cuerpos de agua, hacen que este compuesto se comporte como un poluyente pseudopersistente [43, 44]. La cipermetrina [3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxilato de 1-ciano-1-(3-fenoxibencil)metilo], un piretroide no sistemático, es un insecticida ampliamente usado en el mundo [45]. Por tanto, es muy probable que ambos plaguicidas, glifosato y cipermetrina, coocuran en los cuerpos de agua [44, 46–49].

La toxicidad individual del glifosato y la cipermetrina en organismos no-blanco ha sido ampliamente documentada [15, 41, 45, 50, 51]. Sin embargo, pocos estudios se han enfocado en analizar los efectos de esta mezcla, con algunas controversias. Por ejemplo, se ha reportado una interacción sinérgica en la toxicidad aguda en renacuajos de *Rhinella arenarum* [52], mientras que también se reportó una interacción antagónica en la misma mezcla en la toxicidad aguda de peces *Cnesterodon decemmaculatus* [53]. Estos hallazgos demuestran que las interacciones entre plaguicidas pueden ser diferentes entre los organismos

test considerados, lo que hace necesario estudiar diferentes organismos no-blanco, para alcanzar una mayor comprensión de cómo los plaguicidas pueden interactuar y afectar a la biota.

Los impactos de los plaguicidas son frecuentemente estudiados en bioensayos monoespecíficos, que proveen información valiosa y comparable [ej. 54, 55]. Sin embargo, estos estudios deben ser complementados con estudios de toxicidad con ensambles de especies, ya que ha sido demostrado que los efectos de los plaguicidas pueden diferir entre diferentes niveles de organización biológica, dado que las interacciones interespecíficas y los factores ambientales pueden jugar un rol importante [38, 56–58]. En este sentido, la comunidad zooplanctónica permite trabajar fácilmente a diferentes niveles de organización biológica, ya que estos organismos poseen cuerpos de talla pequeña y tiempos generacionales cortos, respondiendo rápidamente a los cambios ambientales con alta sensibilidad [13, 59, 60].

### **3.2. Objetivo del capítulo**

El objetivo de este estudio fue analizar la interacción en mezcla entre formulados de glifosato y cipermetrina en su toxicidad aguda sobre el cladóceros *Ceriodaphnia dubia*, Richard (1894) [61], y sus efectos sobre un ensamble zooplanctónico en una exposición prolongada.

Ambas escalas experimentales fueron desarrolladas de manera complementaria para alcanzar una mejor comprensión de los efectos individuales y en mezcla del glifosato y la cipermetrina sobre el zooplancton.

### **3.3. Materiales y métodos**

#### *3.3.1. Selección de formulados de plaguicidas*

Dos formulaciones comerciales fueron empleadas: glifosato (Gli): Atanor II® 43.8% p/v sal monopotásica (Atanor S.C.A., Argentina) y cipermetrina (Cip): Xiper 25® 25% p/v (40-50 cis) mezcla de isómeros cis-trans de alfaciano-3-fenoxibencil 2,2 dimetil-3 (2,2 diclorovinil) ciclopropano carboxilato (UPL Argentina S.A.). Las concentraciones de glifosato se reportan en equivalentes ácidos (e.a.) por litro, dado que la formulación Atanor II® presenta el glifosato como sal monopotásica de modo de aumentar la solubilidad en agua [62].

#### *3.3.2. Diseño experimental*

##### *3.3.2.1. Ensayo de toxicidad aguda*

La toxicidad aguda de las formulaciones de Gli y Cip aislados y en mezcla fueron evaluadas para *C. dubia* siguiendo el protocolo propuesto por APHA [54]. Los organismos de *C. dubia* fueron colectados en una reserva natural ubicada en la planicie de inundación del Paraná medio (31°38'15.1"S 60°40'23.3"O), y progresivamente adaptadas a las condiciones de cultivo en laboratorio.

Un cultivo stock de *C. dubia* fue mantenido en un medio reconstituido (APHA, [54]: 120 mg L<sup>-1</sup> SO<sub>4</sub>Mg y CaSO<sub>4</sub> 2H<sub>2</sub>O, 192 mg L<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub>, 8 mg L<sup>-1</sup> KCl), en una incubadora a 22 ± 1 °C, con un régimen de 16:8 luz:oscuridad, el medio de cultivo fue cambiado semanalmente y los organismos fueron alimentados 3 veces a la semana con un cultivo de la microalga *Scenedesmus obliquus*.

La concentración que causa el 50% de la mortalidad en 24 h (CL50) fue estimada para cada plaguicida exponiendo neonatos de *C. dubia* (<24 h) a 5 concentraciones de cada plaguicida aislado con sus respectivos controles (sin plaguicidas) (Tabla 1). En base a las CL50 obtenidas para cada plaguicida (Gli: 8,37 mg L<sup>-1</sup> y Cip: 0,16 µg L<sup>-1</sup>), se realizó una mezcla equitóxica siguiendo a Marking [36] y se testearon 5 concentraciones (Tabla 1). Se realizaron 4 réplicas (cada una con 5 neonatos) por tratamiento en vasos de precipitado de 50 mL. El oxígeno disuelto (OD) y el pH fueron medidos al principio y al final del experimento. Sus valores variaron entre 6 - 8 mg L<sup>-1</sup> para OD y 7.5 – 8.15 para pH, encontrándose entre los límites establecidos por APHA [54].

Para preparar las concentraciones finales mencionadas en la tabla 1, 3 soluciones stock fueron preparadas (Gli: 2580 mg L<sup>-1</sup>, Cip: 13.6 mg L<sup>-1</sup> y la mezcla equitóxica: 13683 mg L<sup>-1</sup> Gli más 13.6 mg L<sup>-1</sup> Cip) en agua destilada. Una submuestra de cada una se conservó en oscuridad a -4°C para su determinación analítica. La Cip fue analizada usando un equipo de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, SHIMADZU Prominence® 20-A Series) con fase invertida, una columna RP18 y un detector de matriz de diodos (SHIMADZU Prominence® Serie 20-A), siguiendo el método EPA 1660 [63]. LD: 0.03 mg L<sup>-1</sup>, LC: 0.1 mg L<sup>-1</sup>. El Gli fue analizado usando un equipo HPLC con un detector de conductividad (HPLC, Waters®). Se empleó una columna Ion Pack AG22 4 x 250 mm, una columna Ion PackAS22 4 x 240 mm y un supresor de regeneración de iones (todos Dionex). Una mezcla de hidróxido de sodio (4 mM) y carbonato de sodio (9 mM) se utilizó como fase móvil. El método de cromatografía iónica con detección de conductividad fue adaptado de Zhu y col. [64]. LD: 2.52 mg L<sup>-1</sup>, LC: 8.42 mg L<sup>-1</sup>.

**Tabla 1** Concentraciones de exposición de las formulaciones de glifosato (mg L<sup>-1</sup>) y cipermetrina (µg L<sup>-1</sup>) utilizadas en forma aislada o en mezcla en el test de toxicidad aguda en *Ceriodaphnia dubia*

	Aislados		Mezcla	
	Gli (mg L <sup>-1</sup> )	Cip (µg L <sup>-1</sup> )	Gli (mg L <sup>-1</sup> )	Cip (µg L <sup>-1</sup> )
C1	4,7	0,04	0,7	0,01
C2	7,0	0,09	1,4	0,02
C3	10,5	0,17	2,7	0,04
C4	15,7	0,34	5,5	0,08
C5	23,6	0,68	10,9	0,15

Gli: glifosato; Cip: cipermetrina; C1-5: concentraciones

### 3.3.2.2. Experimento de mesocosmos

Se realizó un experimento de mesocosmos de 30 L en laboratorio (Figura 1) exponiendo un ensamble de zooplancton a las formulaciones de glifosato y cipermetrina aisladas y en mezcla. Se realizaron 3 réplicas por tratamiento (12 mesocosmos en total): control (Ctrl), glifosato (Gli), cipermetrina (Cip) y una mezcla de ambos plaguicidas usando las mismas concentraciones que en los tratamientos individuales (Mix). Las concentraciones de exposición fueron: Gli:  $6,4 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\pm 1,9$ ), Cip:  $0,01 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\pm 0,002$ ) y Mix:  $6,9 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\pm 1,9$ ) de glifosato más  $0,01 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\pm 0,001$ ) de cipermetrina.



**Figura 1** Experimento de mesocosmos (30 L) con un ensamble de zooplancton bajo condiciones controladas de laboratorio expuesto a formulados de glifosato y cipermetrina aislados y en mezcla, y un control (sin plaguicidas), todos triplicados.

Las concentraciones de plaguicidas fueron seleccionadas en base al test de toxicidad aguda con *C. dubia* previamente descrito, un estudio previo realizado por el grupo [26] y referencias bibliográficas [65, 66].

El ensamble de zooplancton fue colectado en lagunas del valle de inundación del río Paraná medio con una red de  $20 \mu\text{m}$ , para además asegurar la colección de microalgas como fuente de alimento. El mismo fue aclimatado por 4 días a las condiciones de laboratorio. Estas condiciones fueron:  $25^\circ\text{C}$ , fotoperiodo natural (12 h luz, aproximadamente) y aireación permanente. El ensamble de zooplancton fue inoculado en cada tanque plástico y dejado en las mismas condiciones de laboratorio por 1 día para su estabilización. Luego, los plaguicidas fueron cuidadosamente colocados por goteo en los tanques correspondientes.

El experimento tuvo una duración de 7 días en las mismas condiciones de laboratorio. Se realizaron 3 muestreos en los días 1 (2 h después de la adición de los plaguicidas), 4 y 7.

En cada tiempo de muestreo se midieron las siguientes variables ambientales: pH, temperatura (°C), conductividad ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) y OD ( $\text{mg L}^{-1}$ ) mediante sensores portables Hanna. El fósforo reactivo soluble (FRS), amonio, nitritos y nitratos fueron analizados siguiendo a APHA [54]. Las concentraciones de glifosato y cipermetrina también fueron analizadas en cada tiempo de muestreo. El glifosato fue analizado mediante un cromatógrafo SHIMADZU Prominence 20A Series equipado con un detector de fluorescencia (SHIMADZU RF-10AxL; SHIMADZU Corporation, Kyoto, Japan) y una columna (Phenomenex Luna NH2 Part No. 00G-4378-Y0). LD:  $2 \mu\text{g L}^{-1}$ , LC:  $6 \mu\text{g L}^{-1}$ . La cipermetrina fue medida mediante matriz de dispersión en fase sólida (MSPD) validada por Valenzuela-Quintanar y col. [67] con modificaciones. Un cromatógrafo de gases (Agilent 6890) fue empleado con un detector de captura de micro electrones (micro-ECD) y una columna Chrompack Capillary CP-Sil 5 CB (15m, 0.53 mm, 1.5  $\mu\text{m}$ ). LD:  $2 \mu\text{g L}^{-1}$ , LC:  $6 \mu\text{g L}^{-1}$ .

En cada tiempo de muestreo se tomaron muestras cuantitativas de zooplancton: se homogeneizó suavemente la columna de agua, se tomaron 300 mL mediante un recipiente de vidrio (el cual fue lavado entre tratamientos) y se filtró la muestra de agua a través de una malla de 45  $\mu\text{m}$ , las mismas fueron fijadas con formaldehído 4% y coloreadas con eritrosina. Los individuos fueron identificados mediante claves taxonómicas [68–71] en cámara de 1 mL Sedgewick Rafter bajo microscopio óptico (Nikon Eclipse E-200). Se cuantificaron las muestras completas para cada mesocosmos y tiempo de muestreo.

### 3.3.3. Análisis de datos

#### 3.3.3.1. Ensayo de toxicidad aguda

Se realizaron análisis Probit para obtener los valores de las 24h CL50 [72] para cada plaguicida aislado y su mezcla. Luego, se calculó la interacción (sinergismo, antagonismo o aditivismo) entre ambos plaguicidas siguiendo la fórmula propuesta por Marking [36]:

$$(1) UT_{mix} = \frac{CL50_{GliMix}}{CL50_{Gli}} + \frac{CL50_{CipMix}}{CL50_{Cip}}$$

Donde:  $UT_{mix}$  = unidades tóxicas totales de la mezcla ( $UT_{mix} > 1$  antagonismo,  $UT_{mix} = 1$

aditivismo,  $UT_{mix} < 1$  sinergia).

$Gli$  = glifosato

$Cip$  = cipermetrina

$Mix$  = mezcla

### 3.3.3.2. Experimento de mesocosmos

Se realizó una transformación logarítmica a los datos de densidad de zooplancton para ajustar la distribución normal de los mismos. Las diferencias en la densidad de zooplancton (Cladocera, Copepoda y Rotifera) entre tratamientos se analizaron con análisis de varianza (ANOVA) de un factor: “tratamiento”, con 4 niveles: Ctrl, Gli, Cip y Mix.

Las interacciones entre plaguicidas se analizaron con ANOVA de dos factores independientes: glifosato y cipermetrina, los niveles de ambos factores fueron presencia y ausencia de cada plaguicida. En este caso, la variable dependiente fue la densidad absoluta de cada grupo de la comunidad (Cladóceras, Copépodos y Rotíferos). En aquellos casos en los que se encontró una interacción estadísticamente significativa entre glifosato y cipermetrina, el tipo de interacción fue determinado comparando el efecto aditivo esperado de la mezcla (*Exp*, Fórmula 2) con el observado (*Obs* Fórmula 3) [37]. Si el efecto observado fue menor que el efecto aditivo esperado de la mezcla, los plaguicidas interactuaron antagonicamente. Si los efectos observado y esperado fueron iguales y/o los plaguicidas no interactuaron, su efecto combinado fue aditivo. Si el efecto observado fue mayor que el efecto aditivo esperado de la mezcla, los plaguicidas interactuaron sinérgicamente.

$$(2) \text{Exp} = (\text{Gli} - \text{Ctrl}) + (\text{Cip} - \text{Ctrl})$$

$$(3) \text{Obs} = \text{Mix} - \text{Ctrl}$$

Donde: *Gli* = densidad de organismos en el tratamiento con glifosato

*Ctrl* = densidad de organismos en el tratamiento control

*Cip* = densidad de organismos en el tratamiento con cipermetrina

*Mix* = densidad de organismos en el tratamiento con la mezcla

Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa IBM SPSS Statistics (v.23.0).

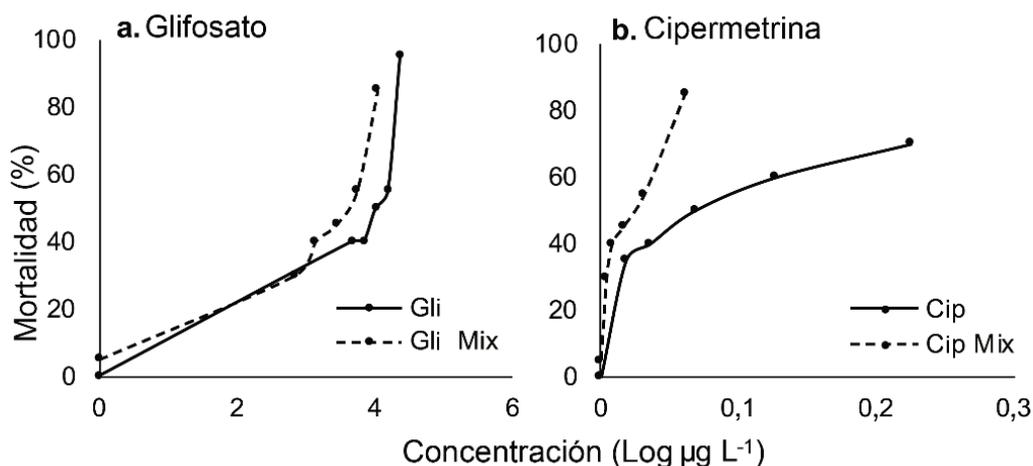
## 3.4. Resultados

### 3.4.1. Ensayo de toxicidad aguda

Las CL50 24h obtenidas para cada plaguicida y su mezcla en *C. dubia* se muestran en la Tabla 2, y las curvas de dosis respuesta se muestran en la Figura 2. Como puede evidenciarse, la toxicidad en mezcla de ambas formulaciones de plaguicidas fue 3 y 4 veces mayor que su toxicidad aislada, para glifosato y cipermetrina, respectivamente. El valor de las unidades tóxicas totales de la mezcla equitóxica (UTmix) fue 0,53. Al ser dicho valor menor que 1, se considera que hubo una interacción sinérgica entre ambos plaguicidas.

**Tabla 2** CL50 24h para *Ceriodaphnia dubia* de los formulados de glifosato ( $\text{mg L}^{-1}$ ) cipermetrina ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) aislados y en mezcla. Entre paréntesis, intervalo de confianza

	Aislados	En mezcla
Glifosato ( $\text{mg L}^{-1}$ )	8,37 (5,84 - 11,99)	2,54 (1,24 - 5,21)
Cipermetrina ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,16 (0,06 - 0,44)	0,04 (0,02 - 0,07)



**Figura 2** Curvas de dosis respuesta para la toxicidad aguda en *Ceriodaphnia dubia* de: **a.** glifosato: Gli: glifosato aislado, Gli mix: glifosato en mezcla; y **b.** cipermetrina: Cip: cipermetrina aislada, Cip mix: cipermetrina en mezcla

### 3.4.2. Experimento de mesocosmos

Las variables ambientales se mantuvieron constantes durante el período experimental: OD ( $7,17 - 7,81 \text{ mg L}^{-1}$ ), conductividad ( $233 - 246 \mu\text{S cm}^{-1}$ ) y pH ( $6,8 - 8$ ) y no variaron significativamente entre tratamientos (ANOVA,  $p = 0,668, 0,397$  y  $0,461$  respectivamente).

En lo que respecta a los nutrientes, el amonio ( $0,008 - 0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ) y los nitratos ( $0,32 - 1,36 \text{ mg L}^{-1}$ ) no variaron significativamente entre tratamientos (ANOVA,  $p = 0,367$  y  $0,932$ , respectivamente). Los nitritos y los fosfatos se encontraron por debajo de los niveles de detección ( $0,002 \text{ mg L}^{-1}$  y  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente).

Las tasas de degradación para el glifosato fueron  $0,096$  y  $0,076 \text{ mg L día}^{-1}$  cuando se encontraba solo o en mezcla, respectivamente. Las tasas de degradación para la cipermetrina fueron  $5 \cdot 10^{-4}$  y  $9 \cdot 10^{-4} \text{ mg L día}^{-1}$  cuando se encontraba sola o en mezcla, respectivamente.

Al principio del experimento, el ensamble de zooplancton estuvo compuesto por: 72% Rotifera, 22% Copepoda y 6% Cladocera. Los taxa de Rotifera más representativos fueron: Bdelloidea (57%) y Lecane

*hamata* (11%); para Copepoda, Cyclopoida (45%) y Calanoida (41%); y para Cladocera, *Simocephalus vetulus* (71%) y *Coronatella monocantha* (7%).

La densidad de Cladocera disminuyó significativamente en Cip y Mix con respecto a Ctrl y Gli en el día 4 (ANOVA,  $p = 0,003$ ,  $F = 10,9$ ). En el día 7, no se observaron Cladocera en Cip y Mix.

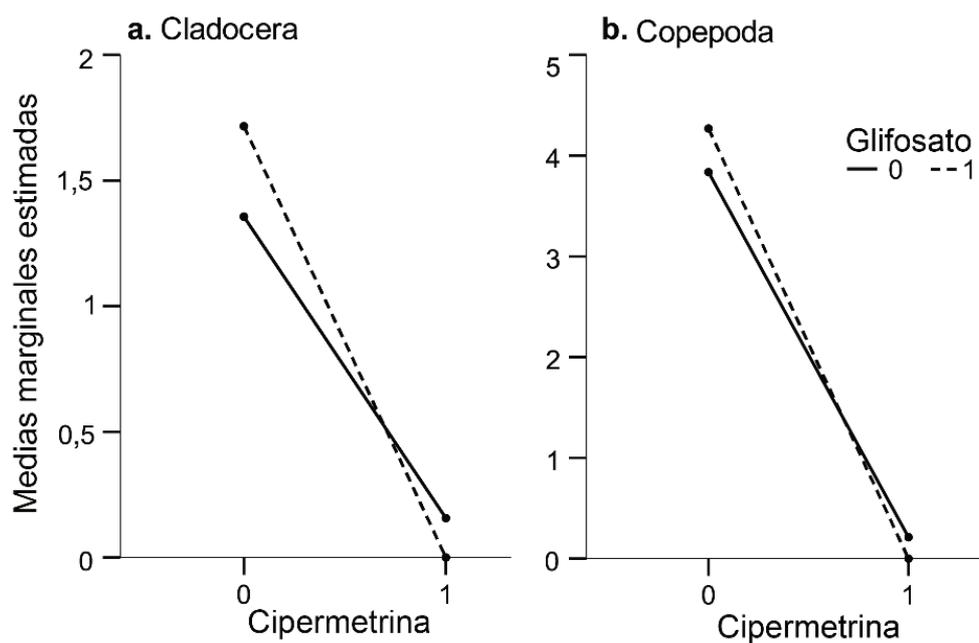
La densidad de Copepoda disminuyó significativamente en Cip y Mix con respecto a Ctrl y Gli en los días 4 y 7 (ANOVA,  $p < 0,001$ ,  $F = 48,83$  y  $p < 0,001$ ,  $F = 26,25$ , respectivamente).

La densidad de Rotifera no varió significativamente ni entre tratamientos ni en el tiempo (ANOVA,  $p > 0,05$ ).

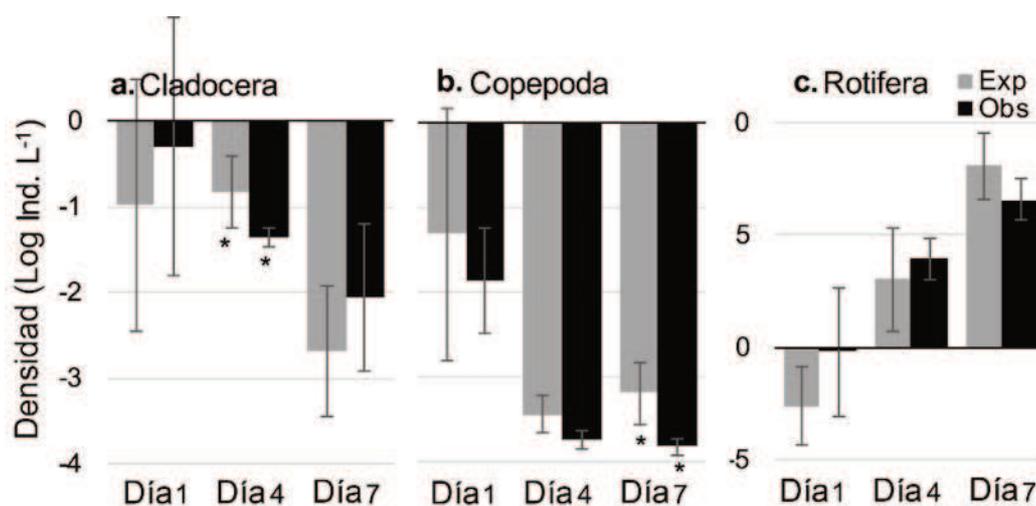
Se observó una interacción significativa entre el efecto de ambos plaguicidas en la densidad de Cladocera en el día 4 (ANOVA,  $p < 0,001$   $F = 66,76$ ) (Figura 3a.). En este caso, el valor esperado aditivo de la mezcla (Exp =  $-0,84 \text{ ind L}^{-1}_{\text{Log}}$ ) fue menor que el valor observado de la mezcla (Obs =  $-1,36 \text{ ind L}^{-1}_{\text{Log}}$ ) en términos absolutos (Figura 4a). Esto indica que las formulaciones de glifosato y cipermetrina tienen un efecto sinérgico negativo en la densidad de Cladocera. Si bien los efectos individuales de cada plaguicida fueron opuestos (es decir, el glifosato aumentó la densidad de Cladocera y la cipermetrina la disminuyó), se registró una mayor disminución de la densidad de Cladocera en Mix ( $-1,36 \text{ ind L}^{-1}_{\text{Log}}$ ) que en Cip ( $-1,19 \text{ ind L}^{-1}_{\text{Log}}$ ).

Se observó una interacción significativa entre el efecto de ambos plaguicidas en la densidad de Copepoda en el día 7 (ANOVA,  $p < 0,001$   $F = 26,25$ ) (Figura 3b.). Al igual que para Cladocera, el valor esperado aditivo de la mezcla (Exp =  $-3,19 \text{ ind L}^{-1}_{\text{Log}}$ ) fue menor que el valor observado de la mezcla (Obs =  $-3,84 \text{ ind L}^{-1}_{\text{Log}}$ ) en términos absolutos (Figura 4b). Esto indica que las formulaciones de glifosato y cipermetrina tienen un efecto sinérgico negativo en la densidad de Copepoda. Al igual que para Cladocera, si bien los efectos individuales de cada plaguicida fueron opuestos (es decir, el glifosato aumentó la densidad de Copepoda y la cipermetrina la disminuyó), se registró una mayor disminución de la densidad de Copepoda en Mix ( $-3,84 \text{ ind L}^{-1}_{\text{Log}}$ ) que en Cip ( $-3,62 \text{ ind L}^{-1}_{\text{Log}}$ ).

No se observaron interacciones entre los efectos de los plaguicidas sobre la densidad de Rotifera (ANOVA,  $p > 0,05$ ), por lo que el efecto de la mezcla fue considerado aditivo en este caso (Figura 4c).



**Figura 3** Gráficos de perfiles para la densidad de: **a.** Cladocera y **b.** Copepoda, en los días 4 y 7 respectivamente. 0 indica ausencia del plaguicida y 1, presencia



**Figura 4** Efectos medios esperados (Exp: *(Gli-Ctrl)+(Cip-Ctrl)*) y observados (Obs: *Mix-Ctrl*) en la densidad de: **a.** Cladocera, **b.** Copepoda y **c.** Rotifera (Log Ind. L<sup>-1</sup>) y desviación estándar. 0 indica ausencia de diferencias entre Ctrl y los tratamientos con plaguicidas, valores positivos indican mayor densidad en tratamientos respecto al Ctrl, y valores negativos indican menor densidad en tratamientos respecto al Ctrl. \*Interacción significativa entre plaguicidas

### 3.5. Discusión

#### 3.5.1. Ensayo de toxicidad aguda

Las CL50 de los plaguicidas aislados obtenidas para *C. dubia* están en congruencia con los reportadas en la bibliografía. Con respecto al formulado de glifosato (Atanor II), la CL50 24h obtenida ( $8,37 \text{ mg L}^{-1}$ ) se encuentra entre los valores medios registrados para *C. dubia*:  $6$  y  $5,7 \text{ mg L}^{-1}$  (Roundup 24 y 48h, [73]),  $4,84 \text{ mg L}^{-1}$  (Roundup Ultramax 48h, [17]); y  $14,49 \text{ mg L}^{-1}$  (Eskoba 48h, [74]). Sin embargo, algunos valores extremos reportados variaron entre  $0,02 \text{ mg L}^{-1}$  (Roundup 48h, [75])  $415$  y  $707 \text{ mg L}^{-1}$  (Rondeo 24 y 48h, [73]). Esta amplia variación en la toxicidad de diferentes formulados de glifosato demuestra que su toxicidad puede depender más del surfactante que del ingrediente activo [17, 76]. Con respecto al formulado de cipermetrina (Xiper 25), la CL50 24h obtenida ( $0,157 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) fue similar a los valores reportados para *C. dubia*:  $0,23 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  (Pestanal 48h, [77]) y  $0,89 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  (ingrediente activo 96h, [78]). En este trabajo se observa que *C. dubia* es mucho más sensible a la cipermetrina (insecticida) que al glifosato (herbicida). En concordancia, numerosos estudios han demostrado que los artrópodos acuáticos poseen una alta sensibilidad a los piretroides, siendo la CL50 48 h para la mayoría de ellos, menor a  $1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  [79].

En el presente estudio, la toxicidad letal de la mezcla de glifosato y cipermetrina en *C. dubia* sugiere una interacción sinérgica negativa entre ambas formulaciones de plaguicidas, ya que UTmix (0,53) fue  $< 1$  [36]. Brodeur y col. [52] reportaron el mismo efecto de interacción sinérgica exponiendo renacuajos (*Rhinella arenarum*) a mezclas de dos pares de formulaciones de glifosato y cipermetrina en tests de toxicidad. Sin embargo, Brodeur y col. [53] también reportaron un efecto de interacción antagónica exponiendo peces (*Cnesterodon decemmaculatus*) a mezclas del mismo par de formulaciones de plaguicidas.

Los resultados obtenidos en este capítulo, así como los relevados en la bibliografía consultada, indican que la interacción entre el glifosato y la cipermetrina depende de los grupos de organismos bajo estudio, siendo esta información de gran interés para agencias de regulación ambiental cuando se definen los organismos no-blanco a ser utilizados para los estudios de toxicidad.

Numerosos estudios han concluido que sólo el 5% de las mezclas muestran un efecto sinérgico dos veces mayor que el efecto hipotético aditivo [39, 80, 81]. En este sentido, el efecto sinérgico hallado en el presente estudio es de gran interés ya que la toxicidad de ambas formulaciones de plaguicidas en mezcla fue 3 y 4 veces mayor que sus toxicidades aisladas, para glifosato y cipermetrina, respectivamente. Asimismo, estos resultados ponen de manifiesto la relevancia de analizar efectos de mezclas de plaguicidas, debido a que, de no ser consideradas las posibles interacciones, se podrían estar subestimando los efectos sobre las poblaciones en condiciones naturales.

### 3.5.2. Experimento de mesocosmos

Los microcrustáceos, especialmente los cladóceros, son conocidos por ser particularmente sensibles a los insecticidas [82–84]. En concordancia, en este estudio, tanto Cladocera como Copepoda mostraron una alta sensibilidad en los tratamientos con cipermetrina (Cip y Mix). En cambio, la densidad de Rotífera aumentó en los tratamientos con plaguicidas, como fue reportado en estudios previos [20, 85, 86]. Los rotíferos podrían haberse beneficiado por la disminución de la densidad de microcrustáceos, ya que los primeros son menos competitivos por recursos tróficos [13]. Por otra parte, los rotíferos poseen ciclos de vida más cortos que los microcrustáceos y un metabolismo más rápido [87, 88], lo que puede implicar una detoxificación más rápida, todo esto contribuyendo a una más rápida tasa de recuperación cuando se enfrentan a disturbios ambientales. Además, la gran variabilidad de rasgos funcionales de los rotíferos comparada con los microcrustáceos, hacen a los primeros más exitosos y dominantes en un amplio rango de condiciones ambientales [89, 90].

Al igual que en el ensayo de toxicidad aguda con *C. dubia*, se observó una interacción sinérgica negativa entre las formulaciones de glifosato y cipermetrina para las densidades de Cladocera y Copepoda en el ensayo de mesocosmos. Si bien en ambos casos el efecto de los plaguicidas individuales fue opuesto, siendo negativo para cipermetrina y positivo para glifosato, el efecto combinado fue sinérgicamente negativo. En este sentido, Crain y col. [91] asumieron que la sinergia ocurre cuando el efecto de la mezcla es más negativo que la suma aditiva de los efectos individuales opuestos. Sin embargo, esta suposición puede sobreestimar la sinergia cuando el efecto de la mezcla es menos negativo que el efecto individual negativo [37]. En el presente estudio, el efecto negativo de la mezcla en las densidades de Cladocera y Copepoda fue superior al efecto negativo individual de la formulación de cipermetrina. Esto indicaría que hubo una interacción sinérgica negativa entre las formulaciones de glifosato y cipermetrina.

Los surfactantes, solventes o emulsionantes de las formulaciones de plaguicidas también pueden interferir en las interacciones entre plaguicidas. En este sentido, Brodeur y col. [52] reportaron diferencias en la magnitud del sinergismo entre dos pares diferentes de formulaciones de glifosato y cipermetrina. Por su parte, Reno y col. [92] reportaron que cuatro formulaciones comerciales de glifosato afectaron de manera diferente la tasa de crecimiento poblacional ( $R_0$ ) de *D. magna* y *C. dubia*. Esta información es de gran importancia ambiental ya que las formulaciones comerciales son mezclas en sí mismas (principio activo + coadyuvantes), dificultando predecir la magnitud de sus interacciones y efectos.

En el presente estudio se encontraron interacciones sinérgicas entre formulaciones de glifosato y cipermetrina tanto en el test monoespecífico de toxicidad aguda (*C. dubia*) como en el experimento de mesocosmos con un ensamble de zooplancton. Se sugiere continuar analizando efectos de mezclas de plaguicidas, particularmente abarcando escalas complementarias de análisis y diferentes organismos de prueba para obtener información ecotoxicológica con mayor relevancia ecológica.

En este sentido, se considera de gran importancia el desarrollo de estudios de campo, que permiten registrar concentraciones reales de las complejas mezclas de plaguicidas que convergen en los cuerpos de agua y su posible efecto en comunidades biológicas clave, tales como el zooplancton. Asimismo, permiten evaluar la incidencia de factores tales como las precipitaciones en la deriva de plaguicidas y nutrientes hacia arroyos donde estas comunidades habitan. Estos aspectos serán desarrollados en los siguientes capítulos.

## **4. Capítulo 2: Incidencia de las precipitaciones en la deriva de plaguicidas y nutrientes hacia arroyos en la región central de la provincia de Santa Fe**

### **4.1. Introducción**

En las últimas décadas se ha producido una diversificación y un aumento de las cantidades de plaguicidas aplicados, particularmente relacionados al cultivo de semillas transgénicas, como consecuencia de la intensificación de las prácticas agrícolas [93], en Argentina, este proceso se ha dado principalmente en las zonas más fértiles, como la región pampeana [8]. Los plaguicidas pueden alcanzar los cuerpos de agua por deriva, ya sea por lixiviación, volatilización o escorrentía [2]. Se considera que la escorrentía por lluvias es una de las principales vías de ingreso de los agroquímicos a los cuerpos de agua superficiales [7], causando deterioro ambiental de los sistemas acuáticos [1].

En el contexto de cambio climático que atravesamos, se prevé que la intensificación de los eventos meteorológicos en la región pampeana, principalmente en las estaciones de primavera y verano, produzca un incremento de los plaguicidas y nutrientes en los ambientes acuáticos, al coincidir con el período de máximas aplicaciones de agroquímicos de la región [94, 95].

Son numerosos los factores que pueden incidir en la dinámica del ingreso de plaguicidas y nutrientes en cuerpos de agua dulce. Entre ellos se destaca la frecuencia e intensidad de los eventos de precipitación y su proximidad al momento de aplicación de los agroquímicos [96]. Otro factor de gran incidencia es el estado fenológico de los cultivos, ya que en cada etapa (pre-emergencia: barbecho químico y siembra, post-emergencia: crecimiento vegetativo, floración y llenado de granos) se aplican compuestos diferentes, según los momentos de fertilización y si los plaguicidas son pre- y/o post-emergentes según sus funciones y potencialidad de afectar al cultivo. En consecuencia, se están implementando diversos tipos de barreras o de zonas *buffer* con vegetación y/o zanjas para aletargar la escorrentía de agua de lluvia y mitigar el ingreso de agroquímicos (plaguicidas y fertilizantes) en los cuerpos de agua [97, 98]. Sin embargo, la mayoría de estos estudios aún se encuentran bajo experimentación, siendo escasas las investigaciones a escala de campo sin control de la aplicación de los agroquímicos, las precipitaciones, y el destino de la escorrentía. Si bien los estudios con control de variables [ej. 31, 96, 99] aportan gran información respecto al destino de los agroquímicos, es importante evaluar qué sucede en condiciones sin manipulación. Se han realizado numerosos estudios de monitoreos de plaguicidas tanto en Argentina como en otros países [ej. 33, 48, 100–105], sin embargo, los mismos rara vez consideran los eventos de lluvia. Por lo tanto, las concentraciones máximas de plaguicidas en los ambientes podrían estar siendo subestimadas [96].

## 4.2. Objetivo del capítulo

El objetivo de este capítulo fue analizar cómo eventos de precipitaciones y el estado fenológico de los cultivos pueden influir en la calidad de agua (medida en función de las concentraciones de plaguicidas y nutrientes) de 3 arroyos de la región central de la provincia de Santa Fe. Con este propósito, se realizaron cinco campañas de muestreo antes y después de eventos de lluvia de diferente intensidad durante dos etapas fenológicas de los cultivos de soja para: 1) analizar los efectos de las precipitaciones (de aquí en más, “evento” de precipitación) en las concentraciones de plaguicidas y nutrientes del agua de los arroyos, 2) analizar el efecto del estado fenológico de los cultivos en la calidad del agua de los arroyos, y 3) analizar las principales variables (características tanto propias de los plaguicidas como del ambiente) que determinan el número y porcentaje de plaguicidas en agua de escorrentía.

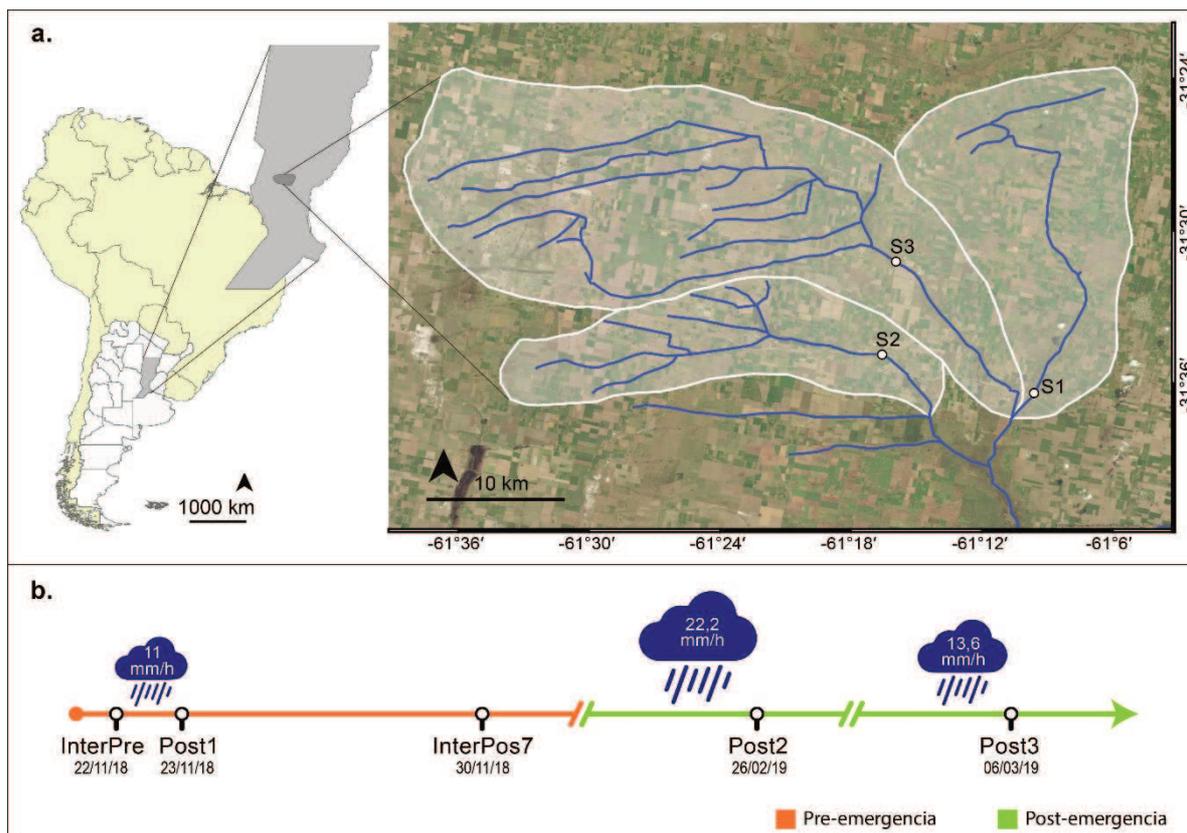
Esperamos que el evento de precipitaciones produzca un aumento en las concentraciones de plaguicidas y nutrientes en el agua de los arroyos. El estado fenológico de los cultivos puede incidir en esta dinámica, siendo determinantes los diferentes agroquímicos (plaguicidas y fertilizantes) aplicados en las diferentes etapas fenológicas de los cultivos. Variables como la pendiente lateral, el área de la subcuenca, el caudal de escorrentía y el porcentaje de vegetación ribereña leñosa también pueden ser factores determinantes de la deriva de plaguicidas por escorrentía.

## 4.3. Materiales y Métodos

### 4.3.1. Área de estudio

El área de estudio se ubica en el centro de la provincia de Santa Fe (Figura 5a.), en la región Pampeana, la llanura más fértil de la Argentina [106]. El tipo de suelo es Molisol (gran grupo Argiudol, subgrupo típico y ácuico), con textura superficial franco limosa y textura subsuperficial arcillo limosa [107]. Posee un clima templado con mayor frecuencia de precipitaciones abundantes durante la primavera y el verano [95] y un promedio anual de precipitaciones de 1100 mm [106]. En el área de estudio la agricultura es la principal actividad humana, predominando en gran medida el cultivo de soja (aprox. 40% de la superficie de suelo), seguido por el maíz (10%) y en menor medida, trigo y girasol (Dirección Nacional de Estimaciones Agrícolas [108]).

Se seleccionaron tres sitios de muestreo en tres arroyos de segundo y tercer orden con subcuencas independientes: S1 (31°36'23,4" S, 61°9'34,6" O), S2 (31°34'53,2" S, 61°16'34,2" O) y S3 (31°31'13,7" S, 61°15'55,8" O) (Figura 5a.). Los mismos fueron seleccionados dentro de un radio de 7 km de modo de asegurarnos de que sean igualmente afectados por eventos de lluvia considerables.



**Figura 5 a.** Área de estudio. Sudamérica, Argentina, provincia de Santa Fe y los tres sitios de muestreo (S1, S2 y S3) con sus correspondientes subcuencas de drenaje. **b.** Línea del tiempo de las campañas de muestreo realizadas en los tres sitios mostrando el diseño del estudio en relación a tres eventos de precipitaciones con diferente intensidad (especificada en el dibujo en forma de nube) y dos estados fenológicos diferentes del cultivo de soja (color de la línea del tiempo). Se realizaron 5 muestreos: 2 muestreos en períodos inter lluvias: 1 día antes del primer evento de lluvia (InterPre) y 7 días después del evento (InterPos7), y 3 muestreos post lluvia: 1 día después de cada evento de precipitación (Post1, Post2 y Post3)

#### 4.3.2. Diseño de estudio

El diseño del estudio se resume en la Figura 5b. Se realizaron 5 muestreos durante primavera y verano (noviembre 2018 – marzo 2019) en relación a 3 eventos de lluvia de diferente intensidad y dos estados fenológicos diferentes de cultivo de soja. Durante la pre-emergencia de los cultivos se realizaron 2 muestreos en períodos inter lluvias: 1 día antes del primer evento de lluvia (InterPre, 22-Nov) y 7 días después del evento (InterPos7, 30-Nov), y 1 muestreo post lluvia luego de dicho evento (Post1, 23-Nov). Durante la post-emergencia de los cultivos se realizaron dos muestreos “post lluvia” luego de dos eventos de lluvia diferentes (Post2, 26-Feb y Post3, 6-Mar).

En cada muestreo se midió *in situ* la conductividad ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ ), el OD (%), el pH y la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) (medidor portátil multiparámetro Hanna). Simultáneamente, se tomaron muestras de agua de los arroyos

(500 mL) para el análisis de nutrientes (amonio, nitratos, nitritos y FRS), color (PtCo), turbidez (FTU), DBO ( $\text{mg L}^{-1}$ ) y clorofila *a* ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) siguiendo a APHA, [54].

En cada muestreo se tomaron muestras de agua de los arroyos en botellas de vidrio color caramelo de 1 L para el análisis de plaguicidas. El agua de escorrentía (E1, E2 y E3) para el análisis de plaguicidas fue colectada luego de los eventos de lluvia (Post1, Post2 y Post3), mediante botellas de 1 L que fueron previamente enterradas al ras del suelo, cada una cubierta con un techo para evitar el ingreso directo de agua de lluvia. Se colocaron 9 botellas por sitio en la ribera de los arroyos y se tomó un *pool* de las mismas por cada sitio y muestreo. Se tomaron muestras de sedimento (contenedores plásticos de 500 mL) en cada tiempo de muestreo y sitio para el análisis de plaguicidas.

#### 4.3.3. Variables geomorfológicas e hidrológicas

La intensidad de precipitaciones ( $\text{mm s}^{-1}$ ) se estimó con información del SIGA-INTA (Sistema de Información y Gestión Agrometeorológica-INTA [109]) y los registros de precipitaciones de las localidades aledañas [110].

El caudal de los arroyos fue estimado en cada punto de muestreo midiendo el ancho y la profundidad en varios puntos de una sección de cada arroyo y determinando la velocidad a través de un objeto flotante. Se aplicó un factor de conversión de 0,85 para calcular la velocidad media y luego multiplicarla por el área de la sección, siguiendo a Bain y Stevenson [111].

El caudal de escorrentía fue estimado a través del método del Servicio de Conservación del Suelo (SCS) [112] del siguiente modo:

$$(4) Q = \frac{(P-0.2D)^2 \frac{A10^4}{1000}}{t}$$

Donde Q = caudal estimado de escorrentía ( $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$ )

P = precipitaciones (mm)

A = área de la cuenca (Ha)

t = tiempo de precipitación (s)

D = diferencia máxima potencial entre lluvia y escorrentía (mm), calculada del siguiente modo:

$$(5) D = \frac{25400}{CN} - 254$$

donde CN = número de curva, que depende del tipo de suelo, el uso de la tierra y cobertura del suelo.

El tiempo de concentración, definido como el tiempo requerido para que el agua ubicada en el punto más remoto de la cuenca llegue al final de la misma [113], fue estimado siguiendo el método del SCS [112] del siguiente modo:

$$(6) T_c = L^{0.8} \frac{\left(\frac{1000}{CN} - 9\right)^{0.7}}{4407 (S_g)^{0.5}}$$

donde:  $T_c$  = tiempo de concentración (h)

$L$  = longitud del curso más largo (m)

$S_g$  = pendiente promedio de la cuenca (m/m)

CN = número de curva.

La cobertura de vegetación ribereña fue estimada por observación directa y expresada como el porcentaje de vegetación leñosa (arbustos + árboles) y herbácea. Las pendientes lateral y longitudinal fueron calculadas para cada arroyo mediante cartas topográficas 1:50.000 (Instituto Geográfico Militar, [114]).

#### 4.3.4. Análisis de plaguicidas

Los plaguicidas en agua y sedimento fueron analizados mediante extracción QuEChERS (sigla en inglés para rápida, fácil, barata, efectiva, robusta y segura -Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe-) y determinados por cromatografía líquida y gaseosa acoplada a espectrometría de masas (LC-MS/MS+GC-MS/MS), y derivatización con Fluorenilmetilossicarbonil cloruro (FMOC-Cl), limpieza por EFS (Extracción en Fase Sólida) y determinación por LC-MS/MS para glifosato, glufosinato y el ácido aminometilfosfónico (AMPA). LC: 0,1  $\mu\text{g L}^{-1}$  y LD: 0,03  $\mu\text{g L}^{-1}$  con excepción de glifosato, glufosinato y AMPA, LC: 0,6  $\mu\text{g L}^{-1}$ , LD: 0,18  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Los plaguicidas fueron agrupados según su solubilidad del siguiente modo: muy alta: > 100 (MAltSolub), alta 10 – 100 (AltSolub), media 1 – 10 (MedSolub), baja 0,1 – 1 (BajSolub) y muy baja <0,1  $\text{mg L}^{-1}$  (MBajSolub) [115]. Además, los plaguicidas fueron agrupados en relación a su afinidad por el suelo del siguiente modo: móvil: 1 – 2 (Mov), moderadamente móvil: 2 – 3 (ModMov) y ligeramente móvil: 3 – 4 Log Koc (LigMov) [115] (Anexo II).

#### 4.3.5. Análisis de datos

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para observar la distribución de las campañas de muestreo respecto a la calidad del agua de los arroyos en relación al efecto de las precipitaciones, su intensidad y el estado fenológico de los cultivos. Las variables explicativas a incorporar se seleccionaron en vistas de evitar la colinealidad entre las mismas y excluyendo aquellas con menor poder explicativo.

Para analizar la significancia de los efectos del evento de lluvia en la calidad del agua de los arroyos se realizó un análisis multivariado de la varianza (MANOVA) de un factor con 3 niveles (InterPre, Post1 e InterPos7), con las variables de interés seleccionadas en el análisis anterior. Adicionalmente, para cada variable en particular (nutrientes, turbidez, DBO, clorofila *a*, pH, conductividad y OD), se realizaron análisis de la varianza de medidas repetidas (MRANOVA) para analizar la significancia de su variación en el tiempo luego del evento de lluvia. Se aplicó el test a posteriori de Tukey para analizar las diferencias entre los muestreos ( $p < 0,05$ ).

Para analizar la significancia de los efectos del estado fenológico de los cultivos en la calidad del agua de los arroyos en los muestreos post lluvia (Post1, Post2 y Post3) se realizó un MANOVA de un factor con 2 niveles (pre-emergencia y post-emergencia), con la intensidad de las precipitaciones como covariable y con las variables de interés seleccionadas en el análisis anterior. Se realizaron análisis de la varianza (ANOVA) de un factor para analizar la significancia de las diferencias de las variables de interés (nutrientes, turbidez, DBO, clorofila *a*, pH, conductividad y OD) entre los muestreos post lluvia (Post1, Post2 y Post3). Se aplicó el test a posteriori de Tukey para analizar las diferencias entre los muestreos ( $p < 0,05$ ).

Para analizar específicamente cuáles variables determinan el número y porcentaje de los plaguicidas (variables respuesta) detectados en el agua de escorrentía, se realizaron modelos lineales generalizados (MLG) con ajuste de Poisson. Para este análisis se consideraron una serie inicial de variables propias de los plaguicidas (solubilidad y movilidad) y ambientales (pendiente lateral, área de la subcuenca, porcentaje de vegetación ribereña leñosa, intensidad de la precipitación y caudal estimado de escorrentía) como potenciales predictores. A partir de dichas variables, se testearon numerosos modelos con una, dos o tres variables combinadas. Los diferentes modelos fueron comparados en base al criterio de información Akaike (CIA), su significancia estadística y el porcentaje de explicación [116]. También se calculó la diferencia entre el valor más bajo de AIC y el AIC de todos los demás modelos ( $\Delta AIC$ ) para establecer un orden de los modelos potenciales [116].

Los análisis fueron realizados utilizando los programas RStudio (v.1.2.5042) (paquetes *vegan* y *FactoMineR*) y CANOCO (v.5.0).

#### **4.4. Resultados**

En la Tabla 3 se puede observar un resumen de las variables ambientales, geomorfológicas e hidrológicas para cada sitio. El S3 posee una subcuenca de drenaje considerablemente más grande, un mayor caudal de escorrentía y menor caudal del arroyo en el punto de muestreo, el S1 presentó menor OD y menor pendiente longitudinal. La cobertura de vegetación leñosa de las riberas fue mayor en el S2 (95%) y menor en el S3 (10%).

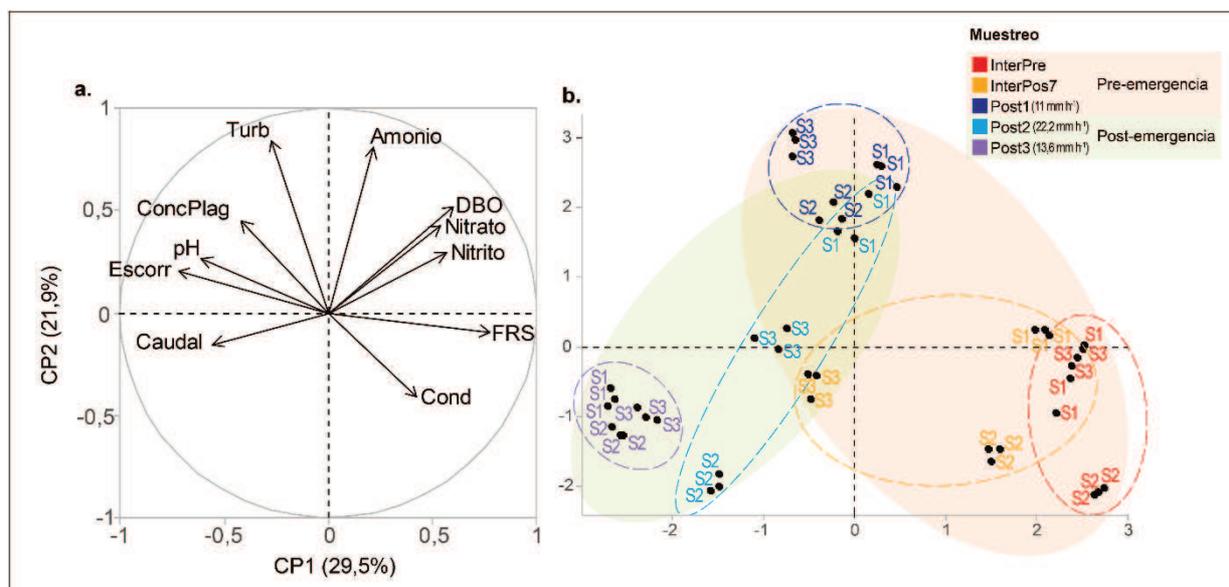
En el sedimento de los arroyos se detectaron diferentes plaguicidas: bifentrin, atrazina, metolacloro y glifosato y su producto de degradación: AMPA, con tendencias variables entre sitios (Ver Anexo I). Las concentraciones máximas detectadas correspondieron a los plaguicidas ligeramente móviles: glifosato: 4  $\mu\text{g Kg}^{-1}$  y AMPA: 10  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ , los otros plaguicidas se encontraron por debajo del LC (10  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ ).

**Tabla 3** Rangos y valores de variables ambientales, geomorfológicas e hidrológicas para los 3 sitios de muestreo

		S1	S2	S3
Variables ambientales	Amonio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	32,4 - 307	0 - 174,3	0 - 208,4
	Nitritos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	11,4 - 105,4	3 - 55,3	6,4 - 59,0
	Nitratos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	84 - 1954	0 - 800	80 - 602
	FRS ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	923,6 - 1791,4	951,4 - 2070	1011,4 - 2168,6
	Clorofila <i>a</i> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0 - 12	0 - 9,4	2,4 - 11,5
	DBO ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	8,2 - 43,1	6,3 - 46,3	6,7 - 45,9
	Turbidez (FTU)	28 - 90	7 - 98	33 - 128
	Conductividad ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ )	235 - 614	519 - 1837	341 - 887
	Oxígeno disuelto (%)	41,4 - 64,2	72,1 - 81,5	62,8 - 73,8
	pH	6,9 - 7,9	7,2 - 7,8	7,7 - 8,4
Variables geomorfológicas e hidrológicas	Orden	2°	3°	3°
	Caudal ( $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$ )	3,5 - 12	2,9 - 9,6	1,1 - 3,8
	Área de la subcuenca (ha)	27,9	19,2	57,2
	Pendiente longitudinal (%)	0,04	0,11	0,10
	Pendiente lateral (%)	0,20	0,33	0,17
	Tiempo de concentración (h)	113,1	74,4	107,3
	Caudal estimado de escorrentía ( $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$ )	0,28 - 0,46	0,19 - 0,32	0,57 - 0,95
	Vegetación ribereña leñosa (%)	40	95	10

S1, S2 y S3: sitios 1, 2 y 3; FRS: fósforo reactivo soluble; DBO: demanda biológica de oxígeno

El primer componente (CP1) del ACP de la calidad del agua de los arroyos en los diferentes muestreos realizados, representó el 29,5% de la inercia total y el segundo componente (CP2), el 21,9% (Figura 6a.). En el ordenamiento de los muestreos (Figura 6b.) no se observó una distinción entre sitios (S1, S2 y S3), diferenciándose principalmente las diferentes campañas de muestreo. Los muestreos realizados en períodos inter lluvia en relación al primer evento de precipitación (InterPre e InterPos7) se diferenciaron del muestreo posterior a dicho evento (Post1). A su vez, estos muestreos realizados durante la pre-emergencia de los cultivos de soja se diferenciaron de los muestreos realizados durante la post-emergencia de los mismos (Post2 y Post3). Estas diferencias serán analizadas en detalle en los siguientes apartados, considerando además la posible incidencia de la intensidad de las precipitaciones.



**Figura 6** ACP de la calidad del agua de los 3 arroyos (S1, S2 y S3) en los muestreos realizados en los períodos inter lluvias: InterPre e InterPos7, y post lluvias: Post1, Post2 y Post3 (intensidad de precipitaciones entre paréntesis) (elipses con guiones), tanto en pre-emergencia de cultivos, como en post-emergencia (elipses coloreados). **a.** Círculo de correlación. **b.** Distribución de los muestreos y sitios. Escorr: caudal de escorrentía probable, ConcPlag: concentración total de plaguicidas, Turb: turbidez. Cond: conductividad, FRS: fósforo reactivo soluble, DBO: demanda biológica de oxígeno

#### 4.4.1. Evento de precipitación: efecto en la calidad del agua de los arroyos

El evento de precipitación afectó significativamente la calidad del agua de los arroyos. En el período pre-emergencia, la calidad del agua del muestreo post lluvia (Post1) fue significativamente diferente del muestreo pre lluvia (InterPre) y del muestreo 7 días después del evento (InterPos7) (MANOVA  $p < 0,001$   $F = 297,8$ ). Entre estos dos últimos muestreos inter lluvia no hubo diferencias estadísticamente significativas (Figura 6b.).

Entre las variables indicativas de la calidad del agua, se puede destacar que la concentración de amonio aumentó significativamente el día después de la lluvia y disminuyó 7 días después (MRANOVA  $p = 0,016$ ). El FRS disminuyó significativamente el día después de la lluvia y tendió a continuar decreciendo 7 días después (MRANOVA  $p = 0,003$ ). Las concentraciones de nitritos y nitratos no fueron afectadas significativamente por el evento de lluvia y mostraron diferentes patrones entre sitios (MRANOVA  $p = 0,69$  y  $0,74$  respectivamente) (Tabla 4).

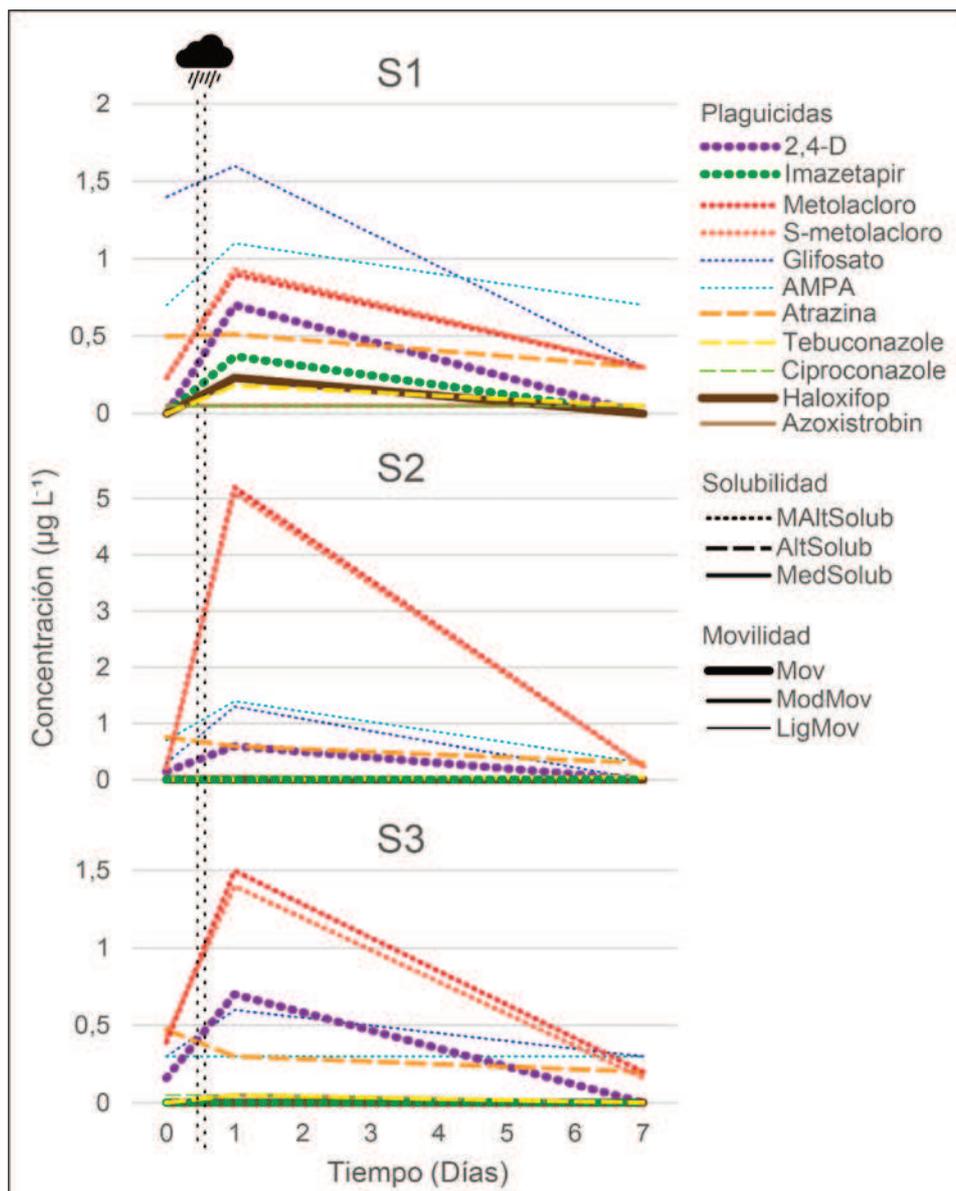
La turbidez aumentó significativamente y la DBO tendió a aumentar el día después del evento de lluvia, ambas disminuyeron significativamente 7 días después (MRANOVA  $p = 0,006$  y  $0,007$  respectivamente). La clorofila *a* disminuyó y el pH aumentó significativamente el día después de la lluvia y ambos tendieron a disminuir 7 días después (MRANOVA  $p = 0,005$  y  $0,03$  respectivamente). La conductividad y el OD disminuyeron en todos los sitios el día después de la lluvia (Tabla 4).

**Tabla 4** Promedio y desviación estándar de las variables ambientales en los muestreos realizados en relación al primer evento de precipitaciones

	Amonio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Nitritos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Nitratos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	FRS ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Clorofila <i>a</i> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
InterPre	95,3 $\pm$ 83,5	42,1 $\pm$ 10,0	614,3 $\pm$ 184,3	<b>1997,5 <math>\pm</math> 186,5</b>	<b>10,4 <math>\pm</math> 2,1</b>
Post1	<b>215,8 <math>\pm</math> 72,0</b>	31,5 $\pm$ 3,9	648,9 $\pm$ 111,8	1348,1 $\pm$ 78,2	5,0 $\pm$ 0,4
InterPos7	24,8 $\pm$ 21,5	50,5 $\pm$ 44,6	848,9 $\pm$ 770,6	1244,8 $\pm$ 25,1	3,2 $\pm$ 0,4
	DBO ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Turbidez (FTU)	Conductividad ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ )	Oxígeno disuelto (%)	pH
InterPre	40,4 $\pm$ 5,6	26,3 $\pm$ 18,6	821,3 $\pm$ 183,5	66,5 $\pm$ 14,7	<b>7,3 <math>\pm</math> 0,4</b>
Post1	45,1 $\pm$ 1,8	<b>97,3 <math>\pm</math> 24,0</b>	512,0 $\pm$ 349,0	59,9 $\pm$ 17,3	7,8 $\pm$ 0,4
InterPos7	<b>31,1 <math>\pm</math> 2,6</b>	55,9 $\pm$ 7,3	964,0 $\pm$ 758,4	68,3 $\pm$ 4,7	7,7 $\pm$ 0,6

InterPre: muestreo 1 día antes de la lluvia; Post1: muestreo 1 día después; InterPos7: muestreo 7 días después. Tipografía negrita: diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

La concentración de la mayoría de los plaguicidas en agua de los arroyos aumentó el día después de la lluvia y disminuyó 7 días después en todos los sitios. Sólo la atrazina mostró un patrón diferente disminuyendo después del evento de lluvia (Figura 7). El aumento observado en las concentraciones de plaguicidas luego del evento de lluvia se debió principalmente a plaguicidas con MAltSolub (+310%) seguidos por plaguicidas con MedSolub (+280). Siete días después ambos plaguicidas MAltSolub y MedSolub decrecieron en proporciones similares (-86% y -87%, respectivamente). Sin embargo, la concentración relativa (% de la concentración total de plaguicidas) de plaguicidas MAltSolub fue mayor (Bef1: 74%, Aft1: 92% y Aft7: 75%) que plaguicidas MedSolub (Bef1: 1,3%, Aft1: 1,5% y Aft7: 1,1%) (Figura 7). Con respecto a la movilidad en el suelo (Log Koc), el incremento en las concentraciones de los plaguicidas luego del evento de lluvia se debió principalmente a pesticidas Mov (+622%), seguidos por pesticidas ModMov (+374%) y en último lugar, pesticidas LigMov (+68%). Siete días después los pesticidas Mov no fueron detectados (-100%), los ModMov decrecieron en un -85% y los LigMov, en un -69%. Sin embargo, la concentración relativa de los plaguicidas Mov fue menor (Bef1: 4%, Aft1: 10% y Aft7: 0%) que la de plaguicidas ModMov (Bef1: 46%, Aft1: 65% y Aft7: 55%) y LigMov (Bef1: 50%, Aft1: 25% y Aft7: 45%) (Figura 7).



**Figura 7** Concentración de plaguicidas ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) en el agua de los 3 arroyos (S1, S2 y S3) 1 día antes (InterPre) y 1 (Post1) y 7 días (InterPos7) después del evento de precipitación. Solubilidad: Muy alta:  $> 100$  (MAltSolub), Alta:  $10 - 100$  (AltSolub), Media:  $1 - 10 \text{ mg L}^{-1}$  (MedSolub). Movilidad: Movable:  $1 - 2$  (Mov), Moderadamente movable:  $2 - 3$  (ModMov), Ligeramente movable:  $3 - 4 \text{ Log Koc}$  (LigMov). 2,4-D: ácido 2,4-diclorofenoxiacético, AMPA: ácido aminometilfosfónico

#### 4.4.2. Estado fenológico: efectos en el agua de los arroyos

Se observaron diferencias significativas en la calidad del agua de los arroyos en relación al estado fenológico de la soja, el principal cultivo desarrollado en la región, dado que Post1 fue realizado durante la pre-emergencia y Post2 y Post3, durante la post-emergencia (MANOVA  $p < 0,001$   $F = 4719,6$ ) (Figura 6). En efecto, el muestreo realizado en pre-emergencia se caracterizó por tener mayor FRS, amonio, DBO, turbidez (ANOVA  $p = 0,007, 0,001, <0,001$  y  $0,07$ , respectivamente) (Tabla 5) plaguicidas con

MAltSolub y ModMov, en particular metolacloro y s-metolacloro, herbicidas pre-emergentes aplicados en el barbecho químico.

**Tabla 5** Promedios y desviaciones estándar de las variables ambientales 1 día después de 3 eventos de lluvia diferentes

	Amonio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Nitritos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Nitratos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	FRS ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Clorofila <i>a</i> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Post1	<b>215,8</b> $\pm$ 72,0	31,5 $\pm$ 3,9	648,9 $\pm$ 111,8	<b>1348,1</b> $\pm$ 78,2	5,4 $\pm$ 1,0
Post 2	42,8 $\pm$ 43,1	53,5 $\pm$ 37,9	755,6 $\pm$ 976,4	1035,5 $\pm$ 89,7	<b>8,4</b> $\pm$ <b>1,8</b>
Post 3	25,6 $\pm$ 24,9	7,6 $\pm$ 3,9	100,8 $\pm$ 87,3	1031,9 $\pm$ 50,6	4,5 $\pm$ 1,3
	DBO ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Turbidez (FTU)	Conductividad ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ )	Oxígeno disuelto (%)	pH
Post1	<b>45,1</b> $\pm$ <b>1,8</b>	97,3 $\pm$ 24,0	512,0 $\pm$ 349,0	59,9 $\pm$ 17,3	7,8 $\pm$ 0,4
Post 2	10,7 $\pm$ 1,1	67,7 $\pm$ 27,4	698,0 $\pm$ 201,8	71,9 $\pm$ 6,9	7,7 $\pm$ 0,0
Post 3	7,1 $\pm$ 1,0	45,4 $\pm$ 11,8	375,0 $\pm$ 130,4	64,5 $\pm$ 16,6	7,8 $\pm$ 0,1

Post1, Post2 y Post3: muestreos 1 día después de 3 eventos de precipitaciones. Tipografía negrita: diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

#### 4.4.3. Agua de escorrentía

Los MLG candidatos para el número y porcentaje de los plaguicidas detectados en agua de escorrentía mostraron que el área de la subcuenca, la solubilidad y el porcentaje de vegetación ribereña leñosa resultaron ser los principales predictores. Todos los modelos testeados con dichas variables fueron estadísticamente significativos (Tablas 6 y 7).

A partir de los resultados obtenidos de las comparaciones entre los MLG, en la Tabla 8. se describen los modelos finales para el número y porcentaje de los plaguicidas que incluyen las tres variables mencionadas. En ambos modelos, el área de la subcuenca y la solubilidad se correlacionaron positivamente con las variables respuestas (a mayor área y solubilidad, mayor número y porcentaje de los plaguicidas detectados en agua). Contrariamente, la cobertura de vegetación ribereña leñosa (árboles más arbustos) se correlacionó negativamente, indicando que dicho factor actuaría como barrera, limitando el número y porcentaje de los plaguicidas que escurre hacia el cuerpo de agua.

**Tabla 6** Estadísticos de los MLG candidatos para describir el número de plaguicidas detectados en agua de escorrentía

<b>Modelos candidatos</b>					
<b>Variable respuesta: número de plaguicidas</b>					
	<b>K</b>	<b>CIA</b>	<b>ΔCIA</b>	<b>p</b>	<b>%</b>
<i>Predictores individuales</i>					
AreaCuenc (ha)	2	44,75	0	0,004	65,6
SolubALTA ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2	46,37	1,62	0,009	58,9
LeñosaRib (%)	2	46,9	2,15	0,01	56,1
Movible ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2	48,11	3,36	0,02	50,1
Escorr ( $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$ )	2	49,1	4,35	0,03	44,1
PendLat (%)	2	49,92	5,17	0,04	39
IntPrecip ( $\text{mm h}^{-1}$ )	2	54,82	10,07	0,54	8
Precip (mm)	2	55,29	10,54	0,65	3
<i>Predictores combinados</i>					
<b>SolubALTA+LeñosaRib</b>	<b>3</b>	<b>48,34</b>	<b>0</b>	<b>0,008</b>	<b>73,2</b>
<b>AreaCuenc+LeñosaRib</b>	<b>3</b>	<b>49,08</b>	<b>0,74</b>	<b>0,01</b>	<b>70,8</b>
AreaCuenc+SolubALTA	3	50,35	2,01	0,01	66,4
AreaCuenc+SolubALTA+LeñosaRib	4	59,12	10,78	0,02	71,9
<i>Otros predictores combinados (modelos alternativos)</i>					
<b>SolubALTA+IntPrecip</b>	<b>3</b>	<b>47,82</b>	<b>0</b>	<b>0,006</b>	<b>74,6</b>
<b>PendLat+LeñosaRib</b>	<b>3</b>	<b>49,08</b>	<b>1,26</b>	<b>0,01</b>	<b>70,8</b>
<b>PendLat+AreaCuenc</b>	<b>3</b>	<b>49,08</b>	<b>1,26</b>	<b>0,01</b>	<b>65</b>
<b>AreaCuenc+IntPrecip</b>	<b>3</b>	<b>49,14</b>	<b>1,32</b>	<b>0,01</b>	<b>70,6</b>
<b>SolubALTA+IntPrecip+LeñosaRib</b>	<b>4</b>	<b>49,98</b>	<b>2,16</b>	<b>0,002</b>	<b>89,8</b>
<b>PendLat+AreaCuenc+Precip</b>	<b>4</b>	<b>59,74</b>	<b>11,92</b>	<b>0,03</b>	<b>69,9</b>

K: número de parámetros estimados; CIA: Criterio de información de Akaike; ΔCIA: diferencia entre el valor más bajo de CIA y CIA de todos los demás modelos; p: valor de significancia estadística; %: porcentaje de explicación de cada modelo; AreaCuenc: área de la subcuenca; SolubALTA: plaguicidas MAltSolub+AltSolub; LeñosaRib: cobertura ribereña leñosa; Movible: plaguicidas Mov; Escorr: caudal de escorrentía probable; PendLat: pendiente lateral; IntPrecip: intensidad de precipitaciones; Precip: precipitaciones. Tipografía negrita: modelos/variables seleccionadas en relación al CIA, significancia estadística y porcentaje de explicación.

**Tabla 7** Estadísticos de los MLG candidatos para describir el porcentaje de plaguicidas detectados en agua de escorrentía

<b>Modelos candidatos</b>					
<b>Variable respuesta: porcentaje de plaguicidas</b>					
	<b>K</b>	<b>CIA</b>	<b>ΔCIA</b>	<b>p</b>	<b>%</b>
<i>Predictores individuales</i>					
AreaCuenc (ha)	2	75,62	0	0,004	65,6
SolubALTA ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2	77,26	1,64	0,009	58,9
LeñosaRib (%)	2	77,83	2,21	0,01	56,1
Movible ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2	78,97	3,35	0,02	50,1
Escorr ( $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$ )	2	80,01	4,39	0,03	44,1
PendLat (%)	2	80,78	5,16	0,04	39
IntPrecip ( $\text{mm h}^{-1}$ )	2	85,67	10,05	0,54	8
Precip (mm)	2	86,15	10,53	0,65	3
	2				
<i>Predictores combinados</i>					
<b>SolubALTA+LeñosaRib</b>	<b>3</b>	<b>79,2</b>	<b>0</b>	<b>0,008</b>	<b>73,2</b>
<b>AreaCuenc+LeñosaRib</b>	<b>3</b>	<b>79,95</b>	<b>0,75</b>	<b>0,01</b>	<b>70,8</b>
AreaCuenc+SolubALTA	3	81,22	2,02	0,02	66,4
AreaCuenc+SolubALTA+LeñosaRib	4	89,99	10,79	0,02	71,9
<i>Otros predictores combinados (modelos alternativos)</i>					
<b>LeñosaRib+PendLat</b>	<b>3</b>	<b>79,95</b>	<b>0</b>	<b>0,01</b>	<b>70,8</b>
<b>LeñosaRib+IntPrecip</b>	<b>3</b>	<b>81,91</b>	<b>1,96</b>	<b>0,03</b>	<b>59,5</b>
<b>SolubALTA+IntPrecip+PendLat</b>	<b>4</b>	<b>82,71</b>	<b>2,76</b>	<b>0,003</b>	<b>87,5</b>

K: número de parámetros estimados; CIA: Criterio de información de Akaike;  $\Delta$ CIA: diferencia entre el valor más bajo de CIA y CIA de todos los demás modelos; p: valor de significancia estadística; %: porcentaje de explicación de cada modelo; AreaCuenc: área de la subcuenca; SolubALTA: plaguicidas MAltSolub+AltSolub; LeñosaRib: cobertura ribereña leñosa; Movible: plaguicidas Mov; Escorr: caudal de escorrentía probable; PendLat: pendiente lateral; IntPrecip: intensidad de precipitaciones; Precip: precipitaciones. Tipografía negrita: modelos/variables seleccionadas en relación al CIA, significancia estadística y porcentaje de explicación.

**Tabla 8** Modelos finales indicando las variables con mayor poder explicativo del número y porcentaje de plaguicidas detectados en agua de escorrentía

<b>Modelos finales</b>				
	<b>b</b>	<b>SE</b>	<b>T</b>	<b>p(T)</b>
<b>Número de plaguicidas</b>				
AreaCuenc (ha)	0,1	0,03	3,07	< 0,02
SolubALTA ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,03	0,01	3,52	< 0,01
LeñosaRib (%)	-0,01	0,003	-3,6	< 0,01
<b>% plaguicidas</b>				
AreaCuenc (ha)	0,03	0,01	3,52	< 0,01
SolubALTA ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,1	0,03	3,07	< 0,02
LeñosaRib (%)	-0,01	0,003	-3,6	< 0,01

B: pendiente de la relación; SE error estándar; T: estadístico del modelo; p(T): valor de significancia de la variable; AreaCuenc: área de la subcuenca; SolubALTA: plaguicidas MAltSolub+AltSolub; LeñosaRib: cobertura ribereña leñosa

## 4.5. Discusión

### 4.5.1. Evento de precipitación: efecto en la calidad del agua de los arroyos

El evento de precipitación tuvo un efecto sustancial sobre la calidad del agua de los arroyos. El aumento observado luego del evento de lluvia del amonio y la turbidez puede deberse a un ingreso de materia orgánica (MO) alóctona, y partículas de suelo arrastrando los nutrientes asociados a ellas [117]. Numerosos estudios han descripto la escorrentía de MO por precipitaciones en relación a diferentes usos de la tierra. Lee y col. [118] reportaron que las contribuciones de MO alóctona de zonas rurales e industriales aumentó durante la estación lluviosa en un lago en Corea. También, Shang y col. [119] reportaron que las cuencas con la mayor proporción de uso de la tierra agrícola presentaron una mayor proporción de deriva de suelo y MO en los Estados Unidos. El evento de precipitación también provocó un aumento de DBO, la misma tendencia fue hallada por Almada y col. [120], quienes argumentaron que esto pudo deberse al incremento del consumo de oxígeno para la descomposición de la MO alóctona arrastrada por las precipitaciones.

La concentración de la mayoría de los plaguicidas en agua de los arroyos aumentó en todos los sitios el día después de la lluvia, y disminuyó luego de 7 días. Estos resultados muestran una clara relación entre las concentraciones de plaguicidas en los arroyos y las precipitaciones. Lefrancq y col. [96] hallaron una tendencia similar en un monitoreo de alta frecuencia de plaguicidas en relación a precipitaciones en Francia. Ellos reportaron que las concentraciones de plaguicidas aumentaron luego de todos los eventos de lluvia, concluyendo que una exportación significativa de plaguicidas puede ocurrir luego de un único evento de lluvia. Esta información debe ser considerada para el diseño de monitoreo de plaguicidas, ya que estos ambientes son sistemas altamente dinámicos, y si las precipitaciones y los períodos de máxima aplicación no son considerados, las concentraciones ambientales de los plaguicidas pueden ser subestimadas, y con ello, el riesgo ambiental de estos compuestos [96, 121].

La concentración de atrazina en el agua de los arroyos, a diferencia del resto de los plaguicidas, decreció luego del evento de lluvia, sugiriendo que ya estaba presente en el ambiente y pudo haber sido diluida por las precipitaciones. La atrazina es un herbicida frecuentemente detectado en aguas superficiales [122, 123]. En Argentina, numerosos autores la registraron con gran frecuencia en aguas superficiales: Regaldo y col. [100] la detectaron en el 94% de las muestras de río tomadas en una región (Cuenca Colastiné-Corralito) cercana a nuestra área de estudio, donde la hemos detectado en el 100% de las muestras de agua de arroyos, al igual que Gagneten y col. [124] en un la cuenca del arroyo Estacas (Entre Ríos), mientras

que De Gerónimo y col. [125], la detectaron en más del 80% de las muestras en sub-cuencas de la provincia de Buenos Aires, siendo el plaguicida con mayor frecuencia de detección en diferentes cuencas hidrográficas argentinas. Esto puede deberse a su amplio uso a nivel nacional y global [126]. En Argentina es el segundo plaguicida más utilizado [127] principalmente en el cultivo de maíz, el segundo cultivo en importancia de la región (10% de la superficie de tierra, Dirección Nacional de Estimaciones Agrícolas, INTA Rafaela, [108]). La detección frecuente de atrazina puede deberse también a su relativamente alta solubilidad, lenta hidrólisis y relativamente alta persistencia en suelos (vida media en suelo: 146 días) [128]. Además, su aplicación por largos períodos de tiempo puede causar su acumulación en los suelos y puede persistir por varios años, constituyendo una amenaza para el ambiente a largo plazo [129]. Si bien la atrazina está prohibida en la Unión Europea y en varios países [130], en Argentina es uno de los herbicidas más utilizados [131].

El aumento observado en las concentraciones de plaguicidas luego del evento de lluvia se debió principalmente a plaguicidas MAltSolub, como el glifosato, AMPA, motolacloro y s-metolacloro, y plaguicidas Mov, como el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), imazetapir y haloxifop. La afinidad por el suelo (Log Koc) y la solubilidad son las propiedades de los plaguicidas que afectan en mayor medida su potencial de deriva por escorrentía, como fue reportado por numerosos autores [3, 132–134]. Sin embargo, hay algunas contradicciones en estos patrones. El glifosato y el AMPA fueron detectados en 93 y 100% de las muestras de arroyos, respectivamente, a pesar de ser LigMov. La alta solubilidad y el amplio uso del glifosato podrían incrementar su riesgo para poluir aguas superficiales, siendo uno de los plaguicidas más frecuentemente detectados en los ambientes acuáticos superficiales [41, 44, 49, 101, 135]. Además, Sasal y col. [31] reportaron que la fertilización con fósforo resultó en un aumento de la deriva de glifosato por escorrentía. Borggaard y Gimsing [136] concluyeron que la estructura del suelo, su composición mineral, su pH y las precipitaciones son los principales factores que pueden afectar la afinidad por el suelo del glifosato.

#### *4.5.2. Estado fenológico: efectos en el agua de los arroyos*

El estado fenológico de los cultivos tuvo una gran incidencia influencia en la calidad del agua de los arroyos. El muestreo posterior al evento de lluvia realizado en la etapa de pre-emergencia de la soja, mostró concentraciones de amonio y FRS significativamente mayores a los muestreos realizados en post-emergencia. Esto puede deberse a las fertilizaciones con fosfato diamónico (FDA) que se realizan en la zona, previas o durante la siembra, tal como lo recomienda INTA-Rafaela en suelos deficientes de nutrientes, los cuales se ubican principalmente en esta área centro este de la provincia de Santa Fe [137]. El fertilizante FDA ha sido descrito como fácilmente movible en agua de escorrentía [138], además, su potencialidad para deriva por escorrentía ha sido reportada por ser mucho mayor que el superfosfato simple tanto en estudios de laboratorio [139] como de campo [140]. La movilización de P en agua de escorrentía desde cuencas agrícolas ha sido ampliamente reportada [117, 138], en efecto, la escorrentía

superficial ha sido reconocida como la principal vía de deriva del P desde suelos agrícolas [141]. En estos estudios se ha puesto particular atención a los eventos de escorrentía cercanos a la aplicación de los fertilizantes, siendo estas altas pérdidas de P llamadas movilizaciones incidentales [138].

El aumento observado en los nutrientes, DBO y turbidez en el muestreo realizado durante la pre-emergencia se puede relacionar con una mayor erosión del suelo y una mayor deriva de MO debido al suelo desprotegido en comparación con la etapa de crecimiento de los cultivos. En el contexto de cambio climático, se pronostica un aumento de la frecuencia e intensidad de los eventos de precipitaciones durante las estaciones de primavera y verano en la región pampeana [95]. En este escenario, el riesgo de erosión de suelos desprotegidos podría aumentar considerablemente, como ha sido reportado en otras regiones de Noruega [142]. Por otro lado, Michael y col. [143] simularon el efecto esperado del incremento de la intensidad de las precipitaciones mediante un modelo matemático y reportaron que podría incrementar la erosión del suelo bajo los usos de suelo desarrollados actualmente. Además, se espera que este incremento de la erosión y la consecuente deriva de MO y nutrientes contribuya a la eutrofización de los cuerpos de agua superficiales, aumentando el riesgo de desarrollo de floraciones algales [144].

El muestreo previo a la emergencia presentó concentraciones más altas de metolacloro y s-metolacloro, herbicidas pre-emergentes usualmente aplicados en el barbecho químico [137]. A pesar de que el metolacloro posee una movilidad moderada en suelo, ha sido señalado como uno de los plaguicidas más frecuentes detectados en cuerpos de agua superficiales por numerosos autores [122, 145, 146], en el presente estudio fue detectado en el 93% de las muestras de agua de los arroyos, lo que puede deberse a su amplio uso y muy elevada solubilidad [147].

#### *4.5.3. Agua de escorrentía*

Las principales propiedades de los plaguicidas que influyen en su potencial de deriva por lluvias son la movilidad y la solubilidad, tal como ya ha sido señalado previamente. Sin embargo, la solubilidad tuvo mayor incidencia en los plaguicidas detectados en el agua de escorrentía en el presente trabajo. Chen y col. [3] señalaron que la tasa de escorrentía de plaguicidas con mayor solubilidad tiende a ser mayor. Sin embargo, Nakano y col. [148] reportaron que la escorrentía de plaguicidas dependió más de su movilidad que de su solubilidad, habiendo detectado concentraciones altas del herbicida daimuron, el cual posee una baja solubilidad pero una movilidad moderada. En un meta-análisis, Elias y col. [134] señalaron que los plaguicidas con alta solubilidad tienden a presentarse en concentraciones altas en el agua de escorrentía, mientras que los plaguicidas con alta afinidad por el suelo, tienden a estar presentes en menores concentraciones, pero con mayor persistencia en el tiempo. En este sentido, Willis y McDowell [149] establecieron que a mayor persistencia, los plaguicidas se encuentran disponibles para ser arrastrados por la escorrentía por un mayor tiempo. En el presente trabajo, este parece haber sido el caso del insecticida mirex, el cual si bien su aplicación fue prohibida en la Argentina en 2005 (Ley 26.011, [150]), es un compuesto persistente con una vida media de entre 1 y 10 años [128].

Las variables ambientales que presentaron mayor poder de explicación del porcentaje y número de plaguicidas en agua de escorrentía fueron el área de la subcuenca y la cobertura de vegetación ribereña leñosa. El área de la subcuenca de recepción es un parámetro usualmente considerado para el modelado de la deriva potencial de plaguicidas hacia aguas superficiales [ej. 132, 151]. Esta variable también ha sido ampliamente utilizada para evaluar el ingreso en aguas superficiales de carbono, nitrógeno y fósforo provenientes de zonas agrícolas [ej. 119, 142, 144, 152, 153]. En general se considera que, a mayor superficie de la subcuenca de recepción, mayor es el *pool* de estos compuestos potencialmente arrastrado y mayor es la cantidad de fuentes puntuales de los mismos [119, 144].

Las franjas *buffer* de vegetación han sido recientemente evaluadas y utilizadas para mitigar la polución de aguas superficiales por escorrentía de nutrientes y plaguicidas provenientes de zonas agrícolas [154]. Estas zonas *buffer* no sólo proveen hábitat para vida silvestre, pudiendo alojar depredadores benéficos de plagas y polinizadores [155, 156], sino que además la vegetación puede retener los sólidos suspendidos que arrastra el agua de escorrentía, y con ello, los plaguicidas y nutrientes adsorbidos en los mismos [157]. Además, la vegetación incrementa la capacidad de infiltración y retención del agua de escorrentía, debido a la relativamente alta porosidad de la zona de raíces. Allí, los plaguicidas y nutrientes se pueden sorber en las partículas del suelo o en la MO, ser transformadas por los microorganismos, secuestrados por las plantas o percolarse en horizontes más profundos del suelo [154]. El tipo de vegetación de las franjas *buffer* es uno de los principales factores que determinan su eficiencia [154]. En nuestro trabajo, la cobertura leñosa de riberas se correlacionó negativamente con el número y porcentaje de plaguicidas detectados en el agua de escorrentía, habiendo actuado como un área *buffer* con mayor eficiencia que las zonas de cobertura herbácea. En concordancia, Lowrance y col. [158] reportaron que las zonas *buffer* de bosques ribereños pueden incrementar aún más la eficiencia de retención de una franja de herbáceas. La eficacia de estas últimas puede ser limitada en gran medida por factores como su ancho y cobertura [159]. Por su parte, los árboles aumentan la capacidad de infiltración y retención de la zona *buffer* [160], siendo el transporte lento del agua de escorrentía a través de estas zonas, de suma importancia para garantizar los procesos biogeoquímicos que permiten mitigar la deriva de plaguicidas y nutrientes [161].

Son numerosos los factores que inciden en la deriva por escorrentía de plaguicidas y nutrientes. Los eventos de precipitación son determinantes de las concentraciones de los mismos en el agua de los arroyos, siendo además de gran importancia el estado fenológico de los cultivos en relación a los productos aplicados en cada etapa y el grado de desprotección del suelo. Factores como la solubilidad y movilidad de los plaguicidas, el área de la subcuenca de recepción y el tipo de cobertura de vegetación ribereña son determinantes de la deriva de plaguicidas por escorrentía. Todos estos factores deben ser tenidos en cuenta tanto en el diseño de monitoreos ambientales de modo de evitar desestimar las concentraciones ambientales de estos compuestos, como en el diseño de medidas de mitigación de la deriva por escorrentía de agroquímicos.

## **5. Capítulo 3: Efecto del ingreso de plaguicidas y nutrientes por precipitaciones en zonas agrícolas sobre la comunidad zooplanctónica en arroyos de la región central de la provincia de Santa Fe**

### **5.1. Introducción**

El zooplancton cumple un rol fundamental en los ambientes dulceacuícolas contribuyendo al ciclado de carbono y nitrógeno, ya que actúa como un eslabón intermediario de las redes tróficas, alimentándose de microalgas, bacterias y materia orgánica (MO) en suspensión, y siendo alimento de macroinvertebrados, peces pequeños o juveniles y aves [12, 162]. La comunidad del zooplancton posee una alta sensibilidad y responde de forma rápida a las perturbaciones ambientales tanto naturales como antrópicas, por ser especies pequeñas, con ciclos de vida cortos, alta tasa reproductiva y gran capacidad de dispersión [60]. Incluso, algunos estudios sugieren que los organismos zooplanctónicos son indicadores más sensibles de cambio que las variables ambientales, ya que responden a diferentes variables fisicoquímicas y biológicas, brindando una diagnosis del estado general del ecosistema [162–164].

Existe un reconocimiento creciente de la importancia de los eventos climáticos extremos como una de las facetas más importantes del cambio climático [165]. En la región pampeana se prevé una intensificación de las precipitaciones principalmente durante los períodos de máximas aplicaciones de agroquímicos (primavera y verano) [95], contribuyendo a la deriva de los mismos hacia los cuerpos de agua, tal como se ha observado en el capítulo 2 de la presente tesis. El estudio de la sensibilidad del zooplancton a eventos climáticos extremos es importante, ya que las influencias del clima pueden alterar las interacciones ecológicas entre los niveles tróficos [165].

Los efectos de la escorrentía de plaguicidas provenientes de zonas agrícolas han sido estudiados sobre distintos organismos con diferentes niveles de control de variables, como la aplicación de plaguicidas y/o las precipitaciones [105, 166–170]. Los estudios de este tipo sobre el zooplancton son escasos, siendo en su mayoría monoespecíficos, empleando el cladóceros *Daphnia magna* [171–173] y considerando rara vez la deriva de nutrientes asociada. Tal como se ha observado en el capítulo 2, existe una relación entre el uso de la tierra en zonas agrícolas y las variables físico-químicas de los ambientes dulceacuícolas. A su vez, como ya se ha mencionado, estas variables pueden condicionar la comunidad del zooplancton. Esta relación indirecta entre el uso de la tierra y la comunidad zooplanctónica ha sido sugerida por Dodson y Lillie [174] y Dodson y col. [175, 176], quienes observaron que el uso de la tierra por actividades agrícolas se relacionó con menor riqueza y diversidad de zooplancton, siendo ésta una comunidad apropiada para el estudio de los efectos del uso de la tierra.

En este contexto, es importante realizar estudios a campo en zonas agrícolas teniendo en cuenta las precipitaciones, la diversidad de variables ambientales que pueden condicionar, y cómo éstas pueden afectar a la comunidad del zooplancton. Siendo numerosos los factores que pueden incidir sobre la

dinámica de esta comunidad, resulta relevante analizar los efectos de estos eventos de deriva sobre el zooplancton.

## **5.2. Objetivo del capítulo**

El objetivo del presente capítulo fue evaluar el efecto de las precipitaciones, el estado fenológico de los cultivos, y la consecuente deriva de plaguicidas y nutrientes sobre la comunidad zooplanctónica en 3 arroyos de la región central de la provincia de Santa Fe.

Se espera que el ingreso por escorrentía de plaguicidas y nutrientes afecte negativamente a los atributos de la comunidad y, en particular, a los cladóceros disminuyendo su abundancia. Además, la composición de la comunidad podría verse condicionada tanto por factores naturales como antrópicos, pudiendo verse beneficiados los organismos más tolerantes a la eutrofización durante las etapas de aplicación de fertilizantes y mayor desprotección del suelo (pre-emergencia de los cultivos).

## **5.3. Materiales y Métodos**

### *5.3.1. Diseño de estudio*

Se realizaron muestreos de la comunidad zooplanctónica en relación a eventos de precipitación en 3 arroyos de la región central de la provincia de Santa Fe (diseño de estudio descrito en el capítulo 2). En cada tiempo de muestreo se tomaron muestras cuantitativas de zooplancton por triplicado filtrando 20 L mediante un muestreador tipo Schindler-Patalas con una red de 40  $\mu\text{m}$  (Figura 8). Las mismas se fijaron con formol 10% y se colorearon con eritrosina en campo.

Las muestras fueron cuantificadas mediante la identificación taxonómica de los individuos empleando claves taxonómicas específicas [68–71] en cámara Sedgewick Rafter de 1 mL bajo microscopio óptico (Nikon Eclipse E-200). Se cuantificaron 3 alícuotas por muestra las cuales luego fueron promediadas, en los casos en que no se alcanzó el total de 100 individuos del mismo taxón en las 3 alícuotas, se cuantificó la muestra completa.



**Figura 8** Muestreo de la comunidad zooplanctónica mediante una trampa tipo Schindler-Patalas (20 L) con una red de 40  $\mu\text{m}$

### 5.3.1. Análisis de datos

Con los datos de densidad del zooplancton, se calculó la riqueza (S: n° de especies), diversidad de especies (H) [177] y equitatividad (J) [178] de cada muestra siguiendo las siguientes fórmulas:

$$(7) H = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i$$

$$(8) J = \frac{H}{\log_2 S}$$

Donde:

H: diversidad de especies

S: número de especies

$p_i$ : proporción de individuos de la especie  $i$  respecto al total de individuos:  $\frac{n_i}{N}$

$n_i$ : número de individuos de la especie  $i$

N: número total de individuos de todas las especies

J: equitatividad

Se realizaron modelos de regresiones múltiples para los diferentes atributos (riqueza, diversidad y equitatividad) y densidad ( $\text{Ind L}^{-1}$ ) de los componentes (Cladocera, Copepoda y Rotifera) de la comunidad del zooplancton, para determinar qué variables ambientales ejercieron una mayor influencia en la dinámica y estructura de la comunidad zooplanctónica. Las variables explicativas a utilizar en cada

modelo fueron preseleccionadas en relación a la significancia ( $p < 0,05$ ,  $|r| > 0,4$ ) de sus correlaciones simples (Spearman) con cada variable respuesta. La construcción de cada modelo se realizó con un procedimiento de selección *backward*, y la selección de cada modelo final se realizó en función de su significancia global.

La densidad de los taxa fue agrupada en familias excepto por los copépodos (agrupados según su orden) y los rotíferos Bdelloidea. Se realizó un análisis de coordenadas principales (ACoP, datos con transformación de Hellinger) para observar la distribución de las familias de organismos en relación a los eventos de lluvia y el estado fenológico de los cultivos. Posteriormente se realizaron dos análisis de varianza multivariados permutacionales (PERMANOVA) para describir las variaciones en la composición de la comunidad entre los diferentes muestreos según el evento de precipitación (PERMANOVA 1: InterPre vs. Post1) y el estado fenológico (PERMANOVA 2: pre-emergencia -Post1- vs. post-emergencia -Post2 y Post3-), teniendo en cuenta el posible efecto de la intensidad de las precipitaciones.

Los análisis fueron realizados utilizando los programas RStudio (v.1.2.5042) (paquetes *vegan* y *FactoMineR*) y PAST (v.3.0).

#### **5.4. Resultados**

El listado de taxa detectados en cada muestreo y sitio se puede observar en el Anexo III.

La riqueza presentó correlaciones significativas negativas con la conductividad y el FRS (Tabla 9). La diversidad presentó una correlación significativa negativa con la DBO (Tabla 9). La equitatividad presentó correlaciones significativas negativas con la turbidez, la DBO y la concentración total de plaguicidas en agua. (Tabla 9).

La densidad de Cladocera presentó correlaciones significativas positivas con la turbidez, el caudal y las precipitaciones, y negativas con la DBO, la conductividad y el FRS (Tabla 9). Las densidades de Copepoda y Rotifera se correlacionaron positiva y significativamente con el caudal (Tabla 9).

**Tabla 9** Modelos finales de regresiones múltiples que describen las variables ambientales que determinan los diferentes atributos (riqueza, diversidad y equitatividad) y densidad (Ind L<sup>-1</sup>) de los componentes (Cladocera, Copepoda y Rotifera) de la comunidad del zooplancton. Para cada atributo o componente de la comunidad a la izquierda se muestran los estadísticos del modelo, y a la derecha los de las variables independientes dentro del modelo

<b>Riqueza</b>		Coef.	p	R <sup>2</sup>	<b>Cladocera</b>		Coef.	p	R <sup>2</sup>
R <sup>2</sup> aj.: 0,38	Turb	0,05	0,15	0,15	R <sup>2</sup> aj.: 0,47	<b>Turb</b>	<b>0,04</b>	<b>0,003</b>	<b>0,05</b>
F: 7,21	pH	1,73	0,52	0,11	F: 5,62	<b>DBO</b>	<b>-0,1</b>	<b>0,001</b>	<b>0,01</b>
p: 0,00021	<b>Cond</b>	<b>-0,004</b>	<b>0,03</b>	<b>0,14</b>	p: 0,0002	<b>Cond</b>	<b>-0,001</b>	<b>0,02</b>	<b>0,16</b>
	<b>FRS</b>	<b>-0,01</b>	<b>0,001</b>	<b>0,32</b>		<b>FRS</b>	<b>-0,004</b>	<b>0,004</b>	<b>0,04</b>
						<b>Caudal</b>	<b>0,26</b>	<b>0,02</b>	<b>0,11</b>
						<b>Precip</b>	<b>0,1</b>	<b>0,0002</b>	<b>0,16</b>
						ConcPlag	0,1	0,12	0,15
<b>Diversidad (H)</b>		Coef.	p	R <sup>2</sup>	<b>Copepoda</b>		Coef.	p	R <sup>2</sup>
R <sup>2</sup> aj.: 0,42	<b>DBO</b>	<b>-0,01</b>	<b>0,004</b>	<b>0,46</b>	R <sup>2</sup> aj.: 0,24	DBO	-0,24	0,4	0,14
F: 8,47	pH	0,02	0,78	0,004	F: 3,12	Cond	-0,01	0,15	0,11
p: 0,0001	Color	0,0002	0,61	0,26	p: 0,01	FRS	-0,01	0,6	0,15
	FRS	-0,0001	0,42	0,14		<b>Caudal</b>	<b>2,64</b>	<b>0,03</b>	<b>0,26</b>
						Precip	0,07	0,68	0,12
						ConcPlag	0,16	0,88	0,03
<b>Equitatividad</b>		Coef.	p	R <sup>2</sup>	<b>Rotifera</b>		Coef.	p	R <sup>2</sup>
R <sup>2</sup> aj.: 0,54	<b>Turb</b>	<b>-0,001</b>	<b>0,0005</b>	<b>0,46</b>	R <sup>2</sup> aj.: 0,3	Cond	-0,02	0,26	0,14
F: 10,58	<b>DBO</b>	<b>-0,001</b>	<b>0,04</b>	<b>0,22</b>	F: 5,45	<b>Caudal</b>	<b>5,42</b>	<b>0,03</b>	<b>0,25</b>
p: 0,000003	Color	0,00001	0,84	0,13	p: 0,001	Precip	0,24	0,48	0,24
	Amonio	-0,000002	0,98	0,31		ConcPlag	2,29	0,31	0,16
	<b>ConcPlag</b>	<b>-0,003</b>	<b>0,05</b>	<b>0,16</b>					

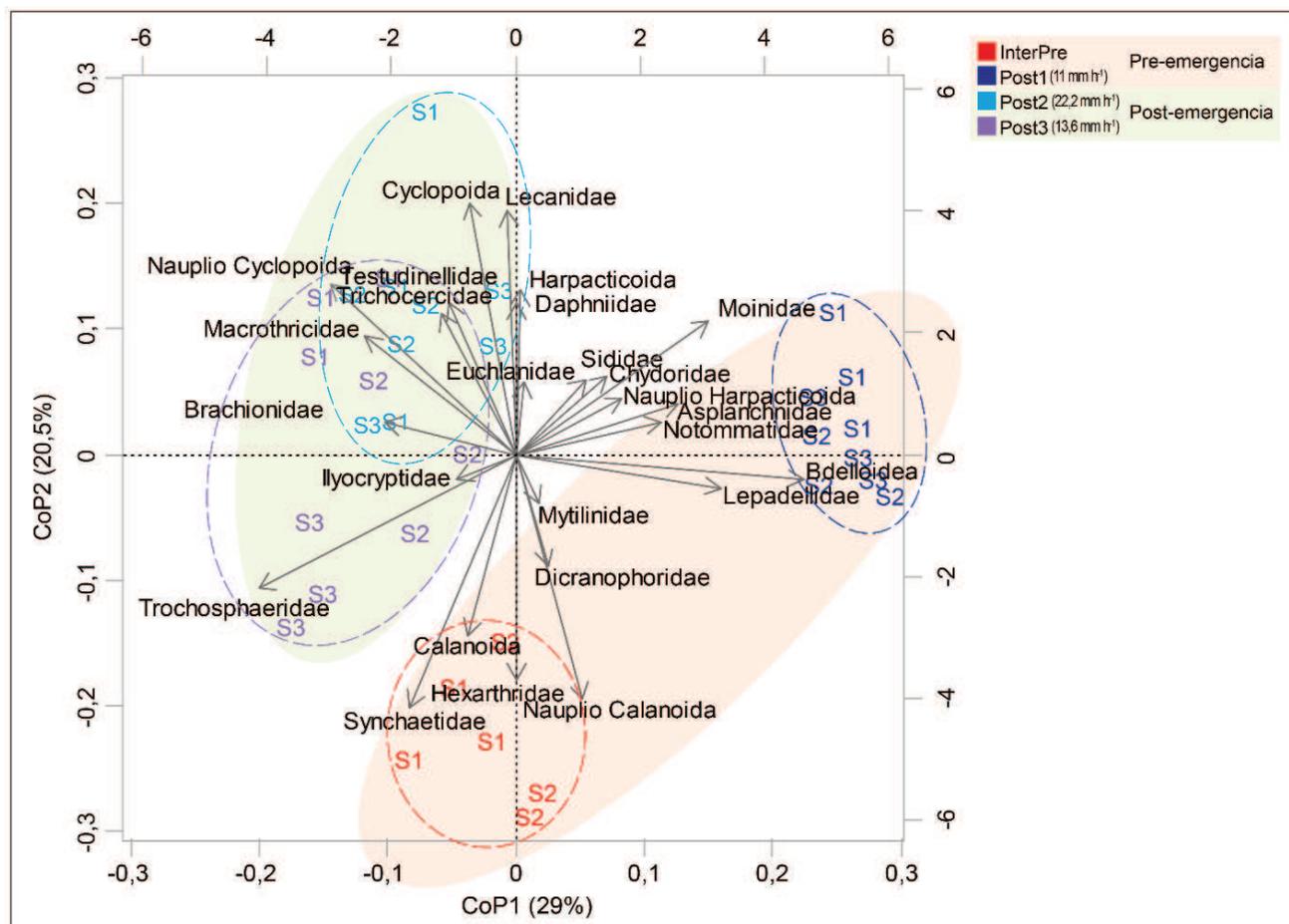
Turb: turbidez (FTU); Cond: conductividad ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ ); FRS: fósforo reactivo soluble ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ); DBO: demanda biológica de oxígeno ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ); Color (PtCo); Amonio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ); ConcPlag: concentración total de plaguicidas ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ); Caudal ( $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$ ); Precip: precipitaciones (mm). Tipografía negrita: correlaciones significativas ( $p < 0,05$ )

#### 5.4.1. Evento de precipitación: efecto en la comunidad del zooplancton

La composición de la comunidad del zooplancton se diferenció de forma marginalmente significativa entre el muestreo previo al primer evento de lluvia (InterPre) y el muestreo posterior a dicho evento (Post1) (PERMANOVA,  $F = 2,61$   $p = 0,06$ ). Post1 se caracterizó por una densidad mayor de Bdelloidea, Lepadellidae, Notommatidae, Asplanchnidae (Rotifera), nauplios de Harpacticoida (Copepoda), Moinidae, Chydoridae y Sididae (Cladocera). Mientras que InterPre presentó mayor densidad de Synchaetidae, Hexarthridae, Dicranophoridae, Mytilinidae (Rotifera) y Calanoida (nauplios y adultos, Copepoda) (Figura 9).

#### 5.4.2. Estado fenológico: efectos en la comunidad del zooplancton

La composición de la comunidad del zooplancton se diferenció significativamente entre el muestreo realizado durante la pre-emergencia de los cultivos (Post1) y los muestreos realizados durante la post-emergencia (Post2 y Post3) (PERMANOVA,  $F = 2,71$   $p = 0,05$ ). El muestreo realizado durante la pre-emergencia de los cultivos se caracterizó por una densidad mayor de Bdelloidea, Lepadellidae, Notommatidae, Asplanchnidae (Rotifera), nauplios de Harpacticoida (Copepoda), Moinidae, Chydoridae y Sididae (Cladocera). Mientras que los muestreos realizados durante la post-emergencia se caracterizaron por una mayor densidad de Cyclopoida (nauplios y adultos) (Copepoda), Lecanidae, Testudinellidae, Trichocercidae, Brachionidae, Trochosphaeridae, Euchlanidae (Rotifera), Macrothricidae, Daphniidae e Ilyocryptidae (Cladocera) (Figura 9).



**Figura 9** ACoP de las familias de zooplancton observadas en los 3 arroyos (S1, S2 y S3) en los muestreos realizados durante la pre-emergencia de los cultivos: InterPre (previo al primer evento de lluvia) y Post1 (posterior al primer evento de lluvia), y durante la post-emergencia: Post2 y Post3 (posteriores a dos eventos de lluvia diferentes). Las escalas inferior e izquierda son para los muestreos y sitios, y las escalas superior y derecha son para las familias

## 5.5. Discusión

El caudal se correlacionó positivamente con la densidad de los tres componentes de la comunidad del zooplancton: Cladocera, Copepoda y Rotifera. Esto puede deberse al arrastre o deriva de organismos planctónicos provenientes de regiones superiores (reservas, charcas, lagunas, áreas de inundación) de los arroyos que podrían haber sido arrastrados aguas abajo, pudiendo este proceso verse incrementado por el efecto de las precipitaciones [179]. Esta correlación positiva entre caudal y abundancia de zooplancton asociada a la deriva de organismos ha sido observada por numerosos autores [179–187]. Los mismos han argumentado que el zooplancton difícilmente puede moverse en contra de los movimientos de agua en los arroyos [186, 188]. Por lo tanto, los factores físicos como el caudal han sido propuestos como las principales variables ambientales condicionantes de la comunidad zooplanctónica en este tipo de ambientes [184, 189].

Por el contrario, otros autores han reportado una relación opuesta de la densidad de zooplancton con el caudal, debido a un posible efecto de dilución [ej. 190, 191]. Sin embargo, estos estudios refieren principalmente a períodos estacionales de aguas altas y bajas, en los que la magnitud de las variaciones de caudal suele ser mayor y suelen intervenir numerosas variables hidroclimáticas.

Si bien el caudal fue la variable con mayor incidencia sobre la densidad de Cladocera, este grupo se vio afectado además por una serie de factores como la conductividad, el FRS, la turbidez y la DBO, los cuales no afectaron significativamente a copépodos y rotíferos. Esto puede deberse a la sensibilidad de los cladóceros en comparación con los otros componentes de la comunidad. Estas diferencias en sensibilidad se deben principalmente a que los rotíferos poseen una alta diversidad de rasgos funcionales con una amplia selectividad alimentaria y ciclos de vida más cortos, presentado una alta tasa de renovación [87, 89, 192]. Esta sensibilidad diferencial fue descrita además en el primer capítulo de la presente tesis.

La conductividad se correlacionó negativamente tanto con la densidad de Cladocera como con la riqueza de taxa. El efecto negativo de la conductividad en la comunidad del zooplancton ha sido reportado por numerosos autores [193–197]. Por su parte, Williams [198] reportó que las variaciones de la conductividad pueden regular la estructura de la comunidad del zooplancton, pudiendo afectar su riqueza y diversidad. Soto y De Los Ríos [199] observaron una mayor diversidad de especies y, en particular, una menor abundancia de cladóceros daphnidos a mayores conductividades. Además, Frau y col. [200] reportaron que la conductividad fue una de las principales variables condicionantes la estructura del zooplancton, presentando una correlación negativa con casi todos los grupos de zooplancton con excepción de ciertos grupos de Rotifera (Brachionidae, Bdelloidea) y Copepoda (nauplii). Como consecuencia del cambio climático y la intensificación de los usos de la tierra (eventos de precipitación más intensos con mayor erosión del suelo según su cobertura), se pronostica un aumento de la conductividad de los cuerpos de agua superficiales, pudiendo verse afectadas las comunidades acuáticas [196].

La densidad de cladóceros también se vio afectada negativamente por el FRS y la DBO, variables que a su vez afectaron negativamente a los atributos de riqueza, diversidad y equitatividad del zooplancton. Vigiak y col. [201] reportaron que en regiones antropizadas una elevada DBO suele tener origen antrópico, reduciendo la disponibilidad de oxígeno y degradando las comunidades acuáticas. Además, como se observó en el capítulo 2 de la presente tesis, las actividades agrícolas desarrolladas en el área podrían relacionarse con los incrementos en el FRS y la DBO, contribuyendo a la eutrofización del ambiente. La eutrofización afecta en gran medida a los ambientes produciendo entre otras alteraciones, cambios en la riqueza y composición de los ensamblajes biológicos, contribuyendo al deterioro del ambiente [202]. Por su parte, Jafari y col. [203] reportaron una disminución de la diversidad, equitatividad y riqueza del zooplancton en relación a un mayor nivel de eutrofización. Por otro lado, Langley y col. [204] encontraron una correlación negativa entre los fosfatos y la riqueza de rotíferos en lagos urbanos. En un estudio paleolimnológico, Albert y col. [205] reportaron que la composición y la diversidad de los cladóceros fue afectada negativamente por la concentración de fósforo, en relación a la intensidad de las actividades agrícolas.

Por otro lado, la turbidez afectó positivamente a la densidad de Cladocera. Resultados similares fueron reportados por varios autores [206–208], quienes sugirieron que la disminución en la transparencia del agua podría proteger a los cladóceros de los peces depredadores visuales, pudiendo reducir la distancia de reacción de estos predadores y, por tanto, su eficiencia de depredación selectiva por tamaño [209–211]. Sin embargo, en el presente estudio no se analizó la comunidad de peces, por lo que estas conclusiones son hipotéticas.

Por el contrario, la turbidez afectó negativamente a la equitatividad de la comunidad del zooplancton. En concordancia, Dejen y col. [212] hallaron una correlación negativa entre la turbidez y la abundancia del zooplancton, tal como fue reportado por otros autores [213, 214]. La turbidez puede afectar las tasas de filtración del zooplancton, y como consecuencia, sus tasas de desarrollo [215, 216]. Además, los sedimentos suspendidos pueden reducir la densidad de los taxa de zooplancton más sensibles, como las especies filtradoras cuya única selección de alimento es el rango de tamaño. En estos casos, el sedimento inorgánico es ingerido indistintamente, siendo pobre en aporte nutricional [162, 217] y pudiendo acarrear tóxicos como los plaguicidas [101, 218, 219]. Por lo tanto, los patrones de competencia interespecífica pueden ser alterados, pudiendo resultar en una disminución de la equitatividad de la comunidad [220].

En concordancia, la equitatividad de la comunidad del zooplancton también se correlacionó negativamente con la concentración total de plaguicidas. Esta mezcla de poluentes podría haber afectado a las especies más sensibles, favoreciendo la dominancia de aquellas más tolerantes y disminuyendo la equitatividad de la comunidad. La comunidad del zooplancton se caracteriza por presentar una sensibilidad diferencial a diferentes factores ambientales y poluentes tanto entre los principales grupos (Cladocera, Copepoda y Rotifera) como entre las especies de cada grupo [15, 221–223]. Esta marcada sensibilidad diferencial se debe principalmente a la amplia diversidad de rasgos funcionales e historias de

vida que abarca el zooplancton y los diferentes grupos que lo componen [90, 224, 225], lo que podría haber condicionado una respuesta diferencial a los diferentes plaguicidas detectados en el ambiente reflejada en una disminución de la equitatividad.

#### *5.5.1. Evento de precipitación: efecto en la comunidad del zooplancton*

El evento de precipitación tuvo un efecto significativo sobre la composición de la comunidad del zooplancton, principalmente se observó un aumento generalizado de la densidad de organismos. Resultados similares fueron reportados por Campbell [179], quien los atribuyó al arrastre o deriva de organismos desde aguas arriba, tal como fue discutido previamente.

El muestreo posterior al evento de lluvia (Post1) se caracterizó por mayor densidad de Rotifera, principalmente de la clase Bdelloidea. Resultados similares fueron reportados por Frau y col. [200], siendo los bdeloideos uno de los grupos dominantes del zooplancton en arroyos vinculados a polución agrícola. Además, José De Paggi y col. [226] reportaron que los bdeloideos fueron los rotíferos más abundantes luego de eventos de lluvia en una cuenca que recibe escorrentía de aguas pluviales urbanas. Los bdeloideos son tolerantes a un amplio rango de condiciones ambientales [227, 228], pudiendo desarrollarse en ambientes con cambios severos de las características abióticas, tales como el nivel del agua [229], siendo la partenogénesis obligada y la anhidrobiosis [228] responsables de su gran adaptabilidad. Si bien los métodos de alimentación difieren dentro de este grupo, los bdeloideos son en su mayoría bentónicos y micrófagos [87]. Varios autores reportaron que los organismos bentónicos pueden ser arrastrados por los aumentos bruscos en el caudal junto con los sedimentos removidos [ej. 181, 191]. Por otro lado, en estas condiciones de mayor turbidez, donde el detritus suele ser un recurso trófico importante, se verían beneficiados los rotíferos micrófagos detritívoros, como ser los bdeloideos [217].

En el muestreo previo a las precipitaciones (IntPre1) no se observaron Cladocera, el día después del evento de lluvia diferentes familias de los mismos fueron observadas (Moinidae, Chydoridae y Sididae). Esto puede deberse a los efectos positivos del caudal y la turbidez descriptos previamente sobre estos organismos, siendo susceptibles de ser arrastrados desde aguas arriba por aumentos del caudal, tal como fue reportado por Nielsen y col. [185] y Czerniawski [187].

En el muestreo previo a las precipitaciones (IntPre1) se observó una mayor densidad de copépodos calanoideos (nauplios y adultos), la cual disminuyó luego del evento de precipitación (Post1). Resultados similares fueron reportados por Shuman [230], quien registró reducciones en la abundancia de copépodos calanoideos durante períodos de tormentas. El aumento en la cantidad de turbidez, MO y nutrientes luego del evento de precipitaciones podría haber incidido. Algunos autores han señalado que la eutrofización podría favorecer a los cladóceros por sobre los copépodos calanoideos, posiblemente a causa de los cambios en la cantidad o calidad de los recursos tróficos, dado que los copépodos calanoideos poseen

tasas de alimentación insignificantes de bacterias y picoplancton en comparación con los cladóceros [162, 231, 232].

### 5.5.2. Estado fenológico: efectos en la comunidad del zooplancton

El estado fenológico de los cultivos, y los compuestos arrastrados por el agua de escorrentía en cada etapa incidieron sobre la composición de la comunidad zooplanctónica. El muestreo realizado durante la pre-emergencia se caracterizó principalmente por una mayor abundancia de Bdelloidea y Cladocera, los cuales, como se discutió en el apartado anterior, podrían haberse beneficiado por una mayor turbidez y MO, habiendo sido descritas las posibles relaciones entre estas variables y la pre-emergencia de los cultivos en el capítulo 2 de la presente Tesis.

Durante la pre-emergencia de los cultivos, caracterizada por una mayor turbidez, MO, DBO y nutrientes en los arroyos, las familias que denotaron una mayor densidad fueron Moinidae, Chydoridae y Sididae (*Diaphanosoma brevirreme*), mientras que los muestreos de post-emergencia se caracterizaron por las familias Macrothricidae, Daphnidae e Ilyocryptidae.

Resultados similares fueron reportados por Shuman [230], quien observó que las poblaciones de *Diaphanosoma* y *Moina* aumentaron luego de un evento de lluvia relacionándose con el incremento de la turbidez, en concordancia con lo reportado por Threlkeld [233] y Brandorff y de Andrade [234]. Además, el género *Moina* ha sido descrito por habitar ambientes eutróficos [235, 236].

Por su parte, Dodson y col. [175], reportaron que *Chydorus brevilabris* fue la especie más asociada con el uso de la tierra para agricultura. Los chidóridos se alimentan mediante el raspado del perifiton o del sustrato [225] y son cladóceros tolerantes con preferencia por ambientes eutróficos [205, 237], siendo más exitosos en ambientes con elevada productividad. En cambio, los dáfnidos son generalmente más exitosos en ambientes con menor productividad y mayor calidad de alimento [225]. En concordancia, Shuman [230] reportó que las poblaciones de Daphnidae tuvieron una menor densidad durante los períodos con mayor turbidez y con declinación de la calidad del agua, en sintonía con lo reportado por Threlkeld [233]. Además, Kirk [238] reportó que una alta concentración de sólidos suspendidos puede disminuir considerablemente las tasas de filtración de *Daphnia* spp.

Sin embargo, las familias Macrothricidae e Ilyocryptidae que demostraron una tendencia a mayor densidad en los muestreos de post-emergencia, también son consideradas tolerantes a las condiciones de mayor turbidez y eutrofia, siendo organismos bentónicos que se alimentan por raspado de la superficie de los sedimentos [239, 240], por lo que su relación con estos muestreos no sería muy clara.

Por otro lado, los copépodos Cyclopoida fueron más abundantes en los muestreos de post-emergencia, caracterizados por una menor turbidez y carga de nutrientes. Resultados similares fueron reportados por Shuman [230], quien reportó que las abundancias de los Cyclopoida fueron menores durante los períodos de mayor turbidez luego de precipitaciones, en concordancia con Hanks [241]. Los copépodos Cyclopoida

son depredadores raptorales y cazan activamente sus presas con una elevada selectividad [225, 242], por lo que un aumento de la turbidez podría haber interferido en su búsqueda por alimento. Sin embargo, las causas de esta relación observada siguen siendo inciertas.

El ingreso de agua de escorrentía por precipitaciones en regiones agrícolas afectó considerablemente a la composición y atributos de la comunidad del zooplancton, siendo el caudal el principal factor que incidió sobre los diferentes componentes de la comunidad. Sin embargo, los cladóceros mostraron ser sensibles a una serie de factores naturales y antrópicos relacionados con las actividades agrícolas y los estados fenológicos de los cultivos según los productos aplicados y el estado de desprotección del suelo. La concentración total de plaguicidas se relacionó negativamente con la equitatividad de la comunidad, pudiendo haber afectado a los componentes más sensibles de la comunidad.

## 6. Conclusiones Generales

El zooplancton se encuentra expuesto a complejas mezclas de plaguicidas que llegan a los cuerpos de agua superficiales por diferentes vías. En estas mezclas los plaguicidas pueden interactuar de diferentes formas, habiéndose observado interacciones sinérgicas entre formulaciones de glifosato y cipermetrina tanto a nivel individual como comunitario en el zooplancton, siendo los microcrustáceos los componentes más sensibles de la comunidad.

La escorrentía por lluvias es una de las principales vías de deriva de estas mezclas de plaguicidas, siendo determinante de las concentraciones de dichos compuestos en los cuerpos de agua superficiales. El ingreso de plaguicidas y nutrientes en estos ambientes es dinámico y depende de diferentes factores como el estado fenológico de los cultivos, en relación a los compuestos aplicados y a la cobertura del suelo, la solubilidad y movilidad de los plaguicidas, el área de la subcuenca de recepción y el tipo de cobertura vegetal de ribera.

El ingreso de estas complejas mezclas de plaguicidas y nutrientes afectó considerablemente a la comunidad del zooplancton, principalmente disminuyendo su equitatividad. El caudal de los arroyos fue determinante para los diferentes componentes de la comunidad, viéndose los cladóceros afectados además por una serie de factores naturales y antrópicos relacionados con las actividades agrícolas y las prácticas realizadas según el estado fenológico de los cultivos.

Finalmente, dada la evidente exposición y sensibilidad del zooplancton a los impactos de las actividades agrícolas en los cuerpos de agua, y en particular a los plaguicidas, resulta indispensable aplicar medidas de mitigación de estos eventos de deriva y monitorear estos compuestos teniendo en consideración los diferentes factores intervinientes en la dinámica de los agroquímicos en el ambiente.

## 7. Referencias Bibliográficas

- [1] Isenring R. (2010) *Pesticides and the loss of biodiversity. How intensive pesticide use affects wildlife populations and species diversity*. London, U.K.: Pesticide Action Network Europe, 25 p.
- [2] Jergentz S, H Mugni, C Bonetto, R Schulz. (2005) Assessment of insecticide contamination in runoff and stream water of small agricultural streams in the main soybean area of Argentina. *Chemosphere* 61(6):817–826.
- [3] Chen C, W Guo, HH Ngo. (2019) Pesticides in stormwater runoff—A mini review. *Front Environ Sci Eng* 13(5):1–72.
- [4] Blann KL, JL Anderson, GR Sands, B Vondracek. (2009) Effects of agricultural drainage on aquatic ecosystems: A review. *Crit Rev Environ Sci Technol* 39(11):909–1001.
- [5] Carpenter SR, NF Caraco, DL Correll, RW Howarth, AN Sharpley, VH Smith. (1998) Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecol Appl* 8(3):559–568.
- [6] Alonso LL, PM Demetrio, M Agustina Etchegoyen, DJ Marino. (2018) Glyphosate and atrazine in rainfall and soils in agroproductive areas of the pampas region in Argentina. *Sci Total Environ* 645:89–96.
- [7] Harrison S, C McAree, W Mulville, T Sullivan. (2019) The problem of agricultural ‘diffuse’ pollution: Getting to the point. *Sci Total Environ* 677:700–717.
- [8] Iturburu FG, G Calderon, MV Amé, ML Menone. (2019) Ecological Risk Assessment (ERA) of pesticides from freshwater ecosystems in the Pampas region of Argentina: Legacy and current use chemicals contribution. *Sci Total Environ* 691:476–482.
- [9] Matson PA, WJ Parton, AG Power, MJ Swift. (1997) Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science* (80- ) 277(5325):504–509.
- [10] Tsui MTK, LM Chu. (2008) Environmental fate and non-target impact of glyphosate-based herbicide (Roundup®) in a subtropical wetland. *Chemosphere* 71(3):439–446.
- [11] Sinistro R. (2010) Top-down and bottom-up regulation of planktonic communities in a warm temperate wetland. *J Plankton Res* 32(2):209–220.
- [12] Trevisan G V., BR Forsberg. (2007) Relationships among nitrogen and total phosphorus, algal biomass and zooplankton density in the central Amazonia lakes. *Hydrobiologia* 586(1):357–365.
- [13] Hanazato T. (2001) Pesticide effects on freshwater zooplankton: An ecological perspective. *Environ Pollut* 112(1):1–10.
- [14] Gagneten AM. (2011) Effects of Contamination by Heavy Metals and Eutrophication on Zooplankton, and their possible effects on the Trophic Webs of Freshwater Aquatic

- Ecosystems. En: *Eutrophication causes, consequences Control* (Eds: Ansari AA, Singh Gill S, Lanza GR, Rast W), 1st ed. Springer Netherlands, p 394.
- [15] Rico-Martinez R, JC Arias-Almeida, IA Pérez-Legaspi, J Alvarado-Flores, JL Retes-Pruneda. (2012) Adverse Effects of Herbicides on Freshwater Zooplankton. En: *Herbicides - Properties, Synthesis and Control of Weeds* (Ed: Hasaneen MN). InTech, Rijeka, Croatia, pp 405–434.
- [16] Sánchez-Bayo F, HA Tennekes. (2015) Environmental risk assessment of agrochemicals-A critical appraisal of current approaches. En: *Toxicity and Hazard of Agrochemicals* (Eds: Larramendy M, Sonia S). In Tech, p 170.
- [17] Reno U, SR Doyle, FR Momo, L Regaldo, AM Gagneten. (2018) Effects of glyphosate formulations on the population dynamics of two freshwater cladoceran species. *Ecotoxicology* 27(7):784–793.
- [18] Pratt JR, R Barreiro. (1998) Influence of trophic status on the toxic effects of a herbicide: A microcosm study. *Arch Environ Contam Toxicol* 35(3):404–411.
- [19] Odum EP. (1984) The Mesocosm. *Bioscience* 34(9):558–562.
- [20] Wendt-Rasch L, U Friberg-Jensen, P Woin, K Christoffersen. (2003) Effects of the pyrethroid insecticide cypermethrin on a freshwater community studied under field conditions. II. Direct and indirect effects on the species composition. *Aquat Toxicol* 63(4):373–389.
- [21] Buck JC, KI Scholz, JR Rohr, AR Blaustein. (2015) Trophic dynamics in an aquatic community: interactions among primary producers, grazers, and a pathogenic fungus. *Oecologia* 178(1):239–248.
- [22] Geddes P. (2015) Experimental evidence that subsidy quality affects the temporal variability of recipient zooplankton communities. *Aquat Sci* 77(4):609–621.
- [23] Helenius LK, A Aymà Padrós, E Leskinen, H Lehtonen, L Nurminen. (2015) Strategies of zooplanktivory shape the dynamics and diversity of littoral plankton communities: A mesocosm approach. *Ecol Evol* 5(10):2021–2035.
- [24] Brock TCM, R Van Wijngaarden, G Van Geest. (2000) *Ecological risks of pesticides in freshwater ecosystems*. Part 2: Insecticides. Alterra, Green World Research, Wageningen, 142 p.
- [25] Navis S. (2015) *The importance of dormant egg bank dynamics in ecotoxicological effect assessment : from laboratory to mesocosm studies*. University of Leuven, 153 p.
- [26] Andrade VS, WM Polla, MF Gutierrez, L Regaldo, U Reno, A Popielarz, S Gervasio, V Fernández, AM Gagneten. (2020) Effect of a glyphosate formulation on freshwater plankton: a community combined metrics approach. *J Environ Biol* (aceptado).
- [27] FAO. (2011) *Food loss and food waste: Extent, causes and prevention*. Food and Agriculture

- Organization of the United Nations, 29 p.
- [28] United Nations Millennium Project. (2005) *Investing in Development: A Practical Plan to Achieve the Millennium Development Goals*. New York: United Nations Development Programme, 74 p.
- [29] Bonny S. (2008) Genetically modified glyphosate-tolerant soybean in the USA: Adoption factors, impacts and prospects - A review. *Sustain Agric* 28:257–272.
- [30] Amorós I, JL Alonso, S Romaguera, JM Carrasco. (2007) Assessment of toxicity of a glyphosate-based formulation using bacterial systems in lake water. *Chemosphere* 67(11):2221–2228.
- [31] Sasal MC, L Demonte, A Cislighi, EA Gabioud, JD Oszust, MG Wilson, N Michlig, HR Beldoménico, MR Repetti. (2015) Glyphosate loss by runoff and its relationship with phosphorus fertilization. *J Agric Food Chem* 63(18):4444–4448.
- [32] Etchegoyen M, A Ronco, P Almada, M Abelando, D Marino. (2017) Occurrence and fate of pesticides in the Argentine stretch of the Paraguay-Paraná basin. *Environ Monit Assess* 189(63):1–12.
- [33] Cruzeiro C, MÂ Parda, E Rocha, MJ Rocha. (2015) Occurrence and seasonal loads of pesticides in surface water and suspended particulate matter from a wetland of worldwide interest—the Ria Formosa Lagoon, Portugal. *Environ Monit Assess* 187(669):1–21.
- [34] Akan JC, N Battah, M Waziri, MM Mahmud. (2015) Organochlorine, Organophosphorus and Pyrethroid Pesticides Residues in Water and Sediment Samples from River Benue in Vinikilang, Yola, Adamawa State, Nigeria Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry Equipped with Electron Capture Detector "Organochlori. *Am J Environ Prot* 3(5):164–173.
- [35] Folt CL, CY Chen, M V. Moore, J Burnaford. (1999) Synergism and antagonism among multiple stressors. *Limnol Oceanogr* 44(3 II):864–877.
- [36] Marking L. (1977) Method for Assessing Additive Toxicity of Chemical Mixtures. En: *Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation* (Eds: Mayer FL, Hamelink JL). American Society for Testing and Materials (ASTM), pp 99–108.
- [37] Piggott JJ, CR Townsend, CD Matthaei. (2015) Reconceptualizing synergism and antagonism among multiple stressors. *Ecol Evol* 5(7):1538–1547.
- [38] Hasenbein S, SP Lawler, J Geist, RE Connon. (2016) A long-term assessment of pesticide mixture effects on aquatic invertebrate communities. *Environ Toxicol Chem* 35(1):218–232.
- [39] Belden JB, RJ Gilliom, MJ Lydy. (2007) How well can we predict the toxicity of pesticide mixtures to aquatic life? *Integr Environ Assess Manag* 3(3):364–372.

- [40] Relyea R, J Hoverman. (2006) Assessing the ecology in ecotoxicology: A review and synthesis in freshwater systems. *Ecol Lett* 9(10):1157–1171.
- [41] Annett R, HR Habibi, A Hontela. (2014) Impact of glyphosate and glyphosate-based herbicides on the freshwater environment. *J Appl Toxicol* 34(5):458–479.
- [42] Baylis AD. (2000) Why glyphosate is a global herbicide: Strengths, weaknesses and prospects. *Pest Manag Sci* 56(4):299–308.
- [43] Borggaard OK, AL Gimsing. (2008) Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Manag Sci* 63(11):1100–1106.
- [44] Primost JE, DJG Marino, VC Aparicio, JL Costa, P Carriquiriborde. (2017) Glyphosate and AMPA, “pseudo-persistent” pollutants under real-world agricultural management practices in the Mesopotamic Pampas agroecosystem, Argentina. *Environ Pollut* 229:771–779.
- [45] Friberg-Jensen U, L Wendt-Rasch, P Woin, K Christoffersen. (2003) Effects of the pyrethroid insecticide, cypermethrin, on a freshwater community studied under field conditions. I. Direct and indirect effects on abundance measures of organisms at different trophic levels. *Aquat Toxicol* 63(4):357–371.
- [46] Bonansea RI, MV Amé, DA Wunderlin. (2013) Determination of priority pesticides in water samples combining SPE and SPME coupled to GC-MS. A case study: Suquía River basin (Argentina). *Chemosphere* 90(6):1860–1869.
- [47] Bonansea RI, I Filippi, DA Wunderlin, DJG Marino, MV Amé. (2017) The fate of glyphosate and AMPA in a freshwater endorheic basin: An ecotoxicological risk assessment. *Toxics* 6(1):1–13.
- [48] Marino D, A Ronco. (2005) Cypermethrin and chlorpyrifos concentration levels in surface water bodies of the Pampa Ondulada, Argentina. *Bull Environ Contam Toxicol* 75(4):820–826.
- [49] Battaglin WA, MT Meyer, KM Kuivila, JE Dietze. (2014) Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in U.S. soils, surface water, groundwater, and precipitation. *J Am Water Resour Assoc* 50(2):275–290.
- [50] Kumar A, B Sharma, RS Pandey. (2010) Toxicological assessment of pyrethroid insecticides with special reference to cypermethrin and  $\lambda$ -cyhalothrin in freshwater fishes. *Int J Biol Med Res* 3(4):315–325.
- [51] Pérez GL, MS Vera, LA Miranda. (2011) Effects of Herbicide Glyphosate and Glyphosate-Based Formulations on Aquatic Ecosystems. En: *Herbicides and Environment* (Ed: Kortenkamp A). In Tech, pp 343–368.
- [52] Brodeur JC, MB Poliserpi, MF D’Andrea, M Sánchez. (2014) Synergy between glyphosate- and

- cypermethrin-based pesticides during acute exposures in tadpoles of the common South American Toad *Rhinella arenarum*. *Chemosphere* 112:70–76.
- [53] Brodeur JC, S Malpel, AB Anglesio, D Cristos, MF D'Andrea, MB Poliserpi. (2016) Toxicities of glyphosate- and cypermethrin-based pesticides are antagonistic in the ten-spotted livebearer fish (*Cnesterodon decemmaculatus*). *Chemosphere* 155:429–435.
- [54] APHA: American Public Health Association, American Water Works Federation, Water Environment Association. (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed. Washington, D.C.
- [55] OECD. (2004) Guideline for Testing of Chemicals - *Daphnia* sp., Acute Immobilization Test 202. Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development.
- [56] Barmantlo SH, M Schrama, ER Hunting, R Heutink, PM van Bodegom, GR de Snoo, MG Vijver. (2018) Assessing combined impacts of agrochemicals: Aquatic macroinvertebrate population responses in outdoor mesocosms. *Sci Total Environ* 631–632:341–347.
- [57] Brock TCM, M Hammers-Wirtz, U Hommen, TG Preuss, HT Ratte, I Roessink, T Strauss, PJ Van den Brink. (2014) The minimum detectable difference (MDD) and the interpretation of treatment-related effects of pesticides in experimental ecosystems. *Environ Sci Pollut Res* 22(2):1160–1174.
- [58] Gutierrez MF, FR Molina, D Frau, G Mayora, Y Battauz. (2020) Interactive effects of fish predation and sublethal insecticide concentrations on freshwater zooplankton communities. *Ecotoxicol Environ Saf* 196(110497):1–9.
- [59] DeLorenzo ME, GI Scott, PE Ross. (2001) Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: A review. *Environ Toxicol Chem* 20(1):84–98.
- [60] Resh VH. (2008) Which group is best? Attributes of different biological assemblages used in freshwater biomonitoring programs. *Environ Monit Assess* 138(1–3):131–138.
- [61] Richard J. (1894) Cladoceres collected by Dr. Theod. Barrois in Palestine, in Syria and in Egypt. *Biol Rev north Fr Lille* 6:360–378.
- [62] Lanctôt C, L Navarro-Martín, C Robertson, B Park, P Jackman, BD Pauli, VL Trudeau. (2014) Effects of glyphosate-based herbicides on survival, development, growth and sex ratios of wood frog (*Lithobates sylvaticus*) tadpoles. II: Agriculturally relevant exposures to Roundup WeatherMax® and Vision® under laboratory conditions. *Aquat Toxicol* 154:291–303.
- [63] Environmental Protection Agency. (1993) Method 1660 The Determination of Pyrethrins and Pyrethroids in Municipal and Industrial Wastewater.
- [64] Zhu Y, F Zhang, C Tong, W Liu. (1999) Determination of glyphosate by ion chromatography. *J*

- Chromatogr A* 850(1–2):297–301.
- [65] Pérez GL, A Torremorell, H Mugni, P Rodríguez, M Solange Vera, M Do Nascimento, L Allende, J Bustingorry, R Escaray, M Ferraro, I Izaguirre, H Pizarro, C Bonetto, DP Morris, H Zagarese. (2007) Effects of the herbicide roundup on freshwater microbial communities: A mesocosm study. *Ecol Appl* 17(8):2310–2322.
- [66] Vera MS, L Lagomarsino, M Sylvester, GL Pérez, P Rodríguez, H Mugni, R Sinistro, M Ferraro, C Bonetto, H Zagarese, H Pizarro. (2010) New evidences of Roundup® (glyphosate formulation) impact on the periphyton community and the water quality of freshwater ecosystems. *Ecotoxicology* 19(4):710–721.
- [67] Valenzuela-Quintanar A, R Armenta-Corral, E Moreno Villa, L Gutiérrez Coronado, P Grajeda Cota. (2006) Optimización y validación de un método de dispersión de matriz en fase sólida para la extracción de plaguicidas organofosforados en hortalizas. *Rev la Fac Agron La Univ del Zulia* 23(4):464–474.
- [68] Koste W. (1978) *Rotatoria*, 2nd ed. Die Rädertiere Mitteleuropas, 673 p.
- [69] Reid JW. (1985) *Chave de identificação e lista de referências bibliográficas para as espécies continentais sulamericanas de vida livre da ordem Cyclopoida (Crustacea, Copepoda)*, Instituto. Universidade de São Paulo.
- [70] Smirnov NN. (1992) Mesozoic Anomopoda (Crustacea) from Mongolia. *Zool J Linn Soc* 104:97–116.
- [71] Paggi JC. (1995) Crustacea Cladocera. En: *Ecosistemas de aguas continentales. Metodología para su estudio* (Eds: Lopretto E, Tell G). Ediciones Sur, La Plata, Argentina, pp 953–971.
- [72] Finney D. (1971) *Probit analysis*. London, U.K.: Cambridge University Press, 333 p.
- [73] Tsui MTK, LM Chu. (2004) Comparative Toxicity of Glyphosate-Based Herbicides: Aqueous and Sediment Porewater Exposures. *Arch Environ Contam Toxicol* 46:316–323.
- [74] Reno U, MF Gutierrez, M Longo, E Vidal, L Regaldo, A Negro, M Mariani, C Zalazar, AM Gagneten. (2015) Microcrustaceans: biological models to evaluate a remediation process of glyphosate-based formulations. *Water Air Soil Pollut* 226(10):349.
- [75] Ripley BJ, KC Davis, BJ Carter, MA Simovich. (2002) Toxicity of Malathion and Roundup ® to the San Diego fairy shrimp. *Trans West Sect Wildl Soc* 38:13–21.
- [76] Tsui MTK, LM Chu. (2003) Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: Comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere* 52(7):1189–1197.
- [77] Shen MF, A Kumar, SY Ding, S Grocke. (2012) Comparative study on the toxicity of

- pyrethroids,  $\alpha$ -cypermethrin and deltamethrin to *Ceriodaphnia dubia*. *Ecotoxicol Environ Saf* 78:9–13.
- [78] Liu W, J Gan, I Werner. (2004) Isomer Selectivity in Aquatic Toxicity and Biodegradation of Cypermethrin Environmental Toxicology View project Pelagic Organism Decline View project. *Artic J Agric Food Chem* 52:6233–6238.
- [79] Lutnicka H, P Fochtman, B Bojarski, A Ludwikowska, G Formicki. (2014) The Influence of Low Concentration of Cypermethrin and Deltamethrin on Phyto- and Zooplankton of Surface Waters. *Folia Biol* 62(3):251–257.
- [80] Warne MSJ. (2003) A review of the ecotoxicity of mixtures, approaches to, and recommendations for their management. En: *Proceedings of the Fifth National Workshop on the Assessment of Site Contamination* (Eds: Langley A, Gilbey M, Kennedy B). National Environment Protection Council Service Corporation, Adelaide, Australia., pp 253–276.
- [81] Deneer JW. (2000) Toxicity of mixtures of pesticides in aquatic systems. *Pest Manag Sci* 56(6):516–520.
- [82] Hanazato T. (1998) Response of a zooplankton community to insecticide application in experimental ponds: A review and the implications of the effects of chemicals on the structure and functioning of freshwater communities. *Environ Pollut* 101(3):361–373.
- [83] Van den Brink PJ, EM Hartgers, R Gylstra, F Bransen, TCM Brock. (2002) Effects of a mixture of two insecticides in freshwater microcosms: I. Fate of chlorpyrifos and lindane and responses of macroinvertebrates. *Ecotoxicology* 11(3):165–180.
- [84] Sakamoto M, KH Chang, T Hanazato. (2006) Inhibition of development of anti-predator morphology in the small cladoceran *Bosmina* by an insecticide: Impact of an anthropogenic chemical on prey-predator interactions. *Freshw Biol* 51(10):1974–1983.
- [85] Hanazato T. (1991) Effects of repeated application of carbaryl on zooplankton communities in experimental ponds with or without the predator *Chaoborus*. *Environ Pollut* 74(4):309–324.
- [86] Chang KH, M Sakamoto, T Hanazato. (2005) Impact of pesticide application on zooplankton communities with different densities of invertebrate predators: An experimental analysis using small-scale mesocosms. *Aquat Toxicol* 72(4):373–382.
- [87] Wallace RL, TW Snell, C Ricci, T Nogrady. (2006) *Rotifera. Biology, ecology and systematics*, 2nd ed. Amsterdam: SPB Academic Publishing 299 p.
- [88] Smirnov NN. (2017) *Physiology of the Cladocera*, 2nd ed. London, U.K.: Elsevier, 418 p.
- [89] Obertegger U, G Flaim. (2015) Community assembly of rotifers based on morphological traits. *Hydrobiologia* 753(1):31–45.

- [90] Vogt RJ, PR Peres-Neto, BE Beisner. (2013) Using functional traits to investigate the determinants of crustacean zooplankton community structure. *Oikos* 122(12):1700–1709.
- [91] Crain CM, K Kroeker, BS Halpern. (2008) Interactive and cumulative effects of multiple human stressors in marine systems. *Ecol Lett* 11(12):1304–1315.
- [92] Reno U, L Regaldo, AM Gagneten. (2016) Efectos subletales de cuatro formulaciones de glifosato sobre *Daphnia magna* y *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera). *Nat Neotrop* 47:7–20.
- [93] Benbrook CM. (2012) Impacts of genetically engineered crops on pesticide use in the U.S. – the first sixteen years. *Environ Sci Eur* 24(24):1–13.
- [94] Jeppesen E, M Meerhoff, TA Davidson, D Trolle, M Søndergaard, TL Lauridsen, M Beklioglu, S Brucet, P Volta, I González-Bergonzoni, A Nielsen. (2014) Climate change impacts on lakes: An integrated ecological perspective based on a multi-faceted approach, with special focus on shallow lakes. *J Limnol* 73(1 SUPPL):88–111.
- [95] Barros VR, JA Boninsegna, IA Camilloni, M Chidiak, GO Magrín, M Rusticucci. (2015) Climate change in Argentina: Trends, projections, impacts and adaptation. *Wiley Interdiscip Rev Clim Chang* 6(2):151–169.
- [96] Lefrancq M, A Jadas-Hécart, I La Jeunesse, D Landry, S Payraudeau. (2017) High frequency monitoring of pesticides in runoff water to improve understanding of their transport and environmental impacts. *Sci Total Environ* 587–588:75–86.
- [97] Zak D, M Stutter, HS Jensen, S Egemose, M V. Carstensen, J Audet, JA Strand, P Feuerbach, CC Hoffmann, B Christen, S Hille, M Knudsen, J Stockan, H Watson, G Heckrath, B Kronvang. (2019) An Assessment of the Multifunctionality of Integrated Buffer Zones in Northwestern Europe. *J Environ Qual* 48(2):362–375.
- [98] Vymazal J, T Březinová. (2015) The use of constructed wetlands for removal of pesticides from agricultural runoff and drainage: A review. *Environ Int* 75:11–20.
- [99] Meite F, P Alvarez-Zaldívar, A Crochet, C Wiegert, S Payraudeau, G Imfeld. (2018) Impact of rainfall patterns and frequency on the export of pesticides and heavy-metals from agricultural soils. *Sci Total Environ* 616–617:500–509.
- [100] Regaldo L, MF Gutierrez, U Reno, V Fernández, S Gervasio, MR Repetti, AM Gagneten. (2017) Water and sediment quality assessment in the Colastiné-Corralito stream system (Santa Fe, Argentina): impact of industry and agriculture on aquatic ecosystems. *Environ Sci Pollut Res* 25(7):6951–6968.
- [101] Ronco AE, DJG Marino, M Abelando, P Almada, CD Apartin. (2016) Water quality of the main tributaries of the Paraná Basin: glyphosate and AMPA in surface water and bottom sediments.

- Environ Monit Assess* 188(458):1–13.
- [102] Jabeen F, AS Chaudhry, S Manzoor, T Shaheen. (2015) Examining pyrethroids, carbamates and neonicotinoids in fish, water and sediments from the Indus River for potential health risks. *Environ Monit Assess* 187(29):1–11.
- [103] Hasanuzzaman M, MA Rahman, MS Islam, MA Salam, MR Nabi. (2018) Pesticide residues analysis in water samples of Nagarpur and Saturia Upazila, Bangladesh. *Appl Water Sci* 8(1):4–9.
- [104] Aparicio VC, E De Gerónimo, D Marino, J Primost, P Carriquiriborde, JL Costa. (2013) Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere* 93(9):1866–1873.
- [105] Jergentz S, H Mugni, C Bonetto, R Schulz. (2004) Runoff-Related Endosulfan Contamination and Aquatic Macroinvertebrate Response in Rural Basins Near Buenos Aires, Argentina. *Arch Environ Contam Toxicol* 46(3):345–352.
- [106] Rubio G, RS Lavado, FX Pereyra. (2019) *The Soils of Argentina*. (Ed: Hartemink, AE) Springer, 268 p.
- [107] GeoINTA. (2014) Mapa de suelos de la Provincia de Santa Fe. Inst. Nac. Tecnología Agropecu. Disponible en: <http://www.geointa.inta.gob.ar/2014/05/22/mapa-de-suelos-de-la-provincia-de-santa-fe/>, [03/09/2019].
- [108] Dirección Nacional de Estimaciones Agrícolas (2018-2019). Ministerio de Agroindustria Presidencia de la Nación.
- [109] SIGA-INTA. Sistema de Información y Gestión Agrometeorológica-INTA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina. Disponible en: <http://siga.inta.gob.ar/>, [24/11/2019].
- [110] Registros Pluviométricos, Dirección Provincial de Comunicaciones, Gobierno de la Provincia de Santa Fe. Disponible en: <https://www.santafe.gob.ar/regpluv/pluviometria/>, [08/04/2019].
- [111] Bain MB, NJ Stevenson. (1999) *Aquatic habitat assessment: common methods*. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society, 224 p.
- [112] Huffman RL, DD Fangmeier, WJ Elliot, SR Workman. (2013) *Soil and Water Conservation Engineering*, 7th ed. St Joseph, Michigan: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 515 p.
- [113] Singh VP. (1992) *Elementary hydrology*, 1st ed. New Jersey: Prentice-Hall, 992 p.
- [114] Instituto Geográfico Militar. (1959) Cartas Topográficas 1:50.000.
- [115] FAO. (2000) Food and Agriculture Organization of the United Nations. Assessing soil contamination: A reference manual. Disponible en:

- <http://www.fao.org/3/X2570E/X2570E00.htm>, [14/09/2020].
- [116] Burnham KP, DR Anderson. (2002) *Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach*, 2nd ed. New York: Springer, 488 p.
- [117] Fenton O, D Ó hUallacháin. (2012) Agricultural nutrient surpluses as potential input sources to grow third generation biomass (microalgae): A review. *Algal Res* 1(1):49–56.
- [118] Lee Y, J Hur, KH Shin. (2014) Characterization and source identification of organic matter in view of land uses and heavy rainfall in the Lake Shihwa, Korea. *Mar Pollut Bull* 84(1–2):322–329.
- [119] Shang P, YH Lu, YX Du, R Jaffé, RH Findlay, A Wynn. (2018) Climatic and watershed controls of dissolved organic matter variation in streams across a gradient of agricultural land use. *Sci Total Environ* 612:1442–1453.
- [120] Almada HKS, DV Silvério, MN Macedo, L Maracahipes-Santos, ECP Zaratim, KP Zaratim, A Maccari, MR Nascimento, RK Umetsu. (2019) Effects of geomorphology and land use on stream water quality in southeastern Amazonia. *Hydrol Sci J* 64(5):620–632.
- [121] Holvoet KMA, P Seuntjens, PA Vanrolleghem. (2007) Monitoring and modeling pesticide fate in surface waters at the catchment scale. *Ecol Modell* 209(1):53–64.
- [122] Caron E, P Lafrance, JC Auclair. (2012) Temporal evolution of atrazine and metolachlor concentrations exported in runoff and subsurface water with vegetated filter strips. *Agron Sustain Dev* 32(4):935–943.
- [123] Bradley PM, CA Journey, KM Romanok, LB Barber, HT Buxton, WT Foreman, ET Furlong, ST Glassmeyer, ML Hladik, LR Iwanowicz, DK Jones, DW Kolpin, KM Kuivila, KA Loftin, MA Mills, MT Meyer, JL Orlando, TJ Reilly, KL Smalling, DL Villeneuve. (2017) Expanded Target-Chemical Analysis Reveals Extensive Mixed-Organic-Contaminant Exposure in U.S. Streams. *Environ Sci Technol* 51(9):4792–4802.
- [124] Gagnetten A, L Regaldo, N Romero, N Van Opstal, U Reno, S Gervasio, M Licursi, M Marchese. (2020) Impacto de la actividad agrícola en sistemas acuáticos de las provincias de Santa Fe y Entre Ríos. En: *Contribuciones al estudio latinoamericano del rururbano* (Eds: Cardoso M, Acosta Nates P). Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, pp 488–504.
- [125] De Gerónimo E, VC Aparicio, S Bárbaro, R Portocarrero, S Jaime, JL Costa. (2014) Presence of pesticides in surface water from four sub-basins in Argentina. *Chemosphere* 107:423–431.
- [126] Jablonowski ND, A Schäffer, P Burauel. (2011) Still present after all these years: Persistence plus potential toxicity raise questions about the use of atrazine. *Environ Sci Pollut Res* 18(2):328–331.

- [127] Ministerio de salud de la República Argentina. (2014) *Los plaguicidas en Argentina*. Tema: Serie de salud ambiental N° 14, 192 p.
- [128] IUPAC. (2019) International Union of Pure and Applied Chemistry. Pesticides Properties DataBase. Disponible en: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/index.htm>, [24/09/2020].
- [129] Vonberg D, D Hofmann, J Vanderborght, A Lelickens, S Köppchen, T Pütz, P Burauel, H Vereecken. (2014) Atrazine Soil Core Residue Analysis from an Agricultural Field 21 Years after Its Ban. *J Environ Qual* 43(4):1450–1459.
- [130] Sass JB, A Colangelo. (2006) European Union bans atrazine, while the United States negotiates continued use. *Int J Occup Environ Health* 12(3):260–267.
- [131] Aparicio V, E De Gerónimo, K Hernández, D Pérez, R Portocarrero, C Vidal. (2015) *Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el ambiente*, 1st ed. Buenos Aires: Ediciones INTA, 74 p.
- [132] Berenzen N, A Lentzen-Godding, M Probst, H Schulz, R Schulz, M Liess. (2005) A comparison of predicted and measured levels of runoff-related pesticide concentrations in small lowland streams on a landscape level. *Chemosphere* 58(5):683–691.
- [133] Jurado A, E Vázquez-Suñé, J Carrera, M López de Alda, E Pujades, D Barceló. (2012) Emerging organic contaminants in groundwater in Spain: A review of sources, recent occurrence and fate in a European context. *Sci Total Environ* 440:82–94.
- [134] Elias D, L Wang, PA Jacinthe. (2018) A meta-analysis of pesticide loss in runoff under conventional tillage and no-till management. *Environ Monit Assess* 190(79):1–17.
- [135] Perez D, E Okada, V Aparicio, M Menone, JL Costa. (2017) Seasonal and spatial variations of glyphosate residues in surface waters of El Crespo stream , Buenos Aires province , Argentina. EGU General Assembly 2017, Geophysical Research Abstracts 19.
- [136] Borggaard OK, AL Gimsing. (2008) Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: areview. *Pest Manag Sci* 64:441–456.
- [137] INTA. (2011) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, *Guia practica para el cultivo de soja*. Buenos Aires: Fundación ArgenINTA, 243 p.
- [138] Hart MR, BF Quin, ML Nguyen. (2004) Phosphorus Runoff from Agricultural Land and Direct Fertilizer Effects: A Review. *J Environ Qual* 33(6):1954–1972.
- [139] Nash D, M Hannah, L Clemow, D Halliwell, B Webb, D Chapman. (2003) A laboratory study of phosphorus mobilisation from commercial fertilisers. *Aust J Soil Res* 41:1201–1212.
- [140] Nash D, M Hannah, L Clemow, D Halliwell, B Webb, D Chapman. (2004) A field study of phosphorus mobilisation from commercial fertilisers. *Aust J Soil Res* 42:313–320.

- [141] Pärn J, G Pinay, Ü Mander. (2012) Indicators of nutrients transport from agricultural catchments under temperate climate: A review. *Ecol Indic* 22:4–15.
- [142] Deelstra J, L Øygarden, AGB Blankenberg, HO Eggestad. (2011) Climate change and runoff from agricultural catchments in Norway. *Int J Clim Chang Strateg Manag* 3(4):345–360.
- [143] Michael A, J Schmidt, W Enke, T Deutschländer, G Malitz. (2005) Impact of expected increase in precipitation intensities on soil loss - Results of comparative model simulations. *Catena* 61:155–164.
- [144] Neal C, AL Heathwaite. (2005) Nutrient mobility within river basins: A European perspective. *J Hydrol* 304(1–4):477–490.
- [145] Vialle C, C Sablayrolles, J Silvestre, L Monier, S Jacob, MC Huau, M Montrejaud-Vignoles. (2013) Pesticides in roof runoff: Study of a rural site and a suburban site. *J Environ Manage* 120:48–54.
- [146] Glinski DA, ST Purucker, RJ Van Meter, MC Black, WM Henderson. (2018) Analysis of pesticides in surface water, stemflow, and throughfall in an agricultural area in South Georgia, USA. *Chemosphere* 209:496–507.
- [147] Rector RJ, DL Regehr, PL Barnes, TM Loughin. (2003) Atrazine, S -metolachlor, and isoxaflutole loss in runoff as affected by rainfall and management . *Weed Sci* 51(5):810–816.
- [148] Nakano Y, A Miyazaki, T Yoshida, K Ono, T Inoue. (2004) A study on pesticide runoff from paddy fields to a river in rural region - 1: Field survey of pesticide runoff in the Kozakura River, Japan. *Water Res* 38(13):3017–3022.
- [149] Willis GH, LL Mcdowell. (1983) Pesticides in Agricultural Runoff and Their Effects on Downstream Water Quality. *Environmetal Toicology Chem* 1:267–279.
- [150] Ley 26.011. Convenio de estocolmo sobre contaminantes organicos persistentes. Available from: <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/100000-104999/102996/norma.htm>, .
- [151] Ippolito A, M Kattwinkel, JJ Rasmussen, RB Schäfer, R Fornaroli, M Liess. (2015) Modeling global distribution of agricultural insecticides in surface waters. *Environ Pollut* 198:54–60.
- [152] Xu EG, C Bui, C Lamerdin, D Schlenk. (2016) Spatial and temporal assessment of environmental contaminants in water, sediments and fish of the Salton Sea and its two primary tributaries, California, USA, from 2002 to 2012. *Sci Total Environ* 559:130–140.
- [153] Graeber D, J Gelbrecht, MT Pusch, C Anlanger, D von Schiller. (2012) Agriculture has changed the amount and composition of dissolved organic matter in Central European headwater streams. *Sci Total Environ* 438:435–446.
- [154] Prosser RS, PF Hoekstra, S Gene, C Truman, M White, ML Hanson. (2020) A review of the

- effectiveness of vegetated buffers to mitigate pesticide and nutrient transport into surface waters from agricultural areas. *J Environ Manage* 261:110210.
- [155] Wratten SD, M Gillespie, A Decourtye, E Mader, N Desneux. (2012) Agriculture , Ecosystems and Environment Pollinator habitat enhancement : Benefits to other ecosystem services. *"Agriculture, Ecosyst Environ* 159:112–122.
- [156] Schweiger O, JP Maelfait, W Van Wingerden, F Hendrickx, R Billeter, M Speelmans, I Augenstein, B Aukema, S Aviron, D Bailey, R Bukacek, F Burel, T Diekötter, J Dirksen, M Frenzel, F Herzog, J Liira, M Roubalova, R Bugter. (2005) Quantifying the impact of environmental factors on arthropod communities in agricultural landscapes across organizational levels and spatial scales. *J Appl Ecol* 42:1129–1139.
- [157] Sweeney BW, JD Newbold. (2014) Streamside forest buffer width needed to protect stream water quality, habitat, and organisms: a literature review. *J Am Water Resour Assoc* 50(3):560–584.
- [158] Lowrance R, G Vellidis, RD Wauchope, P Gay, DD Bosch. (1997) Herbicide transport in a managed riparian forest buffer system. *Am Soc Agric Eng* 40(4):1047–1057.
- [159] Hill AR. (2018) Landscape hydrogeology and its influence on patterns of groundwater flux and nitrate removal efficiency in riparian buffers. *J Am Water Resour Assoc* 54(1):240–254.
- [160] Senbayram M, R Chen, A Budai, L Bakken, K Dittert. (2012) N<sub>2</sub>O emission and the N<sub>2</sub>O / (N<sub>2</sub>O + N<sub>2</sub>) product ratio of denitrification as controlled by available carbon substrates and nitrate concentrations. *Agric Ecosyst Environ* 147:4–12.
- [161] Arora K, SK Mickelson, MJ Helmers, JL Baker. (2010) Review of Pesticide retention processes occurring in buffer strips receiving agricultural runoff. *J Am Water Resour Assoc* 46(3):618–647.
- [162] Sommer U. (1989) *Plankton ecology: succession in plankton communities*. Berlin: Springer, 369 p.
- [163] Taylor AH, JI Allen, PA Clark. (2002) Extraction of a weak climatic signal by an ecosystem. *Nature* 416:629–632.
- [164] Beaugrand G. (2005) Monitoring pelagic ecosystems using plankton indicators. *ICES J Mar Sci* 62:333–338.
- [165] Marques SC, AL Primo, F Martinho, UM Azeiteiro, MÂ Pardal. (2014) Shifts in estuarine zooplankton variability following extreme climate events: A comparison between drought and regular years. *Mar Ecol Prog Ser* 499:65–76.
- [166] Mugni H, P Demetrio, A Paracampo, M Pardi, G Bulus, C Bonetto. (2012) Toxicity persistence in runoff water and soil in experimental soybean plots following chlorpyrifos application. *Bull*

- Environ Contam Toxicol* 89(1):208–212.
- [167] Mugni H, P Demetrio, D Marino, A Ronco, C Bonetto. (2010) Toxicity persistence following an experimental cypermethrin and chlorpyrifos application in pampasic surface waters (Buenos Aires, Argentina). *Bull Environ Contam Toxicol* 84(5):524–528.
- [168] Mugni H, A Paracampo, P Demetrio, M Pardi, G Bulus, A Ronco, C Bonetto. (2015) Toxicity Persistence of Chlorpyrifos in Runoff from Experimental Soybean Plots to the Non-target Amphipod *Hyalella curvispina*: Effect of Crop Management. *Arch Environ Contam Toxicol* 70(2):257–264.
- [169] Mugni H, A Ronco, C Bonetto. (2011) Insecticide toxicity to *Hyalella curvispina* in runoff and stream water within a soybean farm (Buenos Aires, Argentina). *Ecotoxicol Environ Saf* 74(3):350–354.
- [170] Novelli A, BH Vieira, AS Braun, LB Mendes, MA Daam, ELG Espíndola. (2016) Impact of runoff water from an experimental agricultural field applied with Vertimec® 18EC (abamectin) on the survival, growth and gill morphology of zebrafish juveniles. *Chemosphere* 144:1408–1414.
- [171] Lopes I, M Moreira-Santos, EM da Silva, JP Sousa, L Guilhermino, AMVM Soares, R Ribeiro. (2007) In situ assays with tropical cladocerans to evaluate edge-of-field pesticide runoff toxicity. *Chemosphere* 67(11):2250–2256.
- [172] Barata C, J Damasio, MA López, M Kuster, ML De Alda, D Barceló, MC Riva, D Raldúa. (2007) Combined use of biomarkers and in situ bioassays in *Daphnia magna* to monitor environmental hazards of pesticides in the field. *Environ Toxicol Chem* 26(2):370–379.
- [173] Echeverría-Sáenz S, F Mena, M Arias-Andrés, S Vargas, C Ruepert, PJ Van den Brink, LE Castillo, JS Gunnarsson. (2018) In situ toxicity and ecological risk assessment of agro-pesticide runoff in the Madre de Dios River in Costa Rica. *Environ Sci Pollut Res* 25(14):13270–13282.
- [174] Dodson SI, RA Lillie. (2001) Zooplankton communities of restored depressional wetlands in Wisconsin, USA. *Soc Wetl Sci* 21(2):292–300.
- [175] Dodson S, R Lillie, S Will-Wolf. (2005) Land Use, Water Chemistry, Aquatic Vegetation, and Zooplankton Structure of Shallow Lakes. *Ecol Appl* 15(4):1191–1198.
- [176] Dodson SI, WR Everhart, AK Jandl, SJ Krauskopf. (2007) Effect of watershed land use and lake age on zooplankton species richness. *Hydrobiologia* 579:393–399.
- [177] Shannon C, W Weaver. (1949) *The mathematical theory of communication*. Univ. Illinois Press. Urbana.
- [178] Pielou EC. (1975) *Ecological Diversity*. New York: Wiley Interscience.

- [179] Campbell CE. (2002) Rainfall events and downstream drift of microcrustacean zooplankton in a Newfoundland boreal stream. *Can J Zool* 80(6):997–1003.
- [180] Clifford H. (1972) Drift of invertebrates in an intermittent stream draining marshy terrain of west-central Alberta. *Can J Zool* 50(7):985–991.
- [181] Richardson W. (1991) Seasonal dynamics, benthic habitat use, and drift of zooplankton in a small stream in southern Oklahoma, U.S.A. *Can J Zool* 69(3):748–756.
- [182] Armitage PD, MH Capper. (1976) The numbers, biomass and transport downstream of microcrustaceans and *Hydra* from Cow Green Reservoir (Upper Teesdale). *Freshw Biol* 6:425–432.
- [183] Vásquez E, J Rey. (1989) A longitudinal study of zooplankton along the Lower Orinoco River and its Delta (Venezuela). *Ann Limnol* 25(2):107–120.
- [184] Chang K, H Doi, H Imai, F Gunji, S Nakano. (2008) Longitudinal changes in zooplankton distribution below a reservoir outfall with reference to river planktivory. *Limnology* 9(August):125–133.
- [185] Nielsen D, G Watson, R Petrie. (2005) Microfaunal communities in three lowland rivers under differing flow regimes. *Hydrobiologia* 543:101–111.
- [186] Lair N. (2006) A review of regulation mechanisms of metazoan plankton in riverine ecosystems: aquatic habitat versus biota. *River Res Appl* 22:567–593.
- [187] Czerniawski R. (2013) Reduction of zooplankton communities in small lake outlets in relation to abiotic and biotic factors. *Oceanol Hydrobiol Stud* 42(2):123–131.
- [188] Walks DJ, H Cyr. (2004) Movement of plankton through lake-stream systems. *Freshw Biol* 49:745–759.
- [189] Pace ML, SEG Findlay, D Lints. (1992) Zooplankton in advective environments: the Hudson River community and a comparative analysis. *Can J Fish Aquat Sci* 49(5):1060–1069.
- [190] Venkataramana V, VVSS Sarma, AM Reddy. (2017) River discharge as a major driving force on spatial and temporal variations in zooplankton biomass and community structure in the Godavari estuary India. *Environ Monit Assess* 189(9):474.
- [191] Guevara G, P Lozano, G Reinoso, F Villa. (2009) Horizontal and seasonal patterns of tropical zooplankton from the eutrophic Prado Reservoir (Colombia). *Limnologica* 39(2):128–139.
- [192] Allan JD. (1976) Life History Patterns in Zooplankton. *Am Nat* 110(971):165–180.
- [193] Gutierrez MF, ÜN Tavşanoğlu, N Vidal, J Yu, F Teixeira-de Mello, AI Çakiroglu, H He, Z Liu, E Jeppesen. (2018) Salinity shapes zooplankton communities and functional diversity and has complex effects on size structure in lakes. *Hydrobiologia* 813(1):237–255.

- [194] Schallenberg M, CJ Hall, CW Burns. (2003) Consequences of climate-induced salinity increases on zooplankton abundance and diversity in coastal lakes. *Mar Ecol Prog Ser* 251:181–189.
- [195] Jeppesen E, M Søndergaard, AR Pedersen, A Strzelczak, TL Lauridsen, LS Johansson. (2007) Salinity Induced Regime Shift in Shallow Brackish Lagoons. *Ecosystems* 10:47–57.
- [196] Jeppesen E, S Brucet, L Naselli-flores, E Papastergiadou, K Stefanidis, T Noges, P Noges, JL Attayde, T Zohary, J Coppens, T Bucak, R Fernandes Menezes, FR Sousa Freitas, M Kernan, M Søndergaard, M Beklioglu. (2015) Ecological impacts of global warming and water abstraction on lakes and reservoirs due to changes in water level and related changes in salinity. *Hydrobiologia* 750:201–227.
- [197] Tavsanoğlu UN, R Maleki, N Akbulut. (2015) Effects of Salinity on the Zooplankton Community Structure in Two Maar Lakes and One Freshwater Lake in the Konya Closed Basin , Turkey. *Ekoloji* 32(92):25–32.
- [198] Williams WD. (1998) Salinity as a determinant of the structure of biological communities in salt lakes. *Hydrobiologia* 381:191–201.
- [199] Soto D, P De Los Rios. (2006) Influence of trophic status and conductivity on zooplankton composition in lakes and ponds of Torres del Paine National Park (Chile). *Biologia (Bratisl)* 61(5):541–546.
- [200] Frau D, MF Gutierrez, L Regaldo, M Saigo, M Licursi. (2021) Plankton community responses in Pampean lowland streams linked to intensive agricultural pollution. *Ecol Indic* 120:1–12.
- [201] Vigiak O, B Grizzetti, A Udias-moinelo, M Zanni, C Dorati, F Bouraoui, A Pistocchi. (2019) Predicting biochemical oxygen demand in European freshwater bodies. *Sci Total Environ* 666:1089–1105.
- [202] Jeppesen E, B Kronvang, M Meerhoff, M Søndergaard, KM Hansen, HE Andersen, TL Lauridsen, L Liboriussen, M Beklioglu, A Özen, JE Olesen. (2009) Climate Change Effects on Runoff, Catchment Phosphorus Loading and Lake Ecological State, and Potential Adaptations. *J Environ Qual* 38(5):1930–1941.
- [203] Jafari N, SM Nabavi, M Akhavan. (2011) Ecological investigation of zooplankton abundance in the river Haraz, northeast Iran: Impact of environmental variables. *Arch Biol Sci* 63(3):785–798.
- [204] Langley JM, S Kett, RS Al-khalili, CJ Humphrey. (1995) The conservation value of English urban ponds in terms of their rotifer fauna. *Hydrobiologia* 313(314):259–266.
- [205] Albert MR, G Chen, GK MacDonald, JC Vermaire, EM Bennett, I Gregory-Eaves. (2010) Phosphorus and land-use changes are significant drivers of cladoceran community composition and diversity: An analysis over spatial and temporal scales. *Can J Fish Aquat Sci* 67(8):1262–1273.

- [206] Zettler ER, JCH Carter. (1986) Zooplankton community and species responses to a natural turbidity gradient in Lake Temiskaming, Ontario- Quebec. *Can J Fish Aquat Sci* 43(3):665–673.
- [207] Geddes MC. (1984) Seasonal Studies on the Zooplankton Community of Lake Alexandrina , River Murray , South Australia , and the Role of Turbidity in Determining Zooplankton Community Structure. *Mar Freshw Res* 35:417–426.
- [208] Timms B. (1970) Chemical and zooplankton studies of lentic habitats in north-eastern New South Wales. *Aust J Mar Freshw Res* 21(1):11–34.
- [209] Vinyard G, W O'brien. (1976) Effects of Light and Turbidity on the Reactive Distance of Bluegill (*Lepomis macrochirus*). *J Fish Board Canada* 33(12):2845–2849.
- [210] Confer JL, GL Howick, MH Corzette, SL Kramer, S Fitzgibbon, R Landesberg. (1978) Visual predation by planktivores. *Oikos* 31:27–37.
- [211] Gardner MB. (1981) Mechanisms of Size Selectivity by Planktivorous Fish: A Test of Hypotheses. *Ecology* 62(3):571–578.
- [212] Dejen E, J Vijverberg, LAJ Nagelkerke, FA Sibbing. (2004) Temporal and spatial distribution of microcrustacean zooplankton in relation to turbidity and other environmental factors in a large tropical lake. *Hydrobiologia* 513:39–49.
- [213] Hart RC. (1986) Zooplankton abundance, community structure and dynamics in relation to inorganic turbidity, and their implications for a potential fishery in subtropical Lake le Roux, South Africa. *Freshw Biol* 16:351–371.
- [214] Aka M, M Pagano, L Saint-Jean, R Arfi, M Bouvy, P Cecchi, D Corbin, S Thomas. (2000) Zooplankton variability in 49 shallow tropical reservoirs of Ivory Coast (West Africa). *Int Rev Hydrobiol* 85(4):491–504.
- [215] Hart RC. (1988) Zooplankton feeding rates in relation to suspended sediment content: potential influences on community structure in a turbid reservoir. *Freshw Biol* 19:123–139.
- [216] Hart RC. (1991) Food and suspended sediment influences on the naupliar and copepodid durations of freshwater copepods: Comparative studies on *Tropodiatomus* and *Metadiatomus*. *J Plankton Res* 13(3):645–660.
- [217] José de Paggi SB, JC Paggi. (2014) El zooplancton de los grandes ríos sudamericanos con planicie de inundación. *Fabacib* 18:166–194.
- [218] Bergamaschi BA, KM Kuivila, MS Fram. (2001) Pesticides associated with suspended sediments entering San Francisco Bay following the first major storm of water year 1996. *Estuaries* 24(3):368–380.
- [219] Hladik ML, JL Domagalski, KM Kuivila. (2009) Concentrations and loads of suspended

- sediment-associated pesticides in the San Joaquin River, California and tributaries during storm events. *Sci Total Environ* 408(2):356–364.
- [220] De Leo G, I Ferrari. (1993) Disturbance and diversity in a river zooplankton community: a neutral model analysis. *Coenoses* 8(2):121–129.
- [221] Ferdous Z, A Muktadir. (2009) A Review : Potentiality of Zooplankton as Bioindicator. *Am J Appl Sci* 6(10):1815–1819.
- [222] Sarma SSS, S Nandini. (2006) Review of recent ecotoxicological studies on cladocerans. *J Environ Sci Heal - Part B Pestic Food Contam Agric Wastes* 41(8):1417–1430.
- [223] Snell TW, CR Janssen. (1995) Rotifers in ecotoxicology: a review. *Hydrobiologia* 313–314(1):231–247.
- [224] Obertegger U, G Flaim. (2018) Taxonomic and functional diversity of rotifers, what do they tell us about community assembly? *Hydrobiologia* 823(1):79–91.
- [225] Barnett AJ, K Finlay, BE Beisner. (2007) Functional diversity of crustacean zooplankton communities: Towards a trait-based classification. *Freshw Biol* 52(5):796–813.
- [226] Jose de Paggi S, J Paggi, P Collins, J Collins, B Graciela. (2008) Water quality and zooplankton composition in a receiving pond of the stormwater runoff from an urban catchment. *J Environ Biol* 29(5):693–700.
- [227] Sládeček V. (1983) Rotifers as Indicators of Water Quality. *Hydrobiologia* 100:169–201.
- [228] Ricci CN. (1987) Ecology of bdelloids: how to be successful. *Hydrobiologia* 147:117–127.
- [229] Kuczyńska-Kippen N. (2018) The use of bdelloids in reference to rotifer biocoenotic indices as an indicator of the ecological state of small field water bodies: The effect of macrophytes, shading and trophic state of water. *Ecol Indic* 89:576–583.
- [230] Shuman JR. (1990) The importance of flow regimes in assessing the impact of agricultural runoff on reservoir water quality and zooplankton abundance. *Lake Reserv Manag* 6(1):71–80.
- [231] Straile D, W Geller. (1998) Crustacean zooplankton in Lake Constance from 1920 to 1995 : response to eutrophication and re-oligotrophication. *Adv Limnol* 53:255–274.
- [232] Sommer U, F Sommer. (2006) Cladocerans versus copepods: the cause of contrasting top–down controls on freshwater and marine phytoplankton. *Oecologia* 147:183–194.
- [233] Threlkeld ST. (1986) Life table responses and population dynamics of four cladoceran zooplankton during a reservoir flood. *J Plankton Res* 8(4):639–647.
- [234] Brandorff GO, ER De Andrade. (1978) The Relationship between the Water Level of the Amazon River and the Fate of the Zooplankton Population in Lago Jacaretinga. a Varzea Lake in

- the Central Amazon. *Stud Neotrop Fauna Environ* 13:63–70.
- [235] Murugan N. (1989) Population dynamics of *Moina micrura* Kurz (Cladocera: Moinidae) inhabiting a eutrophic pond of Madurai (south India). *Proc Anim Sci Indian Acad Sci* 98(3):211–222.
- [236] Petrusek A. (2002) *Moina* ( Crustacea : Anomopoda , Moinidae ) in the Czech Republic : a review. *Acta Soc Zool Bohemicae* 66:213–220.
- [237] Bos DG, BF Cumming. (2003) Sedimentary Cladoceran remains and their relationship to nutrients and other limnological variables in 53 lakes from British Columbia, Canada. *Can J Fish Aquat Sci* 60:1177–1189.
- [238] Kirk KL. (1991) Suspended clay reduces *Daphnia* feeding rate: Behavioural mechanisms. *Freshw Biol* 25:357–365.
- [239] Sergeev VN. (1973) Feeding Mechanisms and Comparative Functional Morphology of Macrothricidae (Crustacea : Cladocera). *Int Rev der gesamten Hydrobiol und Hydrogr* 58(6):903–917.
- [240] Fryer G. (1974) Evolution and adaptive radiation in the Macrothricidae (Crustacea: Cladocera): a study in comparative functional morphology and ecology. *Philos Trans R Soc London B, Biol Sci* 269(898):137–274.
- [241] Hanks KS. (1976) Sediment Loading, Its Effect on a Southern Arizona Lake and the Emerging Spring Zooplankton Community. *J Arizona Acad Sci* 11(1):3–6.
- [242] Vijverberg J. (1989) Culture techniques for studies on the growth, development and reproduction of copepods and cladocerans under laboratory and in situ conditions: a review. *Freshw Biol* 21:317–373.



**Anexo II:** Clasificación de los plaguicidas detectados según su solubilidad (mg L<sup>-1</sup>) y su movilidad (Log Koc) [126] acorde a la FAO [113]

	Solubilidad (mg L <sup>-1</sup> )	Movilidad (Log Koc)
AMPA	1.466.561	3,3
2,4-D	23.180	1,9
Glifosato	10.500	3,2
Metalaxil	8.400	2,2
Metsulfuron metilo	2.790	1,5
Imazetapyr	1.400	1,7
Metribuzin	1.165	1,8
Imidacloprid	610	2,4
Metolacoloro	530	2,1
S-metolacoloro	480	2,3
Cyproconazole	93	3,0
Diazinon	60	2,8
Tebuconazole	36	2,7
Atrazina	35	2,0
Epoxiconazole	7,1	3,0
Azoxistrobin	6,7	2,8
Haloxifop	1,6	1,9
Bifentrin	0,1	6
Mirex	0,0001	3,8

#### Solubilidad

- Muy alta
- Alta
- Media
- Baja
- Muy baja

#### Movilidad

- Movable
- Moderadamente movable
- Ligeramente movable
- Dificilmente movable
- Inmovible

**Anexo III:** Listado de taxa detectados en todos los sitios (S1, S2 y S3) y tiempos de muestreo: 1 día antes del primer evento de lluvia (InterPre), 1 día después (Post1), 7 días después (InterPos7), y 1 día después de otros dos eventos de lluvia (Post2 y Post3)

		InterPre		Post1			InterPos7			Post2			Post3				
		S1	S2	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3		
Daphniidae	<i>Ceriodaphnia dubia</i>					x											
	<i>Ceriodaphnia cornuta</i>									x	x	x	x				
Moinidae	<i>Moinodaphnia macleayi</i>			x	x		x										
	<i>Moina micrura</i>			x	x	x	x		x	x	x			x	x		
	<i>Moina reticulata</i>			x						x	x		x	x			
	<i>Moina micrura</i> macho			x	x		x			x							
	Neonato <i>Moina</i> sp.			x													
Sididae	<i>Diaphanosoma brevirreme</i>			x		x	x			x	x			x			
Chydoridae	<i>Chydorus pubescens</i>																
	<i>Coronatella monocantha</i>					x	x		x								
	<i>Ephemeroporus</i> sp.			x													
	<i>Oxyurella cursia</i>									x							
Macrothricidae	<i>Macrothrix goeldi</i>									x		x	x	x	x		
	<i>Macrothrix elegans</i>			x						x				x			
	Neonato <i>Macrothrix</i> sp.											x	x	x			
Ilyocryptidae	<i>Ilyocryptus spinifer</i>														x		
Cyclopoida	Adulto	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
	Copepodito	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
	Nauplio	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Calanoida	Adulto	x	x	x				x									
	Copepodito	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
	Nauplio	x	x	x	x	x	x	x	x		x		x	x	x	x	
Harpacticoida	Adulto			x								x					
	Copepodito			x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x		
	Nauplio		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
Asplanchnidae	<i>Asplanchna</i> sp.	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Bdelloidea	<i>Bdelloidea</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Brachionidae	<i>Anuraeopsis</i> sp.			x			x			x		x	x	x	x		
	<i>Keratella americana</i>		x					x	x			x			x		
	<i>Keratella cochlearis</i>		x	x				x			x	x			x		
	<i>Keratella tropica</i>		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
	<i>Plationus patulus</i>	x	x	x	x	x		x		x	x	x	x	x	x	x	
	<i>Platylabus quadricornis</i>	x	x	x	x	x		x		x	x	x			x		
	<i>Brachionus angularis</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	<i>Brachionus bidentata</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	<i>Brachionus quadridentatus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	<i>Brachionus rubens</i>	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Brachionus dimidiatus</i>										x	x	x					
<i>Brachionus budapestinensis</i>										x	x	x	x	x	x	x	

