



Programa de Maestría en Ciencias Ambientales

Proyecto de Tesis

Obtención de un modelo predictivo de destino ambiental de fitosanitarios y caracterización del impacto sobre las comunidades de anfibios, en una microcuenca de la cuenca del Río Santa Lucía

Estudiante: Lic. María Magdalena Carabio Foti

Orientador: Dr. Marcel Achkar

Co-Orientador: Dr. Álvaro Soutullo

Tribunal: Dr. Néstor Mazzeo Beyhaut, Dra. Lorena Rodríguez Gallego y MSc. Gabriel Laufer Grunvald

Junio de 2014

Obtención de un modelo predictivo de destino ambiental de fitosanitarios y
caracterización del impacto sobre las comunidades de anfibios, en una microcuenca
de la cuenca del Río Santa Lucía

Resumen

En los últimos años la agricultura de secano ha aumentado enormemente en nuestro país, pasando a dominar los cultivos de verano con la soja como principal componente. Esta agricultura posee una tendencia al monocultivo y a la intensificación mediante siembra continua, dependiente de fitosanitarios. Dichos productos, según sus características físico-químicas, pueden encontrarse en distintos compartimentos ambientales (suelo, agua, atmósfera y/o tejido animal), donde pueden degradarse, acumularse o experimentar alteraciones que disminuyan o aumenten su persistencia. Este nuevo escenario productivo plantea desafíos ambientales que deben ser abordados en forma urgente. En este contexto, el presente proyecto apunta a generar insumos para el monitoreo de las actividades agrícolas, el ordenamiento territorial y el diseño de estrategias productivas mediante la obtención de un modelo predictivo de destino ambiental de fitosanitarios representativo para una región y el empleo de un importante grupo como indicador biológico, como son los anfibios. Este será el primer caso a nivel nacional de un abordaje ecosistémico del problema y se desarrollará en la cuenca del Arroyo de La Virgen (afuente del Río Santa Lucía que desemboca unos 10Km aguas arriba de Aguas Corrientes), es decir, en una cuenca estratégica para el país.

Introducción

A principios del siglo XXI comenzó a darse en Uruguay un fuerte proceso de expansión de la agricultura de secano (Souto, 2005; Arbeletche y Gutiérrez, 2010; Saavedra, 2010). Actualmente, la misma ocupa una superficie que no alcanzaba desde 1957 (1:689.400 ha en 2012 (DIEA, 2012)) y está dominada por cultivos de verano, básicamente a expensas de la soja (Souto, 2005;

Arbeletche y Gutiérrez, 2010; Saavedra, 2010). Es esta una agricultura “diferente”, con una tendencia al monocultivo e intensificación mediante siembra continua.

Indudablemente este proceso de expansión ha influido positivamente en la economía del país, pero también a otros niveles ha generado consecuencias importantes, destacándose el desplazamiento de productores tradicionales, la conversión de tierras que tradicionalmente se empleaban para otro uso y el empleo de nuevas estrategias productivas, que implican un aumento en el uso de agroquímicos (fertilizantes y fitosanitarios) (Arbeletche y Gutiérrez, 2010).

Los productos fitosanitarios son sustancias creadas para matar organismos que causan daños económicos en la producción agropecuaria, pero afectan también a organismos no blanco, incluido el ser humano (Ríos et al., 2010). Por esto, su uso inadecuado puede deteriorar la calidad de las fuentes de agua, alterar la reproducción y desarrollo de especies acuáticas y terrestres, y provocar diversas afecciones en humanos y otros animales (Ríos et al., 2010; López et al., 2012).

Los suelos pueden recibir contaminantes ambientales por diferentes caminos, incluyendo la aplicación directa, deposición atmosférica, derrames, erosión desde áreas contaminadas próximas y por irrigación con aguas contaminadas, entre otros (Barra et al., 2005). Los procesos que influyen el comportamiento de los fitosanitarios en el suelo son: descomposición (química, física y microbiana), volatilización, movimiento, consumo por organismos y adsorción (Bailey & White., 1970). Este último, a su vez, depende tanto de las características del compuesto como de las del suelo y puede ser desde totalmente reversible a irreversible (Morell & Candela, 1998; Gevao et al., 2000). La adsorción controla entonces la persistencia de los fitosanitarios en el suelo, siendo el contenido de materia orgánica del compartimento el factor predominante para la retención (Boivin et al., 2005). Los residuos de algunos compuestos pueden permanecer en el suelo por años. Por ejemplo, Diamond y Owen (1996) hallaron residuos de DDT en suelos forestales de Maine (USA) que no se fumigaban con dicho producto desde hacía al menos 30 años.

Los llamados modelos ambientales son representaciones simplificadas de una cuestión de interés ambiental, con un componente matemático y uno espacial, generalmente integrados en un SIG. Algunos de ellos combinan datos de un área y un/os contaminante/s dados, para predecir la dispersión de éstos en el ambiente (Mackay, 2001). Dichos modelos son muy útiles como herramienta para comprender la forma en que los fitosanitarios se distribuyen en el ambiente, permitiendo evaluar su potencial impacto en diferentes matrices ambientales (Bozzo y Corujo, 2010).

Los anfibios que se reproducen en campos agrícolas están expuestos a niveles altos de fitosanitarios y pueden sufrir serias consecuencias a nivel de población (Peltzer et al., 2008). Estos organismos dependen de cuerpos de agua para su reproducción y desarrollo temprano, por lo que podrían encontrarse expuestos a fitosanitarios durante esa etapa. Además los anfibios poseen una piel altamente permeable que los hace más susceptibles que otros vertebrados a las variaciones del ambiente.

Los cambios en los usos del suelo han sido reportados como una de las causas del declive mundial de anfibios registrado desde los años `80 (catalogado como una de las amenazas más críticas a la biodiversidad global) (Relyea, 2006; Peltzer et al., 2008; Lajmanovich et al., 2009; Bionda et al., 2012) Diversos estudios han demostrado la toxicidad de varios fitosanitarios de la agricultura moderna sobre especies de anfibios (Lajmanovich et al., 2009; Lajmanovich et al., 2011) Se registraron efectos sobre la supervivencia y el desarrollo de larvas (Relyea, 2003; Relyea, 2004; Relyea y Hoverman, 2005; Relyea, 2005) e incluso morfologías anormales producto de mutaciones genéticas (Blaustein y Johnson, 2003; Taylor et al., 2005; Peltzer et al., 2011; Agostini et al., 2013). Sin embargo, estos trabajos en general son experimentos de laboratorio centrados en un producto a la vez, impidiendo una evaluación tanto de los efectos directos e indirectos de los fitosanitarios sobre los organismos inmersos en sus contextos ecológicos naturales (Relyea y Hoverman, 2005; Relyea, 2005), así como de los posibles efectos resultantes de la interacción entre productos (Relyea, 2009).

Por otra parte, considerando como bioindicador a un organismo (o parte de un organismo o de una comunidad de ellos) que contiene información sobre la calidad del ambiente (o una parte de el) (Markert et al., 2003), resulta ventajoso para el desarrollo de planes de monitoreo, identificar especies bioindicadoras de la presencia (actual o pasada) de fitosanitarios en un sitio. Las tablas de presencia-ausencia permiten evidenciar especies tolerantes y sensibles a los productos en cuestión. Si una especie resulta ser muy sensible, su ausencia de un sitio donde “debería estar” puede considerarse como un indicador de la presencia de dichos productos, del mismo modo que si una especie es tolerante a un compuesto y solo se encuentra esa especie en donde se debería encontrar diversidad, se puede tomar como alerta. El empleo de bioindicadores puede reflejar efectos de la contaminación sobre los componentes vivos de los ecosistemas y tiene la capacidad de evidenciar impactos toxicológicos tanto agudos como crónicos (de corto y largo plazo), denotando las consecuencias de diversas sustancias cuyas concentraciones varían en el tiempo y el espacio (Maggioni et al., 2012).

Debido a que los anfibios en su etapa larvaria están fuertemente condicionados a su entorno, estos pueden resultar una herramienta útil de alerta temprana, de bajo costo y análisis rápido y directo (Blaustein y Johnson, 2003). Diversos autores han citado a este grupo de vertebrados como excelentes bioindicadores de la calidad ambiental. Por ejemplo, Welsh y Ollivier (1998) evaluaron las diferentes densidades de anfibios nativos como indicador de estrés en arroyos, tras la introducción accidental de sedimentos finos en el ecosistema en un parque nacional de Estados Unidos. Estos autores encontraron que la densidad de anfibios era significativamente menor en los sistemas contaminados y, a su vez, afirman que el efecto fue especie-específico, asociándolo a la dependencia de ciertos microhábitats afectados en mayor o menor medida. Por otra parte, Davison (2004) analizó la asociación entre los patrones espaciales de disminución de cinco especies de anfibios de California (basado en mapas de distribución pasada y actual de las especies) y los patrones históricos de uso de pesticidas, por un período de 17 años, encontrando en 4 de las 5 especies una fuerte correlación entre la presencia de fitosanitarios y la disminución de la población.

Entre las nuevas regiones ocupadas por cultivos de secano se encuentra la cuenca del Río Santa Lucía, donde se prevé que la agricultura extensiva, aumentará un 7,6% para 2030 (llegando al 23,8%) aumentando principalmente el rubro sojero (Achkar et al., 2012). A su vez, en el contexto de los reclamos por el mal sabor del agua de OSE (marzo de 2013), la UdelaR presentó un informe (Manta et al., 2013) evidenciando la escasez de información sobre el uso de fitosanitarios y planteando como prioridad conocer la carga de dichos productos en cada porción de la cuenca; mientras que, el MVOTMA propuso declarar como zona prioritaria de la cuenca al Río Santa Lucía aguas arriba de la confluencia con el San José, Santa Lucía Chico, Arroyo de La Virgen, Río San José, Arroyo Canelón Grande y Arroyo Canelón Chico, y exigir a todos los padrones rurales ubicados en dicha cuenca, el control de la aplicación de nutrientes y plaguicidas (MVOTMA, 2013).

El empleo de modelos ambientales como predictores en evaluaciones de impacto ambiental permitiría saber a priori cuál será el destino de cierto fitosanitario en el ambiente, en qué compartimento es esperable encontrar cuál producto y sus concentraciones, incluyendo estimaciones de acumulación. Permitiría además estimar como responderá el sistema ante un cambio de dosis, método de aplicación o introducción de un nuevo producto. A su vez, los estudios a nivel comunitario permiten aproximarse a la integridad del sistema, es decir, que tan “saludable” es el funcionamiento del ecosistema a largo plazo (DeLeo y Levin, 1997).

Este nuevo escenario productivo plantea desafíos ambientales que deben ser abordados en forma urgente. Esta propuesta generará insumos para el monitoreo de las actividades agrícolas, siendo el primer caso a nivel nacional de un abordaje ecosistémico del problema y desarrollándose en una cuenca estratégica como lo es la del Río Santa Lucía.

Objetivo

Obtener un modelo de distribución de fitosanitarios que represente eficientemente la dinámica de dichos productos en una cuenca hidrográfica y evaluar en terreno el impacto de esos productos sobre las comunidades de anfibios.

Objetivos específicos

- 1) Comparar los resultados al aplicar diferentes modelos ambientales de distribución de fitosanitarios a la cuenca del Arroyo de La Virgen.
- 2) Validar los modelos aplicados, a nivel de suelos.
- 3) Evaluar la estructura comunitaria de los ensambles de anfibios presentes en la cuenca, en respuesta a diferentes concentraciones de productos fitosanitarios (según modelos).
- 4) Identificar posibles especies de anfibios indicadoras de la presencia de fitosanitarios en el ambiente.

Hipótesis y Preguntas

Hipótesis_1 – Dependiendo de la naturaleza de cada producto fitosanitario en análisis podrían hallarse residuos de los mismos en distintos compartimentos ambientales y a diferentes distancias desde su punto de aplicación.

¿En qué compartimento ambiental se pueden encontrar los principales productos aplicados en la cuenca de estudio?

¿Qué distancia desde el punto de aplicación puede recorrer cada producto de acuerdo a sus características y las de la cuenca?

¿Qué fitosanitarios se encuentran en mayores concentraciones en la cuenca?

Hipótesis_2 – En cultivos de verano el principal período de aplicación de fitosanitarios (noviembre-marzo) coincide con el período reproductivo de la mayoría de las especies de anfibios de la región (Achaval y Olmos, 2003; Peltzer y Lajmanovich, 2007). Dadas sus características, es esperable que estos organismos se vean afectados tanto a nivel comunitario como individual por la presencia de los fitosanitarios (o de los residuos de estos) que llegan a los cuerpos de agua.

¿Cómo afecta la presencia de fitosanitarios a las comunidades de anfibios?

¿La variación de la exposición a fitosanitarios afecta la riqueza y la abundancia de anfibios?

¿Existen diferencias morfológicas entre individuos, incluso dentro de una misma especie, en ambientes con diferente exposición a fitosanitarios?

¿Existe en la región alguna especie que podría ser empleada como bioindicador de la presencia de fitosanitarios?

Materiales y métodos

Área de estudio

La cuenca del Arroyo de La Virgen forma parte de la cuenca del Río Santa Lucía, la cual es estratégica, dado que abastece de agua a cerca del 60% de la población del país (Montevideo y área circundante) (DINAMA, 2009). Este arroyo nace en la Cuchilla Grande Inferior y desemboca en el Río Santa Lucía, próximo a las localidades de 25 de Agosto e Itzaingó. Durante parte de su recorrido oficia de límite departamental entre los departamentos de Florida y San José. Desemboca aproximadamente 3Km lineales aguas arriba de la ciudad de Santa Lucía y a menos de 10km lineales de Aguas Corrientes (toma de agua de OSE). La longitud recta naciente-desembocadura es aproximadamente 50km, y el recorrido es de unos 70km. El área aproximada de la cuenca ronda las 55.000Há.

Según análisis preliminar (a partir de imágenes satelitales y revisión bibliográfica), la cuenca de estudio puede dividirse en 3 regiones: superior,

próxima a las nacientes, dónde la principal cobertura de suelo es campo natural (Baeza et al., 2011); media, que presenta agricultura y pasturas; y baja, dominada por agricultura intensiva. Se estima que el principal cultivo en la cuenca es la soja.

Están citadas para la región (departamentos de Florida, Canelones y principalmente San José) 23 especies de anfibios (Achaval y Olmos, 2003), 2 de las cuales están catalogadas como “vulnerables” y 3 como “en peligro”, para nuestro país.

Metodología

En primer lugar se delimitará la cuenca y se procederá a la clasificación de usos del suelo en ella. Se emplearán para esto imágenes satelitales Landsat 5TM obtenidas del sitio de INPE, datos geográficos (Servicio Geográfico Militar; CONEAT) e información disponible en el Laboratorio DSGAT (IECA-UdelaR), así como información bibliográfica y de DIEA-MGAP.

Según los tipos de cultivos detectados, se seleccionarán para su empleo en este estudio los fitosanitarios más corrientemente empleados en ellos. Las características químicas y medioambientales de los ingredientes activos de cada producto, requeridas para correr modelos, serán consideradas según aparecen en bibliografía, datos del fabricante y páginas de Internet específicas.

Se realizará una revisión acerca de los modelos de destino ambiental existentes, a fin de seleccionar los que contemplen mejor las principales características de la región (eventos de lluvia significativos como principal forma de transporte de los productos y aplicable a nivel de cuenca, más de 50.000há). Dichos modelos serán puestos a prueba empleando el software ArcGIS®10 (ESRI, 2011), disponible en el LDSGAT.

Los productos fitosanitarios que se emplean comúnmente en los cultivos de soja (a excepción del Glifosato), tienen baja solubilidad en agua, siendo por el contrario en su mayoría liposolubles, a la vez, que tienden a ser persistentes en suelo. Dadas estas características se considera que los mejores

compartimentos para hallar dichos productos serían: suelo y tejido animal (Arias et al., 2007).

Serán seleccionados 15 sitios de muestreo dentro de la cuenca, donde 5 corresponderán a la región alta, 5 a la media y 5 a la baja, según regionalización previa realizada a partir de los usos de suelo predominantes. De forma genérica en los suelos de nuestro país la materia orgánica se concentra en los primeros 20cm (Durán, 1998). Dado que los fitosanitarios (o sus residuos) se adsorben a la materia orgánica, es en dicha porción del compartimento donde se espera encontrarlos. Por lo tanto, en cada sitio de muestreo se coleccionará una muestra de los primeros 20cm de suelo. Las mismas serán enviadas para su análisis al Laboratorio de Residuos de Plaguicidas del MGAP.

Las concentraciones de fitosanitario/s producto del análisis de las muestras obtenidas en campo, serán contrastadas con las concentraciones previstas por los diferentes modelos para los puntos correspondientes. Se determinará el grado de ajuste de cada modelo mediante un GLM, realizado con el software R® (R Development Core Team, 2008). Finalmente se procederá a seleccionar el modelo con mejor ajuste o a modificar dicho modelo a fin de que represente más verazmente la situación en estudio.

Muestreo de anfibios

En el interior de la cuenca de estudio se determinarán sistemas lénticos con diferentes “riesgos de contaminación” según el modelo de mejor ajuste. Se realizarán muestreos en todos los sistemas que estén a una distancia tal del cauce del arroyo que garantice que este no influye sobre su dinámica. Si tales sistemas superaran los 5 por región, se seleccionará al azar ese número de sistemas a muestrear por región (15 sistemas en total).

Se establecerán 2 transectas correspondientes a los diámetros mayor y menor del sistema (aproximando a una elipse su forma), sobre las cuales se realizará un muestreo estandarizado utilizando calderines.

De cada cuerpo de agua a muestrear se tomará nota de aspectos que contribuyen a la caracterización del mismo (área aproximada, profundidad, vegetación, distancia al cause del arroyo y uso del suelo en el que está inmerso), a fin de independizar los datos del efecto charco.

Luego de la colecta los individuos serán sometidos a una sobredosis de anestésico (Benzocaína) hasta su muerte (AVMA, 2007). Posteriormente los ejemplares se fijarán en alcohol 95 y serán llevados al MNHN para su clasificación taxonómica, se tomarán además medidas de largo total en adultos y de largo total, largo del cuerpo (largo hocico-cloaca) y estadio de desarrollo en larvas (Gosner, 1960). De observarse morfologías anómalas las mismas serán registradas y descritas.

Análisis de datos

Se comparará la riqueza y abundancia de especies entre sistemas mediante un método de clasificación multivariado, realizando un análisis de tipo Q (entre sitios) y empleando un índice de asociación cuantitativo apropiado. Para ello el programa empleado será el Past® (Hammer et al., 2001).

Se realizarán tablas de presencia-ausencia de especies y se las independizará del “efecto charco”, a fin de evidenciar la posible utilidad de alguna de las especies como indicador de la presencia de productos fitosanitarios en el ambiente.

Además, se compararán las características estructurales de los individuos. Para ello se tomará una aproximación a la forma corporal, como es el uso de relaciones entre dos medidas morfométricas (Vences et al., 2002), y se emplearán landmarks o formas consenso (Dayton et al., 2005). Se realizarán modelos mixtos que incluyan como factores aleatorios la especie y el sistema al cual pertenecen. En el caso del sistema, se trabajará con una matriz de correlación simétrica, asumiendo que las observaciones correspondientes a un mismo sistema estarán más correlacionadas entre ellas en comparación al resto. Como efecto fijo se trabajará con la exposición a fitosanitarios ya que el

objetivo es evaluar sus efectos. El software empleado para estos análisis será R® (R Development Core Team, 2008).

Resultados esperados

- 1) Lograr una correcta caracterización de la cuenca de estudio y aplicar al menos 3 modelos ambientales de distribución de fitosanitarios.
- 2) Definir un modelo que represente la situación actual de la cuenca del Arroyo de La Virgen en relación a los productos fitosanitarios empleados en ella.
- 3) Detectar diferencias a nivel comunitario (en riqueza y abundancia), así como diferencias morfológicas independientes de la especie y de las características físicas del sistema, entre ensambles de anfibios expuestos a diferentes concentraciones de productos fitosanitarios.
- 4) Identificar especies candidatas a bioindicadoras de la presencia de fitosanitarios en el ambiente.

Cronograma de actividades

| Año | Mes | Actividad |
|-----|-----|---|
| 1 | 1-2 | Caracterización del área de estudio: trabajo en ArcGIS® y revisión bibliográfica |
| | 3 | Establecer fitosanitarios empleados en la cuenca y caracterización físico-química de los mismos |
| | 4 | Salida de campo: reconocimiento (preparación y ejecución) |
| | 5-8 | Aplicación de modelos de destino ambiental |
| | 8 | Salida de campo: muestreo de suelo (preparación y ejecución) |

| | | |
|---|-------|--|
| 2 | 9 | Selección de los sistemas a muestrear para la caracterización de las comunidades de anfibios Preparación de la salida de campo de febrero |
| | 10 | Salida de campo: muestreo de suelo y anfibios |
| | 11-12 | Procesamiento de muestras de anfibios |
| | 13-14 | Análisis de datos de anfibios (métodos de clasificación y modelos lineales mixtos) |
| | 15 | Comparación del ajuste de los modelos mediante ANOVA |
| | 16-18 | Redacción de la Tesis |

Las salidas de campo serán realizadas en primavera-verano por coincidir con la etapa del ciclo de vida de los cultivos de verano que requiere de la aplicación periódica de fitosanitarios (cultivos que representan la mayor adición de fitosanitarios al sistema), así como con el período reproductivo de la mayoría de los anfibios citados para la región. El momento preciso será determinado por dos factores: calendario de aplicación de fitosanitarios y variables climáticas (fundamentalmente precipitaciones).

El procesamiento de las muestras de sedimento no se incluye en el cronograma dado que dependerá de los tiempos del laboratorio al cuál serán remitidas para su análisis.

Factibilidad

Cuento con una beca de la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII), desde marzo del corriente año a agosto de 2015. Título del proyecto: “Fitosanitarios en la cuenca del Arroyo de La Virgen: desarrollo de un modelo predictivo de destino ambiental y caracterización del impacto sobre las comunidades de anfibios”. Orientadores: Dr. Marcel Achkar y Dr. Álvaro Soutullo.

Bibliografía

- Achaval F, Olmos A (2003) Anfibios y reptiles del Uruguay. 2ª edición, Graphis impresora, Montevideo.
- Achkar M, Dominguez A, Pesce F (2012) Cuenca del Río Santa Lucía – Uruguay. Aportes para la discusión ciudadana. En: www.redes.org.uy
- Agostini MG, Kacoliris F, Demetrio P, Natale GS, Bonetto C, Ronco AE (2013) Abnormalities in amphibian populations inhabiting agroecosystems in northeastern Buenos Aires Province, Argentina. *Diseases of Aquatic Organisms*, 104, 163-171.
- American Veterinary Medical Association (AVMA) (2007) Guidelines on Euthanasia. Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia.
- Arbeletche P, Gutiérrez G (2010) Crecimiento de la agricultura en Uruguay: exclusión social o integración económica en redes. PAMPA, 06, 113-138.
- Arias-Estévez M, López-Periago E, Martínez-Carballo E, Simal-Gándara J, Mejuto JC, García-Río L (2007) The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 123, 247-260.
- Baeza S, Gallego F, Lezama F, Altesor A, Paruelo J (2011) Cartografía de los pastizales naturales en las regiones geomorfológicas de Uruguay. 2, 33-54. En: Bases ecológicas y tecnológicas para el manejo de pastizales. FPTA N°26, INIA.
- Bailey GW, White JL (1970) Factors influencing the adsorption, desorption, and movement of pesticides in soil. *Residue Reviews* 32, 39-92
- Barra R, Colombo JC, Eguren G, Gamboa N, Jardim WF, Mendoza G (2005) Persistent Organic Pollutants (POPs) in Eastern and Western South American Countries. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 185, 1-33.
- Bionda C, Gari N, Luque E, Salas N, Lajmanovich R, Martino A (2012) Ecología trófica en larvas de *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) en

agroecosistemas y sus posibles implicaciones para la conservación. *Revista de Biología Tropical*, 60 (2), 771-779.

Blaustein AR, Johnson PTJ (2003). The complexity of deformed amphibians. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 1(2), 87-94.

Boivin A, Cherrier R, Schiavon M (2005) A comparison of five pesticides adsorption and desorption processes in thirteen contrasting field soils. *Chemosphere* 61, 668–676.

Bozzo A, Corujo A (2010) Diagnóstico ambiental sobre el manejo de fitosanitarios en el cultivo de cebolla en el departamento de Salto-Uruguay.

Davidson C (2004) Declining downwind: amphibian population declines in California and historical pesticide use. *Ecological Applications*, 14, 1892–1902.

Dayton GH, Saenz D, Baum KA, Langerhans RB, DeWitt TJ (2005) Body shape, burst speed and escape behavior of larval anurans. *Oikos* 111, 582–591.

DeLeo G, Levin S (1997) The multifaceted aspects of ecosystem integrity. *Conservation ecology*, 1, art. 3.

Dimond JB, Owen RB (1996) Long-term residue of DDT compounds in forest soils in Maine. *Environmental Pollution* 92(2), 227-230.

Dirección de Estadísticas Agropecuarias (DIEA) (2012) Encuesta Agrícola “Invierno 2012”. En: www.mgap.gub.uy

Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) (2009) Informe Nacional del Estado del Ambiente / Uruguay 2009. Capítulo 8. En: www.mvotma.gub.uy

Durán A (1998) Contenido y distribución geográfica de carbono orgánico en suelos del Uruguay. *Agrociencia* 2, 37-47.

- ESRI (2011) ArcGIS® Desktop: Release 10. Redlands, CA: Environmental Systems Research Institute.
- Gevao B, Semple KT, Jones KC (2000) Bound pesticide residues in soils: a review. *Environmental Pollution* 108, 3-14.
- Gosner KL (1960) A simplified table for stating anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16, 183-190.
- Hammer O, Harper DAT, Ryan PD (2001) PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica* 4(1):9 pp.
- Instituto Nacional De Pesquisas Espaciais. Ministério da Ciência, Tecnologia e inovação. <http://www.inpe.br/>
- Lajmanovich R, Attademo A, Peltzer P, Junges C (2009) Inhibition and recovery of brain and tail cholinesterases of *Odontophrynus americanus* tadpoles (Amphibia: Cycloramphidae) exposed to fenitrothion. *Journal of Environmental Biology*, 30(5), 923-926.
- Lajmanovich R, Attademo A, Peltzer P, Junges C, Cabagna M (2011) Toxicity of four herbicide formulations with Glyphosate on *Rinella arenarum* (Anura: Bufonidae) tadpoles: B-esterases and Glutathione S-transferase inhibitors. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 60, 681-689.
- López S, Aiassa D, Benítez-Leitec S, Lajmanovich R, Mañas F, Poletta G, Sánchez N, Simoniello M, Carrasco A (2012) Pesticides used in South American GMO-based agriculture: a review of their effects on humans and animal models. *Advances in Molecular Toxicology*, 61, 42-75.
- Mackay D (2001) Multimedia Environmental Models: The Fugacity Approach. Lewis Publishers.
- Maggioni T, Hued AC, Monferrán MV, Bonansea RI, Galanti LN, Amé MV (2012). Bioindicators and Biomarkers of Environmental Pollution in the

Middle-Lower Basin of the Suquía River (Córdoba, Argentina). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 63, 337-353.

Manta E, Cancela H, Cristina J, García Préchac F (2013) Informe de los decanos de las facultades de Química, Ingeniería, Ciencias y Agronomía al Concejo Directivo Central de La Universidad de La República sobre el agua de OSE. En: <http://portal.fagro.edu.uy>

Markert B, Breure T, Zechmeister H (2003). Bioindicators and biomonitoring. Principles, concepts and applications. *Elsevier*.

Ministerio de Vivienda Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente (MVOTMA) (2013) Plan de acción para la protección del agua en la cuenca del Santa Lucía. En: www.mvotma.gub.uy

Morell I, Candela, L (1998) Adsorción de herbicidas en suelos. Aplicación al estudio del comportamiento de Imazamethabenz-methyl en suelos de cultivo. *Plaguicidas. Aspectos ambientales, analíticos y toxicológicos*, 33-46.

Peltzer P, Lajmanovich R (2007) Amphibians. The middle Paraná River: Limnology of Subtropical Wetland. Springer, Berlin Heidelberg New York. Pag. 327-340.

Peltzer P, Lajmanovich R, Sánchez L, Attademo A, Junges C, Bionda C, Martino A, Basso A (2011) Morphological abnormalities in amphibian populations from the mid-eastern region of Argentina. *Herpetological Conservation and Biology*, 6(3): 432-442.

Peltzer P, Lajmanovich R, Sánchez-Hernandez J, Cabagna M, Attademo A, Basso A (2008) Effects of agricultural pond eutrophication on survival and health status of *Scinax nasicus* tadpoles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70, 185-197.

- R Development Core Team (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Relyea R (2003) Predator cues and pesticides: a double dose of danger for amphibians. *Ecological Applications*, 13, 1515–1521.
- Relyea R (2004) Growth and survival of five amphibian species exposed to combinations of pesticides. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23, 1737–1742.
- Relyea R (2005) The impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities. *Ecological Applications*, 15, 618–627.
- Relyea R (2006) The effects of pesticides, pH, and predatory stress on amphibians under mesocosm conditions. *Ecotoxicology*, 15(6), 503-511.
- Relyea R (2009) A cocktail of contaminants: how mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities. *Oecologia*, 159, 363-376.
- Relyea R, Schoeppner N, Hoverman J (2005) Pesticides and amphibians: the importance of community context. *Ecological Applications*, 15(4), 1125-1134.
- Ríos M, Zaldúa N, Cupeiro S (2010) Evaluación participativa de plaguicidas en el sitio RAMSAR, Parque Nacional Esteros de Farrapos e Islas del Río Uruguay. Vida Silvestre Uruguay.
- Saavedra C (2010) Un Siglo de Agricultura. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, MGAP. En: www.mgap.gub.uy
- Souto G (2005) Los rasgos de la agricultura de secano en Uruguay. El camino recorrido hasta el actual auge de la actividad. Sus posibilidades futuras. En: www.inia.org.uy

Taylor B, Skelly D, Demarchis L, Slade MD, Galusha D, Rabinowitz PM (2005). Proximity to Pollution Sources and Risk of Amphibian Limb Malformation. *Environmental Health Perspectives*, 113(11), 1498-1501.

Vences M, Puente M, Nieto S, Vieites DR (2002) Phenotypic plasticity of anuran larvae: environmental variables influence body shape and oral morphology in *Rana temporaria* tadpoles. *Journal of Zoology* 257, 155–162.

Welsh HH, Ollivier LM (1998) Stream amphibians as indicators of ecosystem stress: a case study from California's redwoods. *Ecological Applications* 8, 1118–1132.