



Universidad de la República - Centro Universitario de la Región Este

Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas

Tesis de Maestría - Área Biología

Sub-área Ecología y Evolución

Estructura de la red trófica y presencia de
plaguicidas en el sistema Laguna del Sauce:
bases para el desarrollo de estrategias de
biomonitoreo

Lic. Franca Stábile

Orientadores: Dr. Néstor Mazzeo y Dr. Franco Teixeira de Mello

Montevideo, Uruguay

2018

Universidad de la República
Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas
Área Biología
Sub-área Ecología y Evolución

La tesis de maestría “Estructura de la red trófica y presencia de plaguicidas en el sistema Laguna del Sauce: bases para el desarrollo de estrategias de biomonitorio” de la Lic. Franca Stábile ha sido aprobada con Mención por la siguiente Comisión de Evaluación:

Dr. Matías Arim (CURE, UdelaR)

Dra. Laura Rodríguez-Graña (CURE, UdelaR)

Dr. Álvaro Soutullo (CURE, UdelaR)

Fecha: 11 de mayo de 2018

Índice

Agradecimientos	v
Resumen	vii
Abstract.....	viii
Introducción.....	1
<i>Comportamiento de los plaguicidas en el ambiente y en los organismos.....</i>	<i>2</i>
<i>Los peces como biomarcadores de exposición a plaguicidas</i>	<i>5</i>
<i>Procesos de biomagnificación y estudio de las tramas tróficas a través de análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno.....</i>	<i>7</i>
<u>Laguna del Sauce como modelo de estudio</u>	<u>10</u>
<i>Usos del suelo en la cuenca de la Laguna del Sauce</i>	<i>13</i>
Hipótesis y objetivos	16
<u>Objetivo general</u>	<u>17</u>
<u>Objetivos específicos</u>	<u>17</u>
Metodología	18
<u>1. Obtención de muestras</u>	<u>18</u>
1.1. <i>Colecta</i>	<i>18</i>
1.2. <i>Procesamiento</i>	<i>21</i>
<u>2. Caracterización de la red trófica</u>	<u>22</u>
2.1.1. <i>Preparación de muestras para análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno</i>	<i>22</i>
2.1.2. <i>Análisis de datos de isótopos estables</i>	<i>23</i>
2.2.1. <i>Análisis de contenido estomacal de peces</i>	<i>27</i>
2.2.2. <i>Análisis de datos de contenido estomacal de peces</i>	<i>27</i>
<u>3. Análisis del contenido de plaguicidas en peces y sedimentos</u>	<u>28</u>
3.1. <i>Análisis directo en ambas matrices</i>	<i>28</i>
3.2. <i>Análisis de datos.....</i>	<i>29</i>
<u>4. Selección de especies de peces con potencial para ser utilizadas como biomarcadores de exposición a plaguicidas</u>	<u>30</u>
Resultados	32
<u>1. Caracterización de la red trófica de Laguna del Sauce.....</u>	<u>32</u>
1.1 <i>Estructura trófica y principales fuentes de carbono del sistema</i>	<i>33</i>
1.2 <i>Comunidad de invertebrados</i>	<i>39</i>
1.3 <i>Comunidad de peces</i>	<i>41</i>

<u>2. Análisis de contenido estomacal y descripción de grupos tróficos en peces.....</u>	<u>46</u>
<u>3. Evaluación del contenido de plaguicidas en sedimentos y peces</u>	<u>48</u>
3.1 Análisis del contenido de plaguicidas en sedimentos	48
3.2 Análisis del contenido de plaguicidas en peces.....	49
3.3 Características de los plaguicidas detectados en peces y sedimentos	57
<u>4. Selección de especies de peces con potencial para monitoreo de plaguicidas ...</u>	<u>60</u>
Discusión	64
<i>Matriz sedimentos</i>	<i>64</i>
<i>Matriz peces</i>	<i>67</i>
<i>Hábitos tróficos y plaguicidas</i>	<i>69</i>
<i>Presencia de plaguicidas y posición trófica: evaluación de biomagnificación</i>	<i>70</i>
<i>Patrones espaciales observados en las tramas tróficas</i>	<i>73</i>
<i>Distribución espacial de la presencia de plaguicidas en peces y sedimentos de Laguna del Sauce.....</i>	<i>79</i>
<i>Los peces como biomarcadores de exposición a plaguicidas</i>	<i>82</i>
<i>Plaguicidas en el ambiente, dependencia del contexto</i>	<i>82</i>
Conclusiones.....	85
Perspectivas	86
Referencias bibliográficas.....	89
Anexo	108

Agradecimientos

A mis tutores, Néstor y Franco, por su apoyo y orientación durante la realización de este trabajo. Gracias por sus enseñanzas, sus aportes al trabajo, por el tiempo dedicado y buena onda en los muestreos. Además quiero agradecer a Franco por su generosidad y por alojarme en Maldonado mientras viajé hacia allí.

A los miembros del tribunal, Matías Arim, Laura Rodríguez-Graña y Álvaro Soutullo por sus aportes a este trabajo, que lo mejoraron y enriquecieron.

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación por la beca de Maestría que recibí durante dos años, y también a la Comisión Académica de Posgrado por la beca de finalización que me otorgó.

A Beatriz Alonso, Andrés Pérez-Parada, Horacio Heinzen y todo el grupo GACT de Facultad de Química, con quienes trabajamos en colaboración para realizar los análisis de plaguicidas. Quiero agradecer muy especialmente a Bea y Andrés por enseñarme un montón, por recibirme en su laboratorio, por motivarse con el proyecto, por compartir charlas de esa mezcla de “Química-Biología” que tanto disfrutamos.

A Iván González-Bergonzoni, que participó en todas las etapas de este trabajo, ya sea en los muestreos, en enseñarme a procesar las muestras o con el análisis y discusión de resultados de las redes tróficas, en todas ellas, enseñándome un montón. ¡Muchas gracias por la paciencia y generosidad a la hora de compartir tus conocimientos!

A Nico Vidal, por su ayuda durante el análisis de muestras de contenido estomacal e isótopos estables.

A Valen Franco-Trecu, gracias por su apoyo, por alojarme en Maldonado, por las charlas, por los abrazos, por el cariño... y por su ayuda siempre que el R me sacó de quicio!!

A Ani y Clemen, dúo dinámico genial, siempre al firme en los muestreos, en el lab y en hacerme unos aguantes de cabeza increíbles y super necesarios. Gracias también por hacer de todas esas etapas mucho más lindas y divertidas.

A todas las personas que participaron durante los muestreos: a Franco, Ani, Clemen, Néstor, Guille, Cacú, Juan Pablo, Iván, Clau, Checho, Ale y Sami.

A todo el grupo de Ecología y Rehabilitación de Ecosistemas Acuáticos del CURE Maldonado, por la calidez con la que me recibieron, por hacer que las instancias en Maldonado sean tan divertidas y formativas.

A Mai Burwood, Ani, Clemen, Sami, Lu Gaucher, Sole, Lu González... Por hacer del laboratorio del Cure un verdadero disfrute, por hacer que las eternas horas de lupa fueran divertidas, por el apoyo siempre.

A los integrantes del Laboratorio de Evolución, pero sobre todo a Enrique Lessa, Ivanna Tomasco, Nico Boullosa y Alejandro D'Anatro por apoyarme durante el desarrollo de mi tesis, por permitirme utilizar el Laboratorio para pesar las muestras de isótopos estables y la lupa para hacer los análisis de contenido estomacal. Quiero agradecer especialmente a Nico por ser un gran compañero en este ámbito.

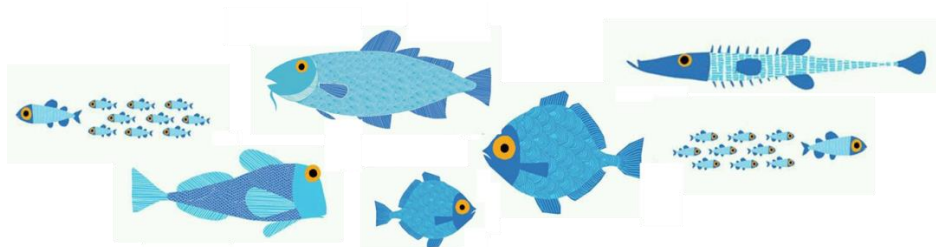
Al Liceo Logosófico por siempre entender mi vida de bióloga y apoyarla... A mis compas del liceo, por el apoyo y el cariño.

A mis amigas y amigos, muy especialmente a Valen, Romi, Vicky y Mai, las hermanas que me regaló la carrera... gracias por su apoyo siempre, por compartir, ¡¡por ser!!

A mi familia, y muy especialmente a Tití, mamá, papá y mis hermanos Guille y Javi. Ellos son mis pilares, por los que me siento agradecida cada día, quienes disfrutan conmigo cada logro y sufren cada caída pero siempre están ahí para ayudarme a seguir.

A Guille... no hay palabras para agradecer todo su apoyo, su amistad, su compañerismo y su amor. Gracias por caminar a mi lado en este proyecto que es la vida...

*Dedicada a mis padres, quienes me enseñaron a respetar y maravillarme con lo vivo...
y a mi abuelo, quien me enseñó a pescar*



Resumen

La presencia de plaguicidas en los cuerpos de agua representa un riesgo potencial para el ecosistema y para la salud humana. Una vez que los plaguicidas están en el ecosistema acuático, permanecerán asociados a distintos compartimentos según sus propiedades fisicoquímicas, pudiendo ingresar al cuerpo de los organismos que lo habitan. Laguna del Sauce es un lago subtropical somero formado por tres subsistemas conectados: Laguna del Sauce (LS), Laguna de los Cisnes (LC) y Laguna del Potrero (LP). Es un sistema eutrófico, con la particularidad de que presenta un patrón espacial complejo de respuestas a la eutrofización. Mientras LP está dominado por macrófitas y presenta un estado de aguas claras, LS es un sistema de aguas turbias, ya sea por sedimento o fitoplancton. LC, por otra parte, presenta características intermedias. El sistema Laguna del Sauce es la fuente más importante de agua potable para el departamento de Maldonado, donde se ha registrado presencia de plaguicidas en agua, derivados de los diferentes usos del suelo que tiene la cuenca. Esta situación representa riesgos de contaminación y poco se conoce sobre los procesos químicos y biológicos que podrían estar interactuando con la llegada de plaguicidas al sistema.

El objetivo de este trabajo fue analizar la estructura de la red trófica de la Laguna del Sauce y determinar la concentración de plaguicidas en peces y sedimentos, evaluando qué factores afectan su distribución en la red trófica. En el presente estudio, considerando un muestreo puntual, se detectó la presencia de 4 plaguicidas distintos en peces y 7 en sedimentos, y se observaron importantes diferencias en la distribución de plaguicidas y la estructura de la trama trófica según el subsistema muestreado. El subsistema LP, dominado por macrófitas, fue el que tuvo la comunidad de peces con mayor riqueza de especies, mayor amplitud en la utilización de las fuentes de carbono y mayor diversidad trófica. A su vez, LP fue el subsistema con menor presencia de Atrazina y mayor presencia de Metalaxil en peces. En general, se detectó una mayor diversidad de compuestos y en mayor frecuencia en los peces detritívoros. Sin embargo, esto no puede tratarse con independencia del contenido lipídico en músculo (mayor en estos peces), que fue una variable importante a la hora de explicar la presencia de plaguicidas en peces. Finalmente, se sugieren ciertas especies de peces para ser utilizadas como biomarcadores de exposición a plaguicidas en el sistema Laguna del Sauce y a nivel país. Este trabajo, enfatiza la importancia de realizar monitoreos a largo plazo que permitan entender la dinámica de los plaguicidas en los sistemas acuáticos y los múltiples factores que la condicionan.

Palabras clave: bioacumulación de plaguicidas, redes tróficas, lago somero subtropical

Abstract

The presence of pesticides in freshwater ecosystems represents a risk for aquatic communities and human health. Pesticide distribution in aquatic ecosystems depends on the physical-chemical properties of the substance and the characteristics of the environmental matrices (e.g. organisms, sediment and water). Laguna del Sauce is a eutrophic subtropical system formed by three connected shallow lakes: “del Sauce” (LS), “de los Cisnes” (LC) and “del Potrero” (LP). This system shows different regimes with contrasting macrophyte cover. LS is a turbid system by sediment resuspension or algal biomass, with recurrent summer cyanobacterial blooms. On the other hand, LP has clear waters and dominance of free-floating and submerged macrophytes. Finally, LC has intermediate characteristics. Laguna del Sauce is the main water reservoir serving as drinking water source for Maldonado department (Uruguay), and pesticides have been found in water samples during regular monitoring. This situation represents risks of contamination and little is known about the chemical and biological processes that could be interacting with pesticides in the ecosystem.

The aim of this work was to analyse the food web structure of Laguna del Sauce and to determine the pesticide concentration in sediments and fishes. Furthermore, we evaluate which factors contribute to the distribution of pesticides in the trophic web. Considering a “one moment in time” sampling, 4 different pesticides in fishes and 7 in sediments were detected and important differences were observed in pesticide distribution and food web structure according to the sampled subsystem. The fish community of LP, system dominated by macrophytes, was the richest and they consumed a broader range of basal resources, which was also reflected in a greater trophic diversity. Moreover, LP was the system with less presence of Atrazine and greater presence of Metalaxyl in fishes. In general, a greater diversity of compounds and in higher frequency was detected on detritivore fishes. Thus, fishes’ muscle lipid content was an important factor to explain pesticide presence. Furthermore, some fish species were suggested to be used as pesticide biomarkers of exposure for Laguna del Sauce as well as for others freshwater systems of Uruguay. This work emphasizes the importance of carrying out standardized long-term monitoring to understand the dynamics of pesticides in aquatic systems and the multiple factors that affect them.

Key words: pesticide bioaccumulation, food webs, subtropical shallow lake

Introducción

La agricultura moderna es altamente dependiente de la utilización de plaguicidas para mantener o aumentar los rendimientos de los cultivos (Willis, 1982; Schulz, 2004). Los plaguicidas son sustancias químicas destinadas a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), es considerado plaga cualquier organismo que cause daños económicos en la producción agropecuaria, ya sea durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución, o en la elaboración de alimentos o productos agrícolas. El término plaguicida también incluye a las sustancias que puedan administrarse a los animales para combatir ectoparásitos (FAO, 1986).

De acuerdo al tipo de organismos a quien van dirigidos, los plaguicidas se clasifican en: herbicidas (control de malezas), fungicidas (hongos), insecticidas (insectos), acaricidas (ácaros), rodenticidas (roedores), entre otros. Además, pueden clasificarse según su composición química, siendo los grupos más importantes los carbamatos, derivados de urea, organoclorados, organofosforados, organometálicos, piretroides y las triazinas (Walker, 2009; Burger & Pose Román, 2012).

Lamentablemente, solo parte de los plaguicidas aplicados llegan a su destino objetivo (Brady & Weil, 1996; Leu et al., 2004). Múltiples plaguicidas se transportan hacia los sistemas de aguas superficiales por deposición atmosférica o por escorrentía, ya sea de forma disuelta o asociado a partículas (orgánicas o inorgánicas) (Willis, 1982).

La presencia de plaguicidas en los cuerpos de agua es una de las perturbaciones más importantes de los ecosistemas acuáticos localizados en cuencas agrícolas y representa un riesgo potencial para la integridad del ecosistema acuático, así como para la salud humana (Willis, 1982; Schulz, 2004; Schwarzenbach et al., 2006; Ernst et al., 2018).

Comportamiento de los plaguicidas en el ambiente y en los organismos

Si se considera el ambiente como un conjunto de compartimentos con propiedades fisicoquímicas diferentes (ej.: agua, aire, suelo, sedimento), los plaguicidas tenderán a permanecer asociados a distintos compartimentos según sus propiedades fisicoquímicas. El modelo más conocido y más aplicado para predecir la distribución de plaguicidas en el ambiente es la teoría del equilibrio de partición (TEP) que propone a cada compartimento ambiental como una fase diferente (Mackay, 2001).

Dentro de la TEP, el modelo más simple asume que: (1) cada fase es homogénea, (2) que existe contacto entre los compartimentos (ej.: agua/sedimento o agua/atmósfera) y (3) que ha transcurrido tiempo suficiente para que el sistema esté en equilibrio. Cuando los compartimentos no están en equilibrio, a través de las leyes de la termodinámica se podría predecir hacia dónde va a difundir la sustancia para alcanzar el equilibrio nuevamente (Mackay, 1979) (Fig. 1).

En este contexto se utiliza el concepto de fugacidad, introducido originalmente por Lewis (1901), que está relacionado a la tendencia de una sustancia a “preferir” determinada fase (líquida, sólida o gas). La fugacidad no es directamente medible pero está linealmente relacionada con la concentración. En el equilibrio, la fugacidad de una sustancia química es igual en todas las fases. Cuando existe un desequilibrio, se producirían cambios de fase, y la sustancia se movería desde la fase con mayor fugacidad hacia la que tiene menor fugacidad (Mackay, 1979, 2001) (Fig. 1).

En el ambiente, los plaguicidas sufren procesos de transporte difusivos y no difusivos que ocurren a la vez. Como ejemplos de transporte difusivo se pueden nombrar la volatilización que ocurre desde el suelo hacia el aire cuando los plaguicidas son aplicados en un cultivo, los procesos de absorción y adsorción que ocurren en la inter-fase agua/sedimento o el ingreso a través de la respiración branquial que ocurre por ejemplo en los peces. Por otro lado, los eventos de llegada de plaguicidas desde el aire al sistema acuático a través de la lluvia, la deposición de químicos desde el agua hacia los sedimentos (asociados a materia en suspensión), la resuspensión de sedimentos o la

ingestión y excreción de organismos que contienen poluentes son de procesos de transporte no difusivos (Mackay, 2001).

Una vez que los plaguicidas están en el ecosistema acuático, permanecen asociados a distintos compartimentos. Frecuentemente permanecen asociados a los sedimentos, que por sus diferencias en el contenido de materia orgánica, actúan como reservorios heterogéneos de contaminantes, reteniendo tanto sustancias polares como apolares, incluso por largos períodos de tiempo (Ccanccapa et al., 2016). Por otro lado, los plaguicidas pueden ingresar al cuerpo de los organismos, por consumo de alimentos o agua, o pueden ser directamente absorbidos por sus tejidos (a través de la piel o en el caso de los peces a través de las branquias) (Bruggeman et al., 1984; Halmelink & Spacie, 1977; Mackay & Fraser, 2000; van der Oost et al., 2003). Los equilibrios químicos entre las distintas fases, recientemente comentados, se establecen en conjunto con los organismos que habitan el ambiente, e incluso también dentro de su propio cuerpo (ej. sustancias con afinidad por los lípidos tienden a acumularse en el tejido graso) (van der Oost et al., 2003).

Cuando la cantidad de una sustancia química que ingresa al organismo es superior a su capacidad de metabolizarlo y/o excretarlo, ésta se acumula, proceso denominado bioacumulación (Halmelink & Spacie, 1977; Clements & Newman, 2002) (Fig. 1). Además, puede ocurrir un proceso de biomagnificación, donde los plaguicidas tienden a aumentar sus concentraciones en los niveles tróficos superiores de la red trófica (Connell, 1988; Clements & Newman, 2002).

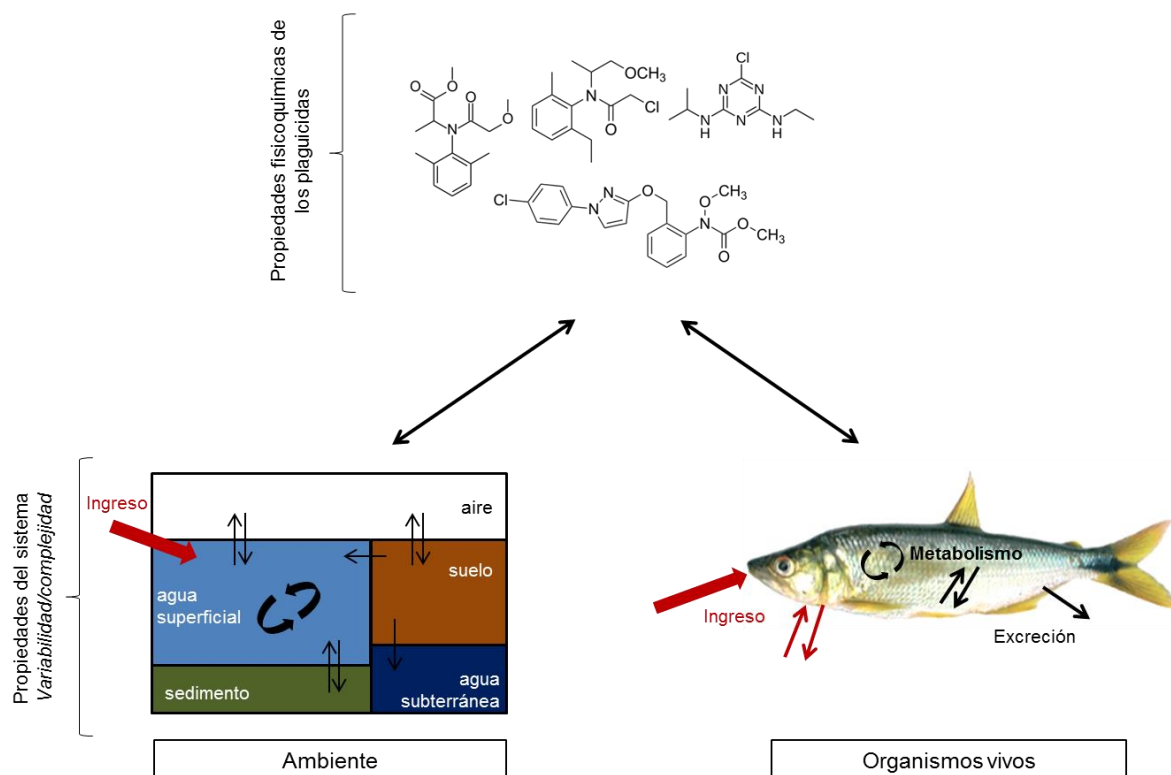


Figura 1. Esquema representando la teoría del equilibrio de partición que permite modelar la distribución de plaguicidas en los sistemas acuáticos y los peces que habitan en ellos. Modificado a partir de Schwarzenbach et al. (2006).

Los organismos pueden estar expuestos de manera continua o periódica a plaguicidas. Eventos puntuales con elevada concentración de plaguicida pueden generar efectos agudos letales, mientras que los efectos crónicos se vinculan a exposiciones prolongadas a bajas concentraciones de plaguicida, que producen efectos sub-letales (Halmelink & Spacie, 1977). Los efectos sub-letales son más complejos de evaluar, ya que no causan la muerte inmediata del animal pero pueden ocasionar la muerte a largo plazo. Por ejemplo, se ha reportado que la exposición de organismos a poluentes puede generar un crecimiento más lento y menores tallas de madurez (Sherwood et al., 2002), comportamientos anormales (Mattsson et al., 2015, 2017), imposibilidad de reproducirse por inviabilidad de embriones (Zhu et al., 2015), entre otros (Mackay, 2001).

El nivel de exposición a plaguicidas o sus metabolitos puede estimarse mediante la cuantificación directa de residuos en tejidos biológicos (ej.: músculo o hígado de peces) (por detalles consultar Rasmussen et al., 1990; Kiriluk et al., 1995; Pérez Guida & Teixeira de Mello, 2010; Coat et al., 2011;

Ernst et al., 2018). La bioacumulación de plaguicidas, u otros contaminantes persistentes, en los tejidos de ciertos animales podrían considerarse como biomarcadores de exposición (ver siguiente sección) (WHO, 1993; van der Oost et al., 2003).

Por otro lado, los efectos que tiene la exposición de los organismos a plaguicidas a nivel de organismos o poblaciones es típicamente evaluado a través de estudios con biomarcadores (ej.: daño en el ADN, perfiles de porfirinas, entre otros) (van der Oost et al., 2003). Los plaguicidas pueden ocasionar un daño dependiendo principalmente de la concentración de la sustancia y su toxicidad (Halmelink & Spacie, 1977; Willis, 1982). También se debe considerar que un plaguicida puede interactuar con otros tóxicos presentes en el ambiente, pudiendo existir efectos aditivos, antagónicos o sinérgicos en su toxicidad (Chapman, 1996; Fernandez-Alba et al., 2001; Fernandez-Alba et al., 2002).

En resumen, los efectos de una sustancia tóxica sobre un organismo dependen de la concentración de la sustancia en el medio, de sus características fisicoquímicas (persistencia, solubilidad o toxicidad de la sustancia), las características fisicoquímicas del ambiente, así como de la biología y ecología de los organismos y su capacidad de detoxificación (Halmelink & Spacie, 1977; Willis, 1982; Mazzeo et al., 1998). A modo de ejemplo, si un plaguicida tiene afinidad por los lípidos, probablemente se asociará mayormente a especies con alto contenido lipídico en sus tejidos (ej.: Bruggeman et al., 1984). A su vez, el régimen de alimentación también condiciona el grado de exposición a las sustancias (Fan et al., 2017). Las especies detritívoras, por ejemplo, estarían más expuestas a compuestos que se acumulen en el sedimento.

Los peces como biomarcadores de exposición a plaguicidas

Varios organismos acuáticos han sido utilizados para evaluar y monitorear la calidad de las aguas superficiales. En este contexto se utilizan distintos términos (organismo bioindicador y biomarcador) para evaluar efectos a distintos niveles de organización (WHO, 1993; van der Oost et al., 2003). Se entiende como organismo bioindicador aquel que brinda información sobre las

condiciones ambientales de su hábitat, por su presencia o ausencia o por su comportamiento. Por otro lado, se define biomarcador como cualquier respuesta biológica ante una sustancia química a nivel del individuo, ya sea porque es medida dentro del organismo o en sus productos (orina, heces, etc.) (Van Gestel & Van Brummelen, 1996). Dentro de este último concepto, van der Oost et al. (2003) diferencian biomarcadores de exposición, de efecto y de susceptibilidad.

Los **biomarcadores de exposición**, en particular, se refieren a organismos que permiten la medición de una sustancia exógena (o su metabolito) o respuestas dentro del organismo, como ser el producto de una interacción entre un agente xenobiótico y alguna molécula o célula diana. La bioacumulación de plaguicidas, u otros contaminantes persistentes, en los tejidos de ciertos animales podrían considerarse como biomarcadores de exposición (WHO, 1993; van der Oost et al., 2003).

Utilizar organismos como biomarcadores de exposición para monitorear plaguicidas (de ahora en más “biomonitoreo”) permite detectar sustancias que llegan al sistema de forma crónica en muy bajas concentraciones, pero que se van acumulando en la biota a niveles sub-letales. Además, resulta una herramienta eficiente ya que los organismos integran diversas sustancias en sus tejidos, permitiendo monitorear distintos contaminantes al mismo tiempo (van der Oost et al., 2003; Zhou et al., 2008).

Los peces, en particular, son indicadores sensibles de la salud de los ecosistemas acuáticos y de los usos del suelo de la cuenca (Karr, 1981; Zhou et al., 2008), por lo que son utilizados como biomarcadores y bioindicadores de calidad de agua a nivel mundial. Por ejemplo, el “limpia fondo” (*Corydoras paleatus*) y las “mojarra” del género *Astyanax* han sido utilizadas como indicador de toxicidad de insecticidas organofosforados (Sarıkaya et al., 2004; Pistone, 2005), y éstas últimas también se utilizaron en Uruguay para el estudio de mezclas de contaminantes sobre el funcionamiento hepático (Carrasco et al., 2006). Particularmente, estudios recientes en nuestro país encontraron muy frecuentemente plaguicidas e incluso en altas concentraciones, en músculo de peces de interés comercial en el Área Protegida Esteros de Farrapos y los Ríos Negro y Uruguay (Zaldúa et al., 2010, Ernst et al., 2018).

Si se teoriza sobre qué características debería tener un biomarcador de exposición ideal, serían: que pueda acumular altas concentraciones de contaminantes sin morir; que tenga una forma de vida sésil, por lo que represente la contaminación local; que presente grandes abundancias y amplia distribución para muestreos repetidos y comparaciones; de vida larga para comparar entre distintos estadios; con tejidos adecuados para investigaciones a nivel microscópico; de fácil muestreo y fácil crianza en laboratorio; que ocupe una posición alta en la cadena trófica y que sea posible observar una clara relación entre la dosis de contaminante y el efecto (Zhou et al., 2008).

Si bien cumplir con todos estos criterios resulta prácticamente imposible, son características a considerar a la hora de elegir especies modelo para biomonitoreo de plaguicidas. En esta tesis se priorizan las siguientes características: (1) capacidad de bioacumulación del organismo, (2) ser abundantes y estar presente en todo el sistema Laguna del Sauce y si es posible también a nivel país y (3) que pueda acumular en sus tejidos una diversidad de sustancias.

Procesos de biomagnificación y estudio de las tramas tróficas a través de análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno

Los organismos están conectados a través de una compleja red de interacciones tróficas con otros organismos del sistema. Las investigaciones que combinan el estudio de redes tróficas y la distribución de contaminantes datan de largo tiempo. A partir de la publicación del influyente libro de Rachel Carson (1962) “La primavera silenciosa”, el concepto de biomagnificación alcanzó dominio público. Desde ese entonces, muchos estudios han buscado entender la distribución de contaminantes a través de los niveles tróficos, intentando relacionar la posición trófica con la biomagnificación (Clements & Newman, 2002).

En este sentido, se ha observado biomagnificación de contaminantes orgánicos persistentes a lo largo de redes tróficas, donde la concentración de contaminante en los organismos se incrementa a medida que aumenta su posición trófica (Tanabe & Tasukawa, 1992; Lebedev et al., 1998; Borga, et al., 2001, 2007). Por otra parte, otros estudios han observado una relación positiva

entre el largo de cadena trófica y la concentración de contaminantes organoclorados en lagos subárticos (ej. Kidd et al., 1998).

Diversos autores han buscado entender este proceso de biomagnificación de plaguicidas, así como los factores que la afectan. Se ha visto que las características fisicoquímicas de los compuestos, particularmente el valor del coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}), juega un rol importante. El coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}) mide la solubilidad diferencial de un soluto en dos disolventes: n-octanol y agua. El n-octanol es un compuesto orgánico que simula bien el material lipídico de la biota o de sedimentos orgánicos. Este coeficiente se utiliza para simular la afinidad hacia los lípidos de una sustancia disuelta en agua, siendo útil para conocer si una sustancia se comporta como hidrófoba o hidrofílica (Mackay, 2001). En particular, se ha visto que las interacciones tróficas resultan relevantes en la distribución de plaguicidas para compuestos químicos lipofílicos (con altos valores de K_{ow}) (Russell et al., 1999). Además, los hábitos alimenticios de los organismos, el tamaño de los mismos o las características del hábitat también son relevantes en el proceso de biomagnificación (Moriarty & Walker, 1987; Kiffney & Clements, 1993; Kidd et al., 1998; Russell et al., 1999; Clements & Newman, 2002).

Algunos estudios, han utilizado de manera exitosa la aproximación metodológica de caracterizar las redes tróficas mediante técnicas de isótopos estables, combinado con la determinación de contaminantes en los grupos más abundantes de consumidores (Rasmussen et al., 1990; Kiriluk et al., 1995; Kidd et al., 1998; Hobson et al., 2002; Covaci et al., 2006; Coat et al., 2011).

El análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno se ha convertido en una de las principales herramientas para analizar la estructura de las redes tróficas. Los isótopos estables son variantes de un elemento químico que difieren en el número de neutrones, por lo que tienen diferente masa atómica (Soddy, 1913). Los isótopos estables son especialmente útiles porque proporcionan información integrada en el tiempo y el espacio sobre las relaciones tróficas entre organismos y, por lo tanto, pueden utilizarse para representar modelos de estructura trófica (Post, 2002; Layman et al., 2012). Estos análisis, se basan en que la composición isotópica, en cuanto a las relaciones entre diferentes

isótopos estables de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) y de nitrógeno ($^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$) en los tejidos biológicos de los consumidores, reflejan la composición isotópica de sus principales presas (France, 1995 a; Post, 2002; Fry, 2006).

Se denomina “señal isotópica” a la relación entre formas isotópicas pesadas y livianas de un mismo elemento respecto a un estándar de referencia: $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ($\delta^{13}\text{C}$) para carbono y $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ ($\delta^{15}\text{N}$) para el nitrógeno. A partir de la relación entre la señal isotópica en los tejidos de un consumidor y en los tejidos de varias potenciales presas, se puede predecir cuál ha sido su presa más probable a lo largo de un prolongado periodo de tiempo (ej.: de 15 días a 4 meses en el caso de peces, dependiendo de su tasa de crecimiento) (Fry, 2006; Jardine et al., 2014). Estas predicciones se logran mediante el uso de herramientas como los modelos de mezcla isotópica bayesianos que usan ambas señales isotópicas, así como sus variaciones intraespecíficas y su valor de fraccionamiento trófico (obtenido de la literatura), para predecir el sentido y dirección de flujos de energía en las redes tróficas (ej. Parnell et al., 2010; Parnell et al., 2013).

La señal isotópica de carbono varía sustancialmente entre productores primarios con diferentes vías fotosintéticas (por ejemplo, plantas con metabolismo C3 y C4), por lo que suele utilizarse como indicador del origen de la materia orgánica que ingresa al ecosistema (France, 1995 a y b; Post, 2002; Fry, 2006). Además, la señal isotópica de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$), cambia en gran magnitud (2-3.5 ‰) con cada nivel trófico en la red, sirviendo como buen estimador de posición trófica de los organismos (Post, 2002; Fry, 2006; Jardine et al., 2014).

A su vez, se denomina espacio o nicho isotópico al espacio en el gráfico de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$. Éste espacio puede ser utilizado como proxy de alguna de las dimensiones del nicho ecológico de Hutchinson (Hutchinson, 1957), representando, por ejemplo, las posiciones tróficas relativas de los organismos en la red o las principales fuentes de materia orgánica utilizadas (Layman et al., 2012).

Los estudios de redes tróficas a través de isótopos estables de carbono y nitrógeno suelen complementarse con otras fuentes de información como el

análisis de la dieta de los organismos, particularmente el estudio del contenido estomacal (Hyslop, 1980; Esteves & Galetti, 1995). Estos análisis aportan información que complementa la obtenida con las señales isotópicas de carbono y nitrógeno, y es necesaria para utilizar de forma precisa los modelos de mezcla y poder describir adecuadamente la estructura de las tramas tróficas (Phillips et al., 2014).

Laguna del Sauce como modelo de estudio

El sistema Laguna del Sauce ($34^{\circ}43'S$, $55^{\circ}13'W$) está conformado por tres lagunas conectadas: Laguna del Sauce (LS, 4.045 ha), Laguna de los Cisnes (LC, 205 ha) y Laguna del Potrero (LP, 411 ha). Es un sistema subtropical somero (prof. media 2.5 m y máxima 5 m en LS), cuyos principales afluentes son el arroyo Pan de Azúcar y el arroyo del Sauce, siendo el arroyo del Potrero su desagüe natural. Del total de la cuenca, 426 km² corresponden a la cuenca del arroyo Pan de Azúcar que ingresa por la Laguna del Potrero, 112 km² a la del arroyo del Sauce que ingresa en el subsistema Laguna del Sauce y 136 km² a la del arroyo El Potrero (Steffen & Inda, 2010) (Figura 2).

La Laguna del Sauce es el principal reservorio de agua destinado para el suministro de agua potable del Departamento de Maldonado y constituye la segunda fuente de agua potable del país en términos de personas abastecidas (de 140.000 personas en temporada baja a 400.000 personas o más en temporada estival). A su vez, es el único cuerpo de agua del país clasificado como Clase 1 del Decreto 253/79: aguas destinadas o que puedan ser destinadas al abastecimiento de agua potable a poblaciones con tratamiento convencional (Steffen & Inda, 2010).

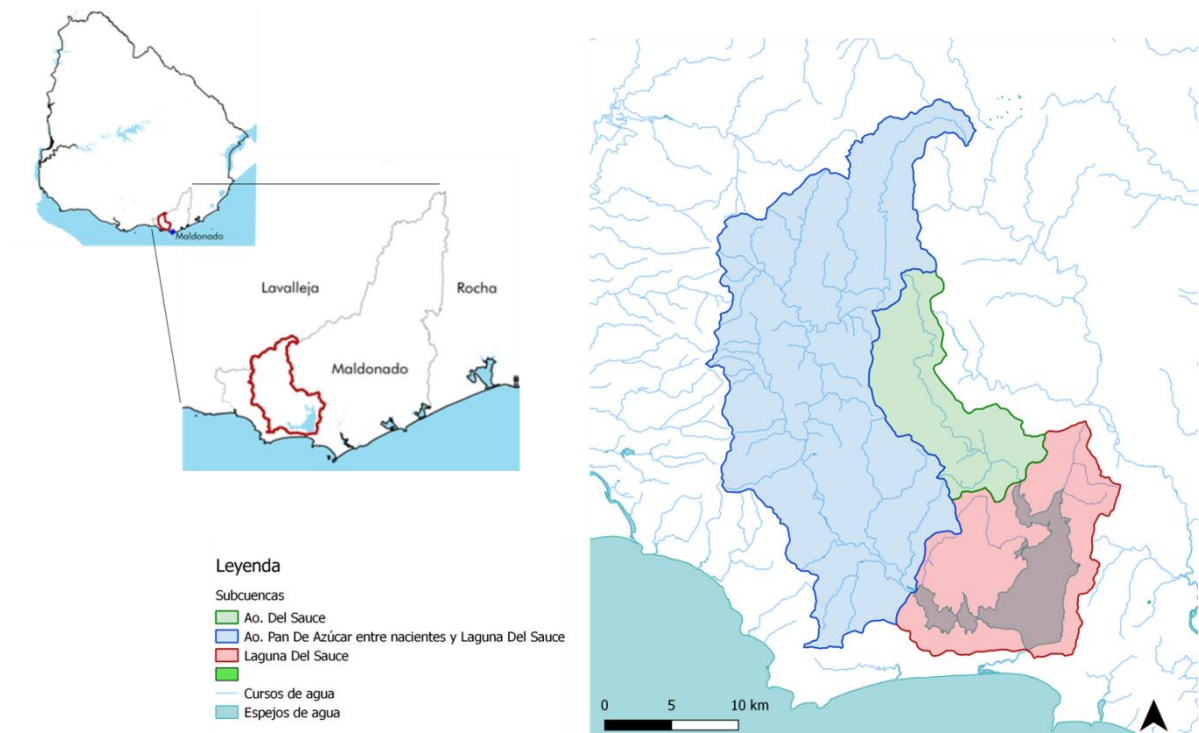


Figura 2. Localización de la cuenca de Laguna del Sauce en relación al país y al Departamento de Maldonado (izquierda). Cuenca de la Laguna del Sauce (derecha) donde se indica la cuenca que drena directamente al cuerpo de la Laguna y las cuencas de los principales afluentes (cuenca del Arroyo del Sauce en verde y cuenca del Arroyo Pan de Azúcar en azul). Tomado y modificado de Taveira et al. (2018).

Éste es un sistema eutrófico con un complejo patrón de respuestas espaciales a la eutrofización (Crisci et al., 2017). En el extremo oeste, el subsistema Laguna del Potrero (LP) presenta un estado de aguas claras y está dominado por la presencia de macrófitas flotantes y sumergidas. Estas últimas, principalmente *Egeria densa* y *Ceratophyllum demersum*, cubren más del 60% del subsistema (González-Madina et al., en prensa).

Por otro lado, en el extremo este, el subsistema Laguna del Sauce (LS) es un sistema turbio, ya sea por resuspensión de sedimento o por fitoplancton, que no presenta macrófitas sumergidas (excepto en la zona litoral, en su mayoría emergentes como *Schoenoplectus californicus*) debido a la acción de las olas y su alta turbidez (Steffen & Inda, 2010; Crisci et al., 2017). Laguna de los Cisnes (LC), la más pequeña, tiene características intermedias, donde la mayor parte del sistema no presenta vegetación sumergida (González-Madina et al., 2017). En estos dos últimos subsistemas (LS y LC), se registran frecuentemente

floraciones de cianobacterias, fundamentalmente en épocas estivales, de diversas especies de los géneros *Aphanizomenon*, *Dolichospermum*, *Aphanocapsa*, *Microcystis*, *Cuspidothrix*, *Raphidiopsis* y *Cylindrospermopsis*, varias de las cuales son potenciales productoras de cianotoxinas (Rodríguez et al., 2010; Crisci et al., 2017; OSE-Instituto SARAS², 2018; González-Madina et al., en prensa).

Las macrófitas son importantes estructuradores de los sistemas acuáticos y tienen un rol importante en el funcionamiento de ecosistemas lénticos (Jeppesen et al., 1998). Su influencia en las comunidades planctónicas, de invertebrados y de peces ha sido ampliamente estudiado (Jeppesen et al., 1998; Mazzeo et al., 2003; Meerhoff et al., 2003, 2007, 2012; Teixeira de Mello et al., 2009, 2016 a; Iglesias et al., 2017), así como también en las características del agua (ej.: estados alternativos de aguas claras y turbias, Scheffer et al., 1993; Scheffer et al., 2003; Kruk et al., 2009). Las macrófitas, favorecen el estado de aguas claras, ya que disminuyen la turbulencia del agua y el impacto del viento en el fondo del sistema acuático, reduciendo la resuspensión y favoreciendo la deposición de partículas orgánicas e inorgánicas (Jeppesen et al., 1998). A su vez, en lagos someros subtropicales en particular, las zonas con plantas sumergidas son las que albergan una mayor riqueza y densidad de especies de peces (Meerhoff et al., 2003, 2007, 2012; Teixeira de Mello et al., 2009).

En Laguna del Sauce, las diferencias marcadas en la presencia de macrófitas, se evidencian también en las principales características limnológicas y fisicoquímicas del sistema (ej.: en turbidez, sólidos en suspensión, pH, entre otros, ver González-Madina et al., 2017 y González-Madina et al., en prensa). Por los motivos anteriormente mencionados, es de esperar diferencias en la estructura de varias comunidades biológicas entre los subsistemas, por ejemplo en el fitoplancton, zooplancton, macroinvertebrados y peces.

Por otra parte, ha sido ampliamente documentado el rol fundamental de las macrófitas y la vegetación riparia en general, en la retención y remoción de contaminantes de los sistemas acuáticos. Esta capacidad se ha demostrado para la remoción de nutrientes (Reddy & Busk 1985; Vymazal et al., 1998; Dellarossa et al., 2001; West et al., 2017), metales pesados (Dhir et al., 2009;

Rahman & Hasegawa, 2011), productos farmacéuticos (Li et al., 2014; Verlicchi & Zambello, 2014) y algunos plaguicidas (Zhang et al., 2014 a; Qu et al. 2017), tanto en humedales artificiales como en sistemas naturales.

Dada la mayor sedimentación que ocurre en los sistemas con macrófitas sumergidas, es de esperar que el subsistema Laguna del Potrero, presente en sus sedimentos un mayor contenido de plaguicidas que se asocian a partículas de materia orgánica (compuestos apolares), en relación a los otros subsistemas. A su vez, la gran presencia de macrófitas sumergidas podría favorecer la remoción de éstos desde el sedimento, dado que se ha visto que especies de macrófitas sumergidas como *Potamogeton crispus* y *Myriophyllum spicatum* promueven la degradación de Atrazina en sedimentos contaminados en lagos en China (Qu et al., 2017). Dentro de la comunidad de macrófitas que dominan el subsistema Laguna del Potrero se encuentran las especies *Egeria densa* y *Ceratophyllum demersum*, y entre las especies menos abundantes se destacan *Myriophyllum aquaticum*, *Potamogeton pusillus*, *Potamogeton illinoensis*, y *Potamogeton gayi* (Mazzeo et al., 2010). Si las macrófitas sumergidas del subsistema Laguna del Potrero tienen la capacidad de remover ciertos plaguicidas del sedimento, es posible entonces que otras comunidades, como el bentos y el necton que habitan este subsistema, estén menos expuestas a esos compuestos, en comparación con los otros subsistemas.

Usos del suelo en la cuenca de la Laguna del Sauce

Desde hace más de una década los países del cono sur presentan importantes transformaciones en su matriz productiva, donde la producción agrícola se orientó fuertemente a la generación de materias primas para exportación (Oyhancabal & Narbondo, 2009). Particularmente en Uruguay, la agricultura se ha intensificado generando cambios importantes en el uso del suelo, que se evidencian fundamentalmente en el aumento de la agricultura de secano y plantaciones forestales, y también en el aumento de las importaciones de fertilizantes y plaguicidas (Anuario estadístico agropecuario, 2012; Atlas de la cobertura del suelo de Uruguay, 2015).

En la cuenca de la Laguna del Sauce, la principal actividad es la ganadería de carne, principalmente como producción extensiva. En cuanto a las actividades que involucran el mayor uso directo de plaguicidas se encuentran la forestación y la agricultura. La principal forestación es de *Eucalyptus sp.*, también existen plantaciones de *Pinus sp.* y bosques de menor escala relacionados con la urbanización. Respecto a la agricultura, la principal actividad son los cultivos de secano, tales como cereales (soja, trigo, maíz y sorgo). Además, existe diversidad de plantaciones de frutales, como vid, olivos, arándanos, etc. (Steffen & Inda, 2010; Levrini, 2018; Taveira et al., 2018) (Tabla 1 y Figura 3). Es posible observar que el área de agricultura es comparativamente menor en relación al área de la cuenca, sin embargo, la mayoría de la agricultura se concentra en las áreas aledañas al cuerpo de agua. Recientemente, Levrini (2018) registró una baja preservación de las zonas riparias en una parte importante de la red de tributarios. Por último, también se destaca que se conserva una buena parte de los humedales por los cuales transitan los principales tributarios antes de su ingreso al cuerpo de agua (Ruta 9 al sur) (Levrini, 2018).

Tabla 1. Valor medio de cobertura del suelo expresada en hectáreas y porcentaje en relación al total de la cuenca, para el año 2015. Modificada de Levrini (2018).

Cobertura del suelo	Hectáreas	% de cuenca
Área desnuda	57.2	5.4
Áreas inundables	11.8	0.7
Área urbana	23.3	3.3
Cultivo regado y de secano	74.1	7.1
Herbáceo natural	903.5	52.6
Plantación forestal	244.8	18.9
Monte nativo	204.1	11.5

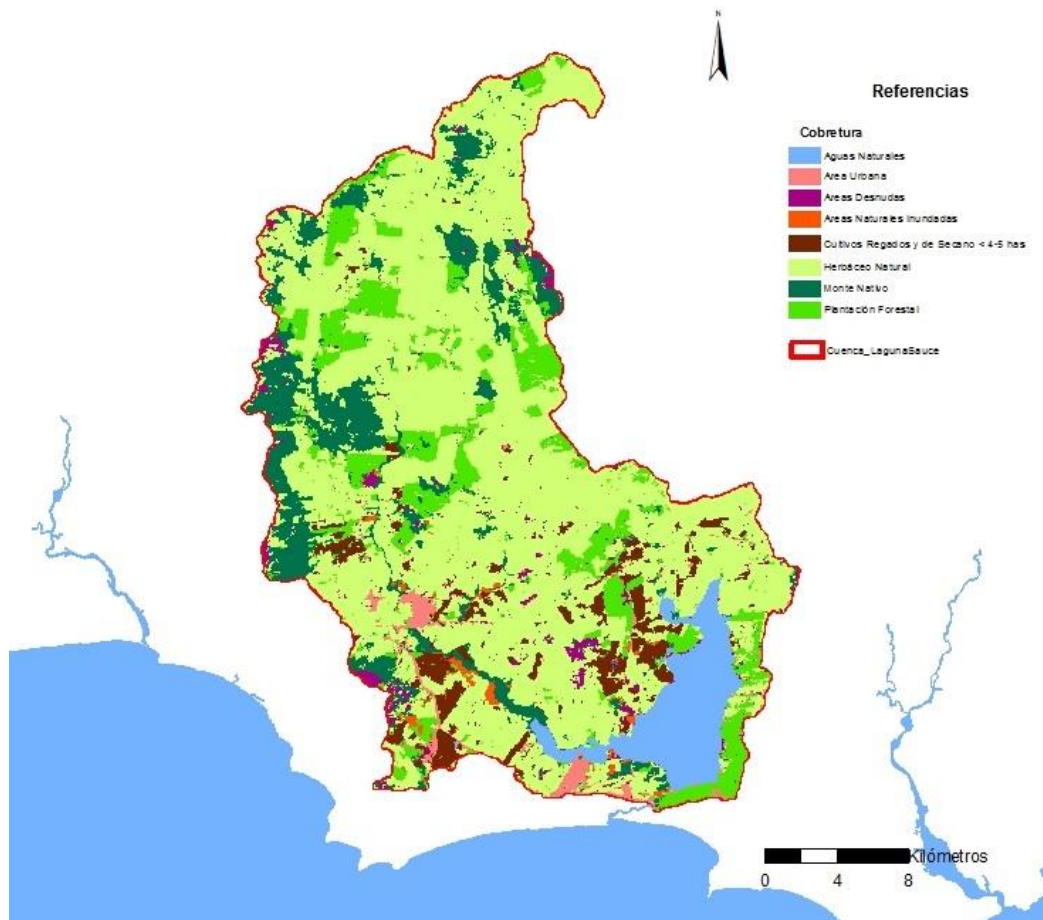


Figura 3. Cobertura del suelo de la cuenca de la Laguna del Sauce para el año 2015. Tomada de Levirini, 2018.

En el sistema Laguna del Sauce se realizan periódicamente monitoreos de la calidad de agua, donde se ha detectado la presencia de clorpirifos, glifosato y AMPA en agua, tanto en el cuerpo de la Laguna como en sus tributarios (OSE-UGD, 2014, 2015). Esta situación representa riesgos de contaminación, del agua y la biota, y poco se conoce sobre los procesos químicos y biológicos que podrían estar interactuando con la llegada de plaguicidas al sistema.

Hipótesis y objetivos

Esta tesis se centra en 2 hipótesis de trabajo que se explicitan a continuación.

Hipótesis 1

Los plaguicidas que llegan al sistema acuático, proveniente de los diferentes usos del suelo en la cuenca, se acumulan tanto en los tejidos de los peces como en los sedimentos del sistema. Las diferentes dinámicas de acumulación, degradación y metabolización presentes entre las diferentes especies de peces y en los sedimentos, sumado a las interacciones tróficas, hacen que los plaguicidas se acumulen de forma diferencial entre las diferentes especies de peces y los sedimentos.

Predicción 1. Los sedimentos acumularán una mayor cantidad de plaguicidas que los peces.

Predicción 2. Los peces detritívoros presentarán una mayor diversidad y concentración de plaguicidas.

Predicción 3. Los peces con mayores posiciones tróficas presentarán una mayor concentración (biomagnificación) de plaguicidas liposolubles.

Hipótesis 2

El gradiente oeste-este existente en la presencia de macrófitas, genera características ambientales diferentes entre los tres subsistemas de la Laguna del Sauce. En Laguna del Potrero, la dominante presencia de macrófitas sumergidas genera una mayor estructura y heterogeneidad ambiental que favorece la coexistencia de diferentes especies de peces. Asimismo, reduce la incidencia del viento, favoreciendo los procesos de decantación de las partículas orgánicas e inorgánicas presentes en la columna de agua, reduciendo el tiempo de exposición de los peces a plaguicidas en agua.

Predicción 1: La comunidad de peces de Laguna del Potrero será más diversa, tanto en número de especies como en interacciones tróficas.

Predicción 2: Los sedimentos en Laguna del Potrero presentarán una mayor presencia y concentración de plaguicidas.

Predicción 3: Los peces capturados en Laguna del Potrero tendrán una menor presencia de plaguicidas en sus tejidos.

Objetivo general

El objetivo de este trabajo es analizar la estructura de la red trófica en el sistema de la Laguna del Sauce y determinar la concentración de plaguicidas en peces y sedimentos, evaluando la existencia de bioacumulación y biomagnificación de plaguicidas en este sistema.

Objetivos específicos

- 1- Caracterizar la estructura de la red trófica del sistema Laguna del Sauce a través del análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno.
- 2- Definir los principales grupos tróficos de peces en el sistema a través del estudio del contenido estomacal de los mismos y del análisis isotópico.
- 3- Determinar el contenido de plaguicidas en peces y sedimentos de la Laguna del Sauce y evaluar su distribución entre los distintos subsistemas.
- 4- Evaluar la relación entre el contenido de plaguicida y posición trófica, grupo trófico, tamaño corporal y contenido lipídico de los peces.
- 5- Seleccionar especies con potencial para biomonitoreo de plaguicidas.

Metodología

La estrategia de trabajo se basa en muestreo en campo y análisis de laboratorio para determinar el contenido de plaguicidas en peces y sedimentos y la estructura trófica del sistema Laguna del Sauce. Se realizó un muestreo puntual en otoño (abril y mayo) del año 2015 donde se muestreó la zona litoral y pelágica de cada subsistema de Laguna del Sauce. Los días 27 y 28 de abril y 12 de mayo, se muestrearon las zonas litorales de Laguna del Sauce, y los días 5, 6 y 12 de mayo se realizaron los muestreos en la zona pelágica de la Laguna utilizando un bote con motor fuera de borda.

En los tres subsistemas que forman Laguna del Sauce, se colectaron en simultáneo dos tipos de muestras: las que se utilizaron para determinar el contenido de plaguicidas y las muestras para describir la estructura trófica de la laguna. El contenido de plaguicidas se analizó en muestras de peces y sedimentos. Por otro lado, para la descripción de la estructura de la trama trófica se realizaron: (1) análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno para la comunidad de cada subsistema y (2) análisis de contenido estomacal de peces para todo el sistema Laguna del Sauce.

1. Obtención de muestras

1.1. Colecta

Los muestreos de las zonas litorales se realizaron en cada uno de los subsistemas: una estación de muestreo en el litoral de Laguna del Potrero (el 27/4/15), una estación de muestreo en el litoral de Laguna de los Cisnes (el 12/5/15) y dos estaciones de muestreo en el subsistema Laguna del Sauce (el 28/4/15 en el litoral sur y el 12/5/15 el litoral norte de Laguna del Sauce).

En las zonas litorales se colectaron muestras de: peces, camarones, bivalvos, sedimento, invertebrados asociados a plantas, piedras y sedimento, fitoplancton, zooplancton, plantas acuáticas y terrestres, algas, perifiton asociado a piedras y macrófitas (principalmente de *Schoenoplectus californicus*) y “debris”. Se denominó “debris” a los restos de hojas y vegetales

(en proceso de descomposición) colectados en el fondo de la laguna en las zonas litorales.

Las muestras de peces y camarones se colectaron con pesca eléctrica y calderín de mano (Fig. 4) dedicando dos horas de muestreo de este componente en cada subsistema. Las muestras de zooplancton se obtuvieron al filtrar a través de una red de plancton de 68 μm aproximadamente 80 litros de agua. Las muestras de fitoplancton se colectaron al filtrar la misma agua por una red de plancton de 20 μm . Las muestras de macroinvertebrados bentónicos se obtuvieron con una red surber de 500 μm en tres sitios por estación de muestreo. Los macroinvertebrados asociados a piedras y plantas se obtuvieron mediante del lavado de las mismas dentro de la red de 500 μm . Los bivalvos se obtuvieron mediante colecta manual, destinando 30 minutos para esta tarea en cada estación de muestreo. El sedimento de las zonas litorales se colectó de manera manual. El resto de las muestras de las zonas litorales (plantas acuáticas y terrestres, algas, perifiton y debris) se obtuvieron mediante colecta manual destinando 15 minutos de colecta para cada uno.



Figura 4. Equipo de pesca eléctrica utilizado para la colecta de peces y camarones en las zonas litorales de la laguna.

Los muestreos en la zona pelágica de la Laguna incluyeron distintas etapas: (1) muestreo de fitoplancton y zooplancton en 3 puntos de cada subsistema, (2) muestreos de la comunidad de peces con redes de enmalle y (3) muestreo de sedimentos y macroinvertebrados asociados.

El muestreo de zooplancton y fitoplancton se realizó en tres puntos elegidos al azar en cada subsistema el 5 y 6 de mayo del 2015. Las muestras de fitoplancton y zooplancton se obtuvieron del mismo modo que para los muestreos de las zonas litorales del sistema (filtrado de aproximadamente 80 litros de agua utilizando redes de plancton de 68 y 20 μm para el zooplancton y fitoplancton, respectivamente).

Los muestreos de la comunidad de peces se realizaron con redes de enmalle e implicaron la participación de 13 personas en total en todo el proceso (pesca, desenmalle, clasificación taxonómica, toma de medidas y peso de los peces). Los mismos se realizaron el 5 y 6 de mayo del 2015. Para éstos, se utilizó un diseño estandarizado con redes de enmalle nórdicas, de 30 m de largo y 1.5 m de altura, que permanecieron caladas durante la noche (12:20 horas en promedio) (Fig. 5). Estas redes con 12 mallas de tamaño diferente permiten capturar un amplio rango de tallas (mallas: 5.0, 6.25, 8.0, 10.0, 12.5, 15.5, 19.5, 24, 29, 35, 43 y 55 mm de entrenudo, cada malla: 2.5 m). Los sitios donde se colocaron las redes fueron seleccionados al azar del total de puntos de una grilla, para cada subsistema de la Laguna. Se colocaron 10 redes en el subsistema del Sauce, 5 redes en Laguna de los Cisnes y 5 redes en Laguna del Potrero. En Laguna del Sauce se calaron 5 redes en el fondo y 5 redes en la superficie de manera de muestrear toda la columna de agua, ya que ésta es la laguna con mayor profundidad (5 m prof. máxima).



Figura 5. Colecta de redes en Laguna del Sauce. Se observa una gran abundancia de *Platanichthys platana* en la malla de 6.25mm de la red.

Por otro lado, el muestreo de sedimentos en la zona pelágica de la laguna y su fauna asociada se realizó el 12 de mayo del 2015. Se colectaron sedimentos de 3 puntos elegidos al azar en cada subsistema. Junto con los sedimentos, se colectaron los invertebrados asociados a éstos, que se utilizaron para análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno, ya que son parte importante de la trama trófica del sistema. Por otra parte, gracias al conocimiento generado previamente por el grupo de investigación, se muestrearon zonas de la Laguna donde se conoce la ocurrencia de determinadas especies de bivalvos (*Limnoperna fluminea*, *Corbícula fluminea* y *Diplodon paralelopipedon*). La colecta de bivalvos se realizó manualmente mediante buceo autónomo, destinando a la colecta 15 minutos por sitio.

1.2. Procesamiento

Los peces fueron clasificados taxonómicamente en base a bibliografía (Teixeira de Mello et al., 2011), luego medidos (largo estándar) y pesados y se tomaron tres tipos de muestras: para plaguicidas, músculo dorso lateral para análisis de isótopos estables y estómagos para estudios de dieta. Las muestras para análisis de plaguicidas e isótopos estables se conservaron en un freezer a -18°C y el estómago y/o intestino se fijó en alcohol 95% para el análisis de su contenido.

Con las muestras para análisis de plaguicidas, en el caso de los peces de gran porte, fueron eviscerados, descamados, y se les quitó la cola y aletas. Para el análisis de contenido de plaguicidas se requieren aproximadamente 100 gramos de músculo, por lo que para las especies de pequeño porte (peces de peso muy inferior a 100 gramos) se agruparon trozos de músculo de varios individuos, generándose muestras integradas de cada zona de muestreo. Para las especies de mayor porte, se tomaron muestras integradas de 5 individuos siempre que fue posible.

2. Caracterización de la red trófica

2.1.1. Preparación de muestras para análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno

La reconstrucción de las redes tróficas se realizó mediante el estudio de la composición de isótopos estables de carbono y nitrógeno en las principales fuentes de materia orgánica (algas, perifiton, macrófitas, plantas terrestres y detrito) y en los tejidos de los principales consumidores en la red trófica (zooplancton, invertebrados y peces), los cuales fueron muestreados simultáneamente a los muestreos para determinación de plaguicidas.

Para esto, se guardaron muestras de músculo de peces de la región dorso lateral. Se guardaron tres réplicas para cada especie de pez por cada subsistema. También se conservaron en freezer a -18°C las muestras colectadas de fitoplancton, perifiton, algas, zooplancton, invertebrados, sedimento, detrito, plantas acuáticas y plantas terrestres (agrupadas según si utilizan la vía metabólica C3 o C4), guardando tres réplicas por componente por subsistema.

Previo a congelarlas, las muestras de fitoplancton y perifiton se filtraron con bomba de vacío utilizando una malla de 20 micras. Se guardaron tres réplicas de seston para Laguna del Sauce, concentrándolas con ayuda de un copo de 20 micras. Coincidiendo con lo reportado (Mazzeo et al., 2010) el zooplancton fue de pequeño tamaño. Para generar la muestra de zooplancton, se concentraron las muestras obtenidas de Laguna de los Cisnes (donde el zooplancton fue más grande y abundante) y bajo lupa binocular y con pinza, los copépodos y cladóceros se colectaron individualmente para generar la muestra a ser analizada.

Entre las fuentes de carbono del sistema, el componente denominado “Algas fijas” incluye las muestras de perifiton provenientes del lavado de piedras y macrófitas (principalmente de *Schoenoplectus californicus*). Otras algas colectadas fueron macroalgas filamentosas y *Nostoc* sp.

Posteriormente, las muestras se secaron en una estufa a 60°C durante 48 hs. Para el caso de especies de peces con alto contenido graso, la muestra se secó por 72hs.

Una vez secas, las muestras se molieron y se pesaron en una balanza de precisión “aydhyr 200” (0.1 mg). Para el caso de los invertebrados y peces el peso de la muestra fue 1 mg. Para las plantas acuáticas y terrestres, perifiton, fitoplancton, algas filamentosas y detrito orgánico las muestras pesaron 4 mg. En el caso del sedimento, cuando tenía mucha materia orgánica se pesó 5 mg y cuando tenía poca materia orgánica 6 mg o más (hasta 15 mg). Las muestras se empaquetaron en cápsulas de estaño de tamaño 6 x 4 mm y 8 x 5 mm en el caso de muestras con mayor volumen. Finalmente, se enviaron a la Universidad de Davis al laboratorio “Stable Isotope Facility” un total de 443 muestras para analizar la señal isotópica de carbono y nitrógeno. Se enviaron a analizar un total de 151 muestras de fuentes de materia orgánica, 137 muestras de consumidores primarios (zooplancton y macroinvertebrados) y 155 muestras de consumidores secundarios (peces).

2.1.2. Análisis de datos de isótopos estables

La estimación de posición trófica (PT) se realizó considerando el valor de $\delta^{15}\text{N}$ en la base de la red (en consumidores primarios) y el cambio en esta señal que ocurre con cada paso trófico en la red (factor de discriminación, $\Delta^{15}\text{N}$), siguiendo la ecuación desarrollada por Post (2002):

$$\text{PT} = [(\delta^{15}\text{N del músculo} - \delta^{15}\text{N de consumidores primarios}) / \Delta^{15}\text{N}] + 2$$

Los consumidores primarios utilizados para esta estimación fueron invertebrados herbívoros, filtradores y raspadores (Post 2002), colectados durante los muestreos, específicamente bivalvos y gasterópodos de cada subsistema.

El factor de discriminación depende del grupo trófico considerado, el tipo de ambiente o el tejido en el que se analizan los isótopos, entre otros factores (Vanderklift & Ponsard 2003, Caut et al. 2009). Por este motivo, es una fuente de incertidumbre a considerar a la hora de estimar la posición trófica de los organismos (Vander Zanden & Rasmussen 2001, Bunn et al. 2013).

En el presente trabajo, se decidió trabajar con un factor de discriminación promedio para toda la comunidad, basado en los factores de discriminación reportados por Bunn et al. (2013). Si bien el mencionado trabajo está enfocado en sistemas lóticos, tiene el valor de considerar varios sistemas diferentes (ríos, arroyos y pozones de agua) en cuatro zonas climáticas. A su vez, se decidió utilizarlo como referencia ya que por el tipo de organismos considerados, presenta características comparables con el sistema de estudio de este trabajo.

En este sentido, se promedió los valores de $\Delta^{15}\text{N}$ reportados en Bunn et al. (2013) para cada nivel trófico, obteniendo un factor de discriminación de 3.04. Dicho valor es coherente con lo reportado en otros estudios para sistemas de agua dulce, incluyendo estudios en lagos (Vander Zanden & Rasmussen 2001, Post 2002, Vanderklift & Ponsard 2003, Caut et al. 2009).

Por otra parte, para calcular el largo de cadena trófica (LCT) se consideró las posiciones tróficas de los organismos con mayor posición trófica de la red. De esta manera, se obtuvo un LCT promedio para cada subsistema, calculado a partir de las posiciones tróficas de los predadores tope. A su vez, se realizaron modelos lineales mixtos (MLM) considerando como efecto aleatorio la identidad de especie, de manera de independizarse de esta variable a la hora de evaluar las diferencias en el LCT entre lagunas.

Se trabajó con los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ originalmente reportados por el Laboratorio donde se realizaron los análisis, salvo para las especies de peces e invertebrados. Para estas especies, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ obtenidos fueron corregidos por su contenido lipídico, utilizando la normalización matemática desarrollada por Post et al. (2007):

$$\delta^{13}\text{C normalizado} = \delta^{13}\text{C no corregido} - 3.32 + 0.99 \times \text{C:N}$$

donde C:N es la masa de C en relación a la masa de N que tiene la muestra.

En este sentido, fue posible también estimar el contenido lipídico de las especies de peces, que se calculó como:

$$\% \text{ lípidos} = -20.54 + 7.24 \times \text{C:N}$$

Con el objetivo de observar el espacio isotópico de la comunidad de Laguna del Sauce y la estructura de toda la red, se realizaron gráficos de los valores promedio con su desvío para los valores $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ para todo el sistema y para cada subsistema. Para poder visualizar mejor estos gráficos, las fuentes de carbono se agruparon por componentes (macrófitas, algas fijas y filamentosas, detrito, etc.), y lo mismo para los invertebrados (en gasterópodos, crustáceos, insectos acuáticos, etc.). Los peces, sin embargo, se graficaron los promedios por especie.

Para los gráficos de valores $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ para todo el sistema y por subsistema no se incluyó las muestras del alga del género *Nostoc* sp. A pesar de que ésta alga fue colectada en los subsistemas Laguna de los Cisnes y del Potrero, no fue incluida en los mencionados gráficos, dado que la señal isotópica obtenida resultó muy empobrecida en nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$ promedio=0.2) y enriquecida en carbono. Por este motivo se decidió no incluirla en los gráficos finales, ya que quedaba por fuera de la red trófica y dificultaba la visualización de los demás resultados. La señal de nitrógeno de *Nostoc* sp. es cercana al cero dado que esta alga vive en simbiosis con una bacteria que le confiere la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (Henriksson, 1951), y es el elemento que se utiliza como estándar para calcular la señal isotópica.

La descripción de la trama trófica referida a los peces de cada subsistema se basó en las métricas propuestas por Layman et al. (2007) y se dibujó en cada caso el polígono, que es la figura geométrica que incluye a todas las especies del espacio isotópico, en un gráfico bidimensional con los valores promedio por especie de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$. Además, para la comunidad de peces de cada laguna, se dibujaron las elipses bayesianas descritas por Jackson et al. (2011). A continuación se describen las métricas comunitarias utilizadas, según Layman et al. (2007):

1. Rango de $\delta^{15}\text{N}$ (NR): distancia entre la especie más enriquecida y más empobrecida en $\delta^{15}\text{N}$. Esta métrica refleja la estructura vertical dentro de una red trófica. No es igual al cálculo de posición trófica

descrita por Post (2002). Por lo general, un mayor NR entre los consumidores sugiere más niveles tróficos.

2. Rango de $\delta^{13}\text{C}$ (CR): distancia entre la especie más enriquecida y más empobrecida en $\delta^{13}\text{C}$. Se esperará un mayor CR en redes tróficas en que hay múltiples recursos basales con distintas señales de $\delta^{13}\text{C}$. Una mayor CR indicaría una mayor diversidad de nicho en la base de la red trófica.

3. Área total (TA): área total del polígono que incluye a todas las especies del espacio isotópico bidimensional de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$. Ésta es una medida del área total de nicho ocupada, por lo tanto su extensión reflejaría la diversidad trófica de la red.

4. Distancia media al centroide (CD): promedio de la distancia euclidiana al centroide para cada especie. El centroide es el valor medio de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ para todas las especies de la red. Ésta es una medida del grado promedio de diversidad trófica dentro de una red. En los casos en que especies con señales isotópicas extremas afectan el TA, esta métrica es un mejor reflejo de la diversidad trófica de la comunidad.

5. Distancia media al vecino más cercano (NND): valor medio de las distancias euclidianas al vecino más cercano en el espacio bidimensional de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$. Esta es una medida de la densidad de las especies en el espacio isotópico. Redes tróficas caracterizadas por una gran proporción de especies con hábitos tróficos similares exhibirían bajos valores de NND (mayor redundancia trófica), comparado con redes donde las especies son más divergentes en términos de nicho trófico.

6. Desviación estándar de la distancia media al vecino más cercano (SDNND): es una medida de qué tan uniforme es la redundancia trófica en el espacio isotópico. Esta métrica está menos influenciada por el tamaño de muestra que el NND. Valores bajos de SDNND indicarían una distribución más pareja de los nichos tróficos.

Para los cálculos de las métricas de Layman et al. (2007) se utilizaron los datos provenientes del muestreo estandarizado realizado con redes nórdicas

multimalla. Esto se realizó para trabajar con datos comparables entre subsistemas y minimizar el efecto de diferentes tamaños de muestra, ya que este tipo de análisis, a diferencia de las elipses, es sensible al tamaño muestral (Jackson et al., 2011).

Por otro lado, también se realizaron gráficos de diagramas de caja y modelos lineales para testear diferencias de $\delta^{13}\text{C}$ entre las distintas fuentes de carbono. Para evaluar estas diferencias se realizaron test ANOVA y, como test a posteriori, test de t de a pares corregidos por Bonferroni.

Todos los análisis fueron realizados en el software libre R (R Core Team, 2014). A su vez, para los cálculos de las métricas bayesianas de Layman et al. (2007), y las elipses bayesianas descritas por Jackson et al. (2011) se utilizó el paquete “siar” (Parnell & Jackson, 2013).

2.2.1. Análisis de contenido estomacal de peces

Como información complementaria a la reconstrucción de redes tróficas mediante isótopos estables, se analizó en el laboratorio la totalidad del contenido estomacal o intestinal (para el caso de especies sin estómago) de los peces, mediante identificación de los ítems presa bajo lupa binocular (Nikon SMZ445). Se determinó la composición taxonómica de los ítems presa al menor nivel taxonómico posible, recurriendo a las claves taxonómicas correspondientes según el caso (Brinkhurst & Marchese, 1989; Merritt & Cummins, 1996; Domínguez & Fernández, 2009; Mugnai et al., 2010).

Para determinar la contribución de cada ítem presa al total de la ingesta, se estimó el volumen relativo (en mm^3) que ocupa cada ítem utilizando una gradilla milimetrada (mm^2), y para el caso de ítems muy grandes se utilizaron probetas de diferentes volúmenes. Esto se realizó teniendo en cuenta el volumen ocupado por cada tipo de presa en relación al contenido total identificable del estómago (Hyslop, 1980; Esteves & Galetti, 1995).

2.2.2. Análisis de datos de contenido estomacal de peces

Para estos análisis se generaron matrices con información de la proporción promedio de cada ítem alimenticio por especie. Con este tipo de datos se

realizaron análisis multivariados de agrupamiento y ordenación. Estos análisis fueron realizados utilizando el software libre “PAST” (Hammer et al., 2001).

Para determinar los principales grupos tróficos presentes en la comunidad de peces, se realizaron análisis de agrupamiento (Cluster) a través del método de Ward, utilizando como medida de distancia la Euclidiana. Asociado a este análisis, se calculó el Coeficiente de Correlación Cofenética (CCC) que es una medida de distorsión y credibilidad. También se realizó el test de “Bootstrap” (con 10000 pseudo-réplicas) como medida de apoyo estadístico a los nodos del Cluster obtenido. A través del análisis de similaridad (ANOSIM) de una vía se evaluó la existencia de diferencias significativas entre los grupos identificados por el análisis de agrupamiento.

3. Análisis del contenido de plaguicidas en peces y sedimentos

3.1. Análisis directo en ambas matrices

Los análisis de contenido de plaguicidas en sedimentos y músculo de peces se realizaron en colaboración con el “Grupo de Análisis de Contaminantes y elementos Traza” -GACT- de la cátedra de Farmacognosia y Productos Naturales de Facultad de Química, UdelaR. Este grupo tiene una vasta experiencia en analizar plaguicidas en diversas matrices como vegetales, frutas, productos naturales de uso farmacéutico (Pérez-Parada et al., 2011), peces (Ernst et al., 2018), entre otras.

Los análisis siguen una estrategia multiresiduo, es decir, analizar en una misma muestra una gran cantidad de compuestos a la vez, siguiendo el método QuEChERS (Anastassiades et al., 2003). El método QuEChERS (del inglés: Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe) es un método químico que permite que los analitos (sustancia o compuesto químico que se desea conocer) se transfieran desde la muestra al solvente de extracción. Las principales ventajas de la extracción de plaguicidas por este método son que se obtiene un alto porcentaje de recuperación de plaguicidas de un amplio rango de polaridad y volatilidad, que permite un alto rendimiento de la muestra, se utiliza un menor volumen de solvente orgánico e insume un menor costo por muestra comparado con otros procedimientos (Andreu & Picó, 2012).

Para el análisis de plaguicidas en músculo de peces se utilizó un método desarrollado por el grupo (Alonso et al., 2016; Ernst et al., 2018), basado en QuEChERS. Los métodos analíticos utilizados fueron: cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa-masa (LC-MS/MS) y cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Además se utilizó la cromatografía de gases con detector de captura de electrones (GC-ECD) para detectar plaguicidas organoclorados. Se analizaron, en músculo de peces, 48 plaguicidas mediante LS-MS/MS, 30 por GC-MS y 20 compuestos mediante GC-ECD (ver anexo, tablas A1, A2 y A3 respectivamente).

Previo a su análisis químico, las muestras de tejido de pez fueron trituradas utilizando una licuadora de acero inoxidable de alta velocidad marca Skymssen. Esto se realiza para homogeneizar la muestra y favorecer el contacto de la misma con el solvente (Acetonitrilo), que es lo que permite extraer los plaguicidas de la muestra.

Por otro lado y previo a su análisis químico, las muestras de sedimento fueron liofilizadas, lo que permite eliminar el agua y comenzar el análisis con todas las muestras en las mismas condiciones. El solvente de extracción utilizado en este caso fue también Acetonitrilo.

Los análisis de plaguicidas en sedimentos se realizaron siguiendo un análisis multiresiduo con el método QuEChERS Original (Anastassiades et al., 2003) adaptado a esta matriz. La lista de analitos a explorar en sedimentos fue de 50 compuestos por LC-MS/MS y de 28 compuestos por GC-MS (ver anexo, tablas A4 y A5 respectivamente).

3.2. Análisis de datos

Para analizar la distribución de plaguicida en la red trófica se testearon relaciones entre posición trófica y grupo trófico contra la presencia de plaguicida para todas las especies de peces en que fue detectado al menos un compuesto. A su vez, para analizar la presencia de plaguicidas en las muestras también se consideraron variables como el contenido lipídico de la especie de pez, su tamaño y la presencia de otro plaguicida en la muestra.

Con el objetivo de comprender patrones generales entre la presencia de plaguicidas en peces y las distintas variables consideradas se realizó un análisis multivariado de ordenación NMDS (non-metric multidimensional scaling). Para esto, se consideró la frecuencia de ocurrencia de plaguicidas detectados por especie de pez, y como variables a evaluar: el grupo trófico, el tamaño (largo estándar), el contenido lipídico y la posición trófica promedio para la especie de pez. Para el análisis NMDS se utilizó como medida de similitud el índice de Jaccard. Además, considerando las presencias/ausencias de todos los plaguicidas detectados en peces, se realizó el análisis de similitud no paramétrico ANOSIM (utilizando el coeficiente de Jaccard), para evaluar diferencias entre las distintas lagunas y los grupos tróficos considerados. Todos los análisis multivariados se realizaron en el software libre "PAST" (Hammer et al., 2001).

La presencia de plaguicidas en las muestras, tanto de peces como sedimentos, fue modelada a través de modelos lineales generalizados (GLM) con distribución binomial. Además, en los peces en particular, se utilizaron modelos lineales generalizados mixtos (GLMM) con distribución binomial para evaluar qué variables explicaban la presencia de plaguicidas. Para esto se utilizó un diseño jerárquico, definiendo como efecto aleatorio la identidad de la especie de pez, considerada dentro de la Laguna donde fue colectada la muestra.

Los distintos modelos desarrollados se seleccionaron según el criterio de información de Akaike, que tiene en cuenta la calidad de ajuste y el número de parámetros considerados en el modelo (Johnson & Omland, 2004). Estos análisis fueron realizados en el software libre R (R Core Team, 2014).

4. Selección de especies de peces con potencial para ser utilizadas como biomarcadores de exposición a plaguicidas

Considerando las 17 especies de peces donde se analizó el contenido de plaguicidas, se evaluó cuáles podrían ser utilizadas como biomarcadores de exposición a los mismos. Para esta selección se siguió el criterio detallado en la introducción, asignando un valor de uno o cero si se cumplía o no con la característica deseada. Finalmente, se seleccionaron aquellos organismos que cumplieran con un mayor número de características. Se buscó, además,

seleccionar especies de niveles tróficos distintos, de manera que representen distintas posiciones dentro la red, y también con distinto contenido lipídico, ya que fue una variable importante a la hora de explicar la presencia de plaguicidas en peces.

Resultados

Los resultados de esta tesis se organizan en 4 secciones.

- La primera trata sobre la caracterización y análisis de la red trófica del sistema Laguna del Sauce a través de datos de isótopos estables de carbono y nitrógeno. Esto se realiza considerando el componente espacial de los tres subsistemas conectados: Laguna del Potrero, Laguna de los Cisnes y Laguna del Sauce.
- La segunda sección describe los grupos tróficos hallados en peces según los análisis de contenido estomacal realizados.
- En la tercera sección se presentan los resultados del análisis de plaguicidas en peces y sedimentos. También la evaluación de bioacumulación y biomagnificación de plaguicidas en peces y la distribución espacial a nivel del sistema de los plaguicidas detectados tanto en peces como en sedimentos.
- En la última sección de resultados se sugiere, basado en los resultados del presente trabajo, qué especies de peces podrían ser más apropiadas para utilizar como biomarcadores de exposición a plaguicidas en el sistema Laguna del Sauce.

1. Caracterización de la red trófica de Laguna del Sauce

En el sistema Laguna del Sauce se identificaron como fuentes de materia orgánica: el fitoplancton, las algas fijas, algas filamentosas, macrófitas, plantas terrestres C3, plantas terrestres C4, el debris (hojarasca del fondo) y el detrito o sedimento. Por otro lado, como grupos de consumidores primarios se identificaron el zooplancton, los bivalvos, crustáceos, anélidos, gasterópodos y los insectos acuáticos. Como consumidores secundarios se identificaron un total de 27 especies de peces: *Astyanax sp.*, *Australoheros facetus*, *Bryconamericus iheringii*, *Cnesterodon decemmaculatus*, *Cheirodon interruptus*, *Characidium rachovii*, *Crenicichla scottii*, *Charax stenopterus*, *Cyphocharax voga*, *Diapoma terofali*, *Gymnogeophagus meridionalis*, *Gymnotus omarorum*, *Gymnogeophagus terrapurpura*, *Hisonotus sp.*,

Hyphessobrycon luetkenii, *Hoplias malabaricus*, *Hyphessobrycon meridionalis*, *Heterocheiroduon yatai*, *Jenynsia multidentata*, *Odonthestes sp.*, *Oligosarcus oligolepis*, *Oligosarcus jenynsii*, *Platanichthys platana*, *Parapimelodus valenciennis*, *Rhamdia quelen*, *Rineloricaria sp.*, *Steindachnerina biornata*. Como predadores tope se identificaron las especies *Oligosarcus jenynsii*, *O. oligolepis*, *Odonthestes sp.*, *Rhamdia quelen* y *Hoplias malabaricus*.

Se observaron importantes diferencias espaciales en la estructura de la trama trófica en función del subsistema muestreado. Estas diferencias se observan en distintas comunidades y se detallan a continuación.

1.1 Estructura trófica y principales fuentes de carbono del sistema

Los gráficos de la señal isotópica de carbono y nitrógeno, permiten analizar la estructura de la trama trófica de toda la comunidad de Laguna del Sauce (Fig. 6) y también de los subsistemas considerados (Figs. 7, 8 y 9). A grandes rasgos, se puede observar que los subsistemas Laguna del Sauce y Laguna de los Cisnes presentan comunidades de peces que ocupan un menor nicho isotópico que el subsistema Laguna del Potrero (Figs. 7, 8 y 9).

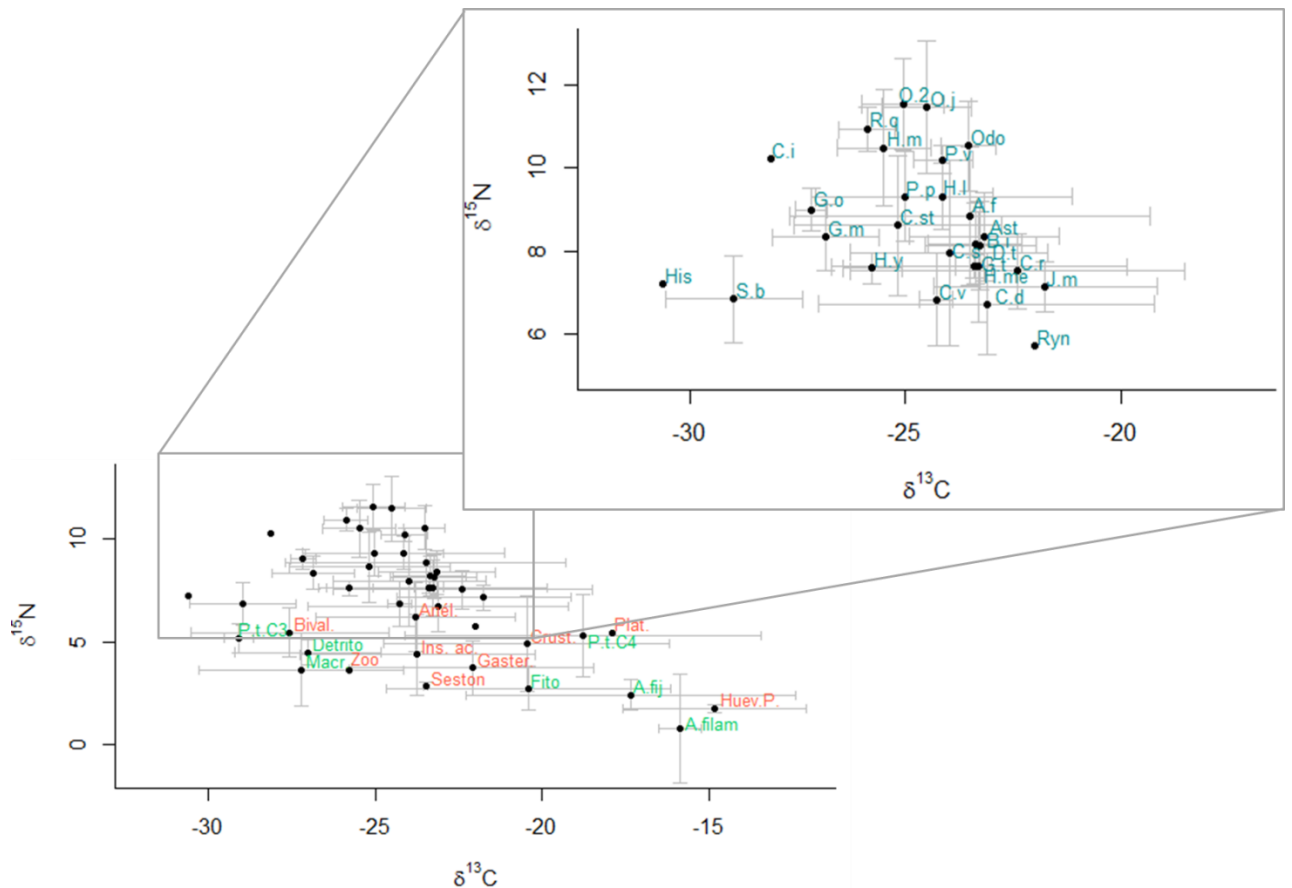


Figura 6. Biplot del valor promedio de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ por especie para **todo el sistema Laguna del Sauce**. En la gráfica inferior, en color verde se observan las fuentes de materia orgánica (A.fij: Algas fijas, A.filam: Algas filamentosas, Detrito: Fitoplancton, Macr.: Macrófitas, P. t.C3.: Plantas terrestres C3, P.t.C4: Plantas terrestres C4, Seston) y en color rojo, los consumidores primarios (Anél.: Anélidos, Bival.: Bivalvos, Crust.: Crustáceos, Gaster.: Gasterópodos, Huevos P.: Huevos de Pomacea, Ins. ac.: Insectos acuáticos, Zoo: Zooplancton). La imagen superior se muestra ampliada, donde se detallan con etiquetas azules las especies de peces: Ast: *Astyanax* sp., A. f.: *Australoheros facetus*, B. i: *Bryconamericus iheringii*, C. d: *Cnesterodon decemmaculatus*, C. i: *Cheirodon interruptus*, C. r: *Characidium rachovii*, C. s: *Crenicichla scottii*, C. st: *Charax stenopterus*, C. v: *Cyphocharax voga*, D. t: *Diapoma terofali*, G. m: *Gymnogeophagus meridionalis*, G. o: *Gymnotus omarorum*, G. t: *Gymnogeophagus terrapurple*, His: *Hisonotus* sp., H. l: *Hyphessobrycon luetkenii*, H. m: *Hoplias malabaricus*, H. me: *Hyphessobrycon meridionalis*, H. y: *Heterocheirodon yatai*, J. m: *Jenynsia multidentata*, Odo: *Odonthestes* sp., O. 2: *Oligosarcus oligolepis*, O. j: *Oligosarcus jenynsii*, P. p: *Platanichthys platana*, P. v: *Parapimelodus valenciennis*, R. q: *Rhamdia quelen*, Ryn: *Rineloricaria* sp., S. b: *Steindachnerina biornata*.

Las principales fuentes de carbono del sistema Laguna del Sauce comprenden a las macrófitas, el detrito, los aportes de las plantas terrestres, el fitoplancton, las algas fijas, y en menor medida, las algas filamentosas (Fig. 6). Sin embargo, resulta necesario observar la estructura de la red trófica de cada subsistema por separado, ya que las fuentes de carbono que sustentan la red trófica son diferentes para cada uno.

En el caso del subsistema Laguna del Sauce, ni el fitoplancton ni las algas fijas y filamentosas parecen ser una fuente importante de carbono para la comunidad de peces. En este caso las principales fuentes de carbono fueron el detrito, las macrófitas y las plantas terrestres C3 (las C4 no parecen estar aportando a la vía consumidora) (Fig. 7). Un patrón similar se observó en Laguna de los Cisnes (Fig. 8). Por otro lado, en Laguna del Potrero, las algas fijas y el fitoplancton se observan en posición central y debajo de la red trófica de los consumidores, por lo que sí representarían una fuente de carbono para el subsistema, junto con los otros componentes como el detrito, las macrófitas y las plantas terrestres. Por esto, es posible notar que las principales fuentes de carbono que sustentan a la comunidad de Laguna del Potrero son más diversas (Fig. 9).

También es importante destacar que la señal isotópica de los predadores tope (peces de gran porte como *Oligosarcus* sp. u *Odonthestes* sp.) se mantuvo similar entre los subsistemas tanto en $\delta^{13}\text{C}$ como en $\delta^{15}\text{N}$ (promedio y desvío estandar de $\delta^{13}\text{C}$ de piscívoros en LP: -25.4 ± 0.96 , LC: -24.5 ± 0.48 y LS: -23.5 ± 1.12 ; promedio y desvío estandar de $\delta^{15}\text{N}$ de piscívoros en LP: 10.9 ± 1.03 , LC: 11.6 ± 1.00 y LS: 10.5 ± 1.61). Es probable que estos organismos se desplacen por todo el sistema, alimentándose en distintas zonas e integrando distintas redes tróficas, que a nivel basal parecen ser más locales (Figs. 7, 8 y 9). Cabe destacar que en el caso de *O. jenynsii* y *Odonthestes* sp., especies que fueron capturadas en los tres subsistemas, si bien no se observaron diferencias en $\delta^{15}\text{N}$ ni entre Laguna de los Cisnes y Laguna del Potrero en $\delta^{13}\text{C}$, ambas especies presentaron en el subsistema Laguna del Sauce firmas isotópicas de carbono más enriquecidas ($F=7.66$, $p=0.01$, $gl=8$ para *Odonthestes* sp. y $F=7.63$, $p<0.05$, $gl=6$ para *O. jenynsii*).

Al observar la señal isotópica de carbono de las principales fuentes de carbono del sistema, se encontró diferencias en la señal de carbono para dos grandes grupos. Por un lado, la señal más empobrecida de carbono fueron las macrófitas, las plantas terrestres, y el detrito (“debris” y sedimento). Por otro lado, las algas (fijas, filamentosas y *Nostoc*), el fitoplancton y plantas terrestres C4 presentaron una señal más enriquecida (Fig. 10). Se recuerda que el

componente denominado “Algas fijas” incluye componentes provenientes de lavado de piedras y macrófitas (para más detalles, ver metodología).

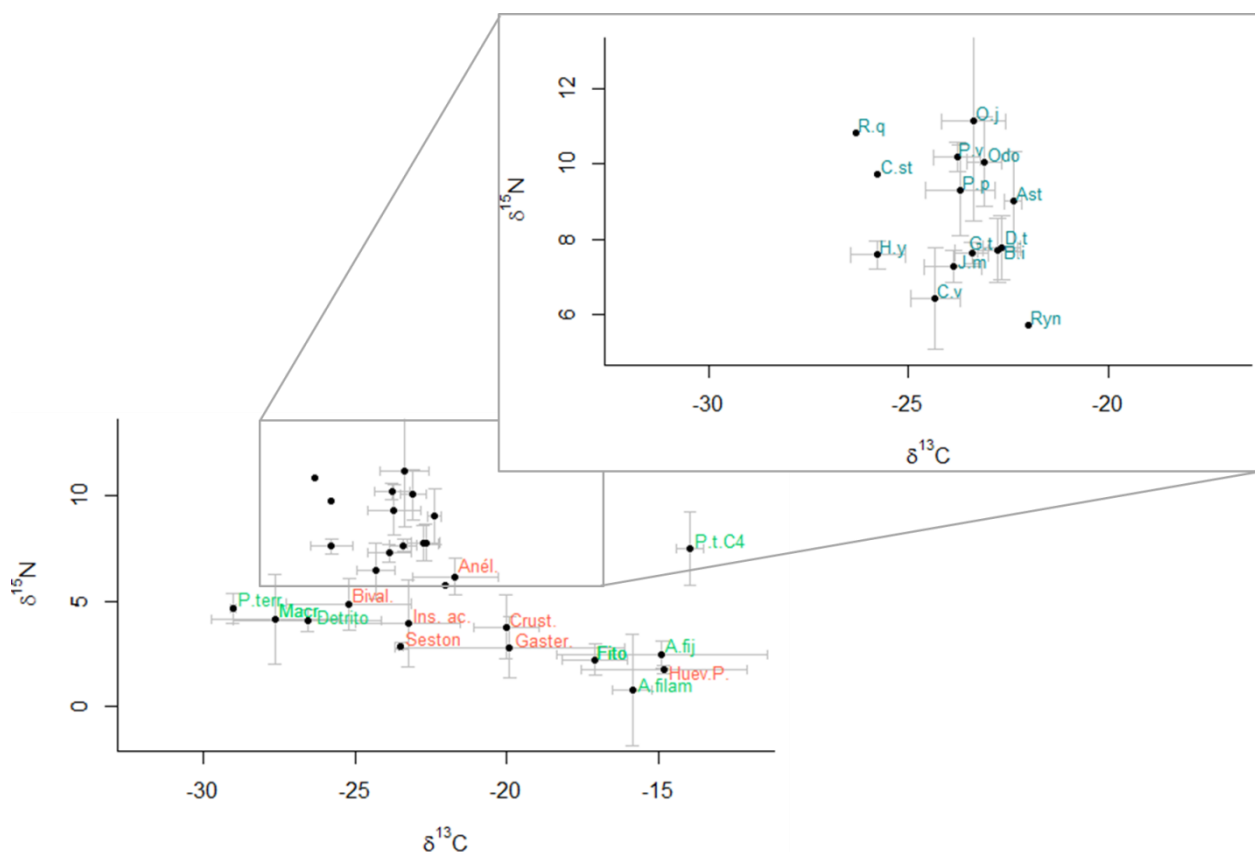


Figura 7. Biplot del valor promedio de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ por especie para **Laguna del Sauce** (subsistema). En la gráfica inferior se observan en verde las fuentes de materia orgánica (A.fij: Algas fijas, A.filam: Algas filamentosas, Detrito, Fito.: Fitoplancton, Macr.: Macrófitas, P. terr.: Plantas terrestres C3, P.t.C4: Plantas terrestres C4, Seston) y en color rojo, los consumidores primarios (Anél.: Anélidos, Bival.: Bivalvos, Crust.: Crustáceos, Gaster.: Gasterópodos, Huevos P.: Huevos de Pomacea, Ins. ac.: Insectos acuáticos). La imagen superior se muestra ampliada, donde se detallan las especies de peces: Ast: *Astyanax* sp., B. i: *Bryconamericus iheringii*, C. st: *Charax stenopterus*, C. v: *Cyphocharax voga*, D. t: *Diapoma terofali*, G. t: *Gymnogeophagus terrapurpure*, H. y: *Heterocheiroidon yatai*, J. m: *Jenynsia multidentata*, Odo: *Odonthestes* sp., O. j: *Oligosarcus jenynsii*, P. p: *Platanichthys platana*, P. v: *Parapimelodus valenciennis*, R. q: *Rhamdia quelen*, Ryn: *Rineloricaria* sp.

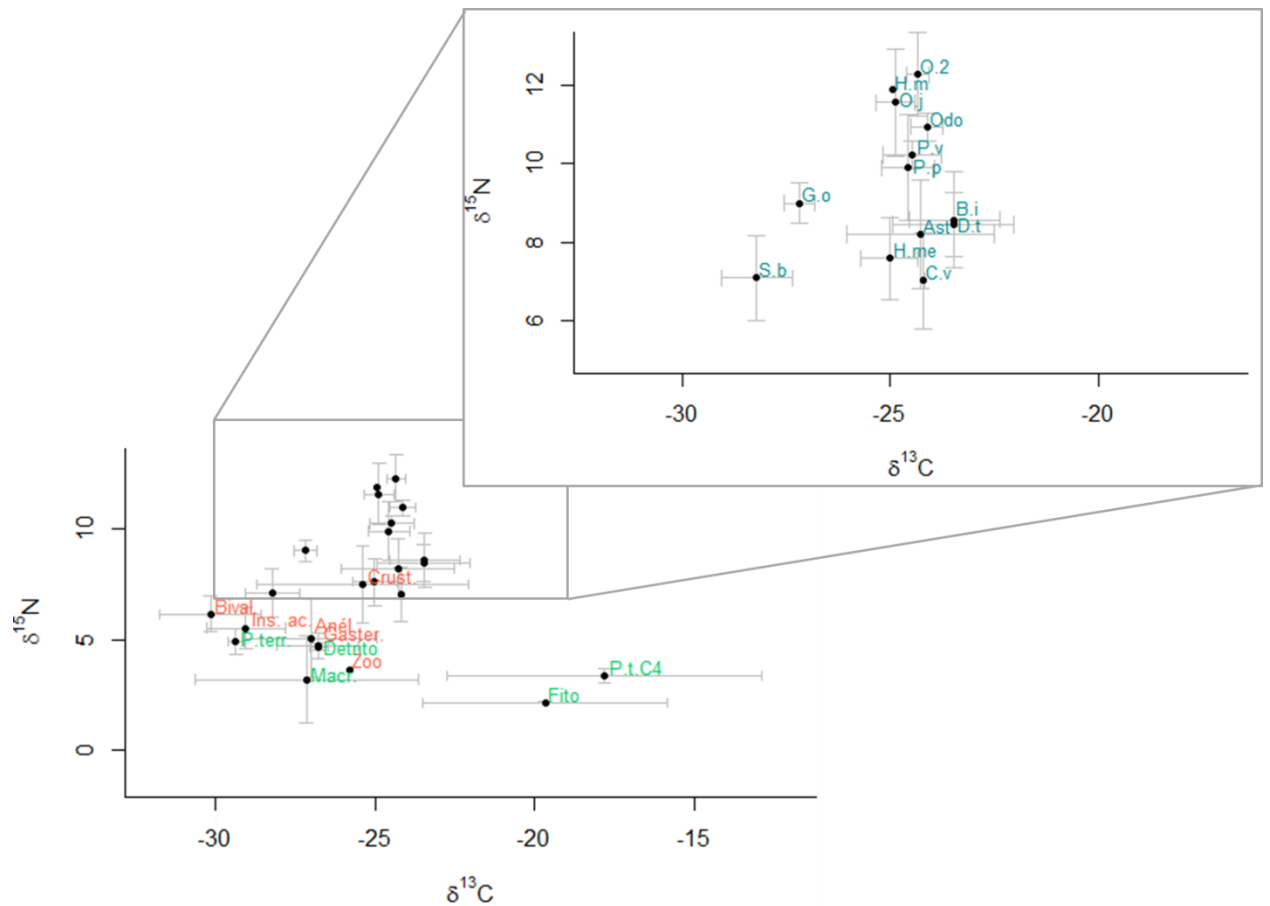


Figura 8. Biplot del valor promedio de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ por especie para **Laguna de los Cisnes** (subsistema). En la gráfica inferior se observan en verde las fuentes de materia orgánica (Detrito, Fito.: Fitoplancton, Macr.: Macrófitas, P. terr.: Plantas terrestres C3, P.t.C4: Plantas terrestres C4) y en color rojo, los consumidores primarios (Anél.: Anélidos, Bival.: Bivalvos, Crust.: Crustáceos, Gaster.: Gasterópodos, Ins. ac.: Insectos acuáticos, Zoo.: Zooplancton). La imagen superior se muestra ampliada, donde se detallan las especies de peces: Ast: *Astyanax* sp., B. i: *Bryconamericus iheringii*, C. v: *Cyphocharax voga*, D. t: *Diapoma terofali*, G. o: *Gymnotus omarorum*, H. m: *Hoplias malabaricus*, H. me: *Hyphessobrycon meridionalis*, Odo: *Odonthestes* sp., O. 2: *Oligosarcus oligolepis*, O. j: *Oligosarcus jenynsii*, P. p: *Platanichthys platana*, P. v: *Parapimelodus valenciennis*, S. b: *Steindachnerina biornata*.

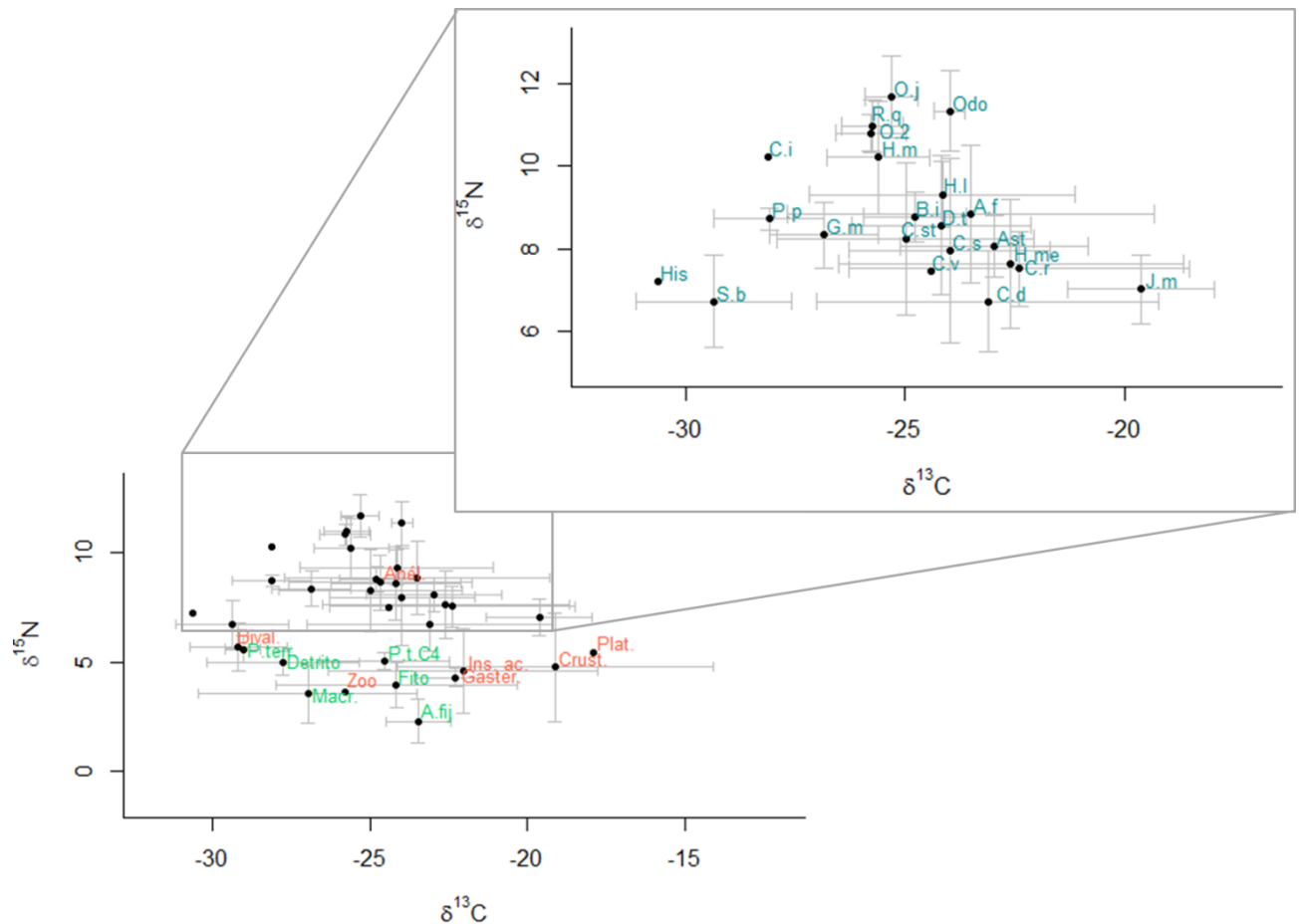


Figura 9. Biplot del valor promedio de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ por especie para **Laguna del Potrero** (subsistema). En la gráfica inferior se observan en verde las fuentes de materia orgánica (A.fij: Algasfijas, Detrito, Fito.: Fitoplancton, Macr.: Macrófitas, P. terr.: Plantas terrestres C3, P.t.C4: Plantas terrestres C4) y en color rojo, los consumidores primarios (Anél.: Anélidos, Bival.: Bivalvos, Crust.: Crustáceos, Gaster.: Gasterópodos, Ins. ac.: Insectos acuáticos, Plat.: Platelminetos, Zoo.: Zooplancton). La imagen superior se muestra ampliada, donde se detallan las especies de peces: Ast: *Astyanax* sp., A. f.: *Australoheros facetus*, B. i: *Bryconamericus iheringii*, C. d: *Cnesterodon decemmaculatus*, C. i: *Cheirodon interruptus*, C. r. *Characidium rachovii*, C. s: *Crenicichla scottii*, C. st: *Charax stenopterus*, C. v: *Cyphocharax voga*, D. t: *Diapoma terofali*, G. m: *Gymnogeophagus meridionalis*, His: *Hisonotus* sp., H. l: *Hyphessobrycon luetkenii*, H. m: *Hoplias malabaricus*, H. me: *Hyphessobrycon meridionalis*, J. m: *Jenynsia multidentata*, Odo: *Odonthestes* sp., O. 2: *Oligosarcus oligolepis*, O. j: *Oligosarcus jenynsii*, P. p: *Platanichthys platana*, R. q: *Rhamdia quelen*, S. b: *Steindachnerina biornata*.

Es destacable que la firma isotópica de carbono tanto para las algas fijas como para el fitoplancton fue significativamente diferente entre los subsistemas Laguna del Sauce y Laguna del Potrero (ver Figura 10 b y d; $F=34.52$, $p<0.001$ y $F=7.65$, $p<0.01$, respectivamente). El subsistema Laguna del Potrero tuvo firmas de carbono más empobrecidas para ambos componentes.

Por otro lado, el componente debrís refiere a los restos de hojas y vegetales colectados en el fondo de la laguna en las zonas litorales. La señal de $\delta^{13}\text{C}$ de

este componente no mostró diferencias con las plantas terrestres ni con las macrófitas, por lo que no se puede diferenciar la procedencia de esos restos vegetales del fondo (Fig. 10).

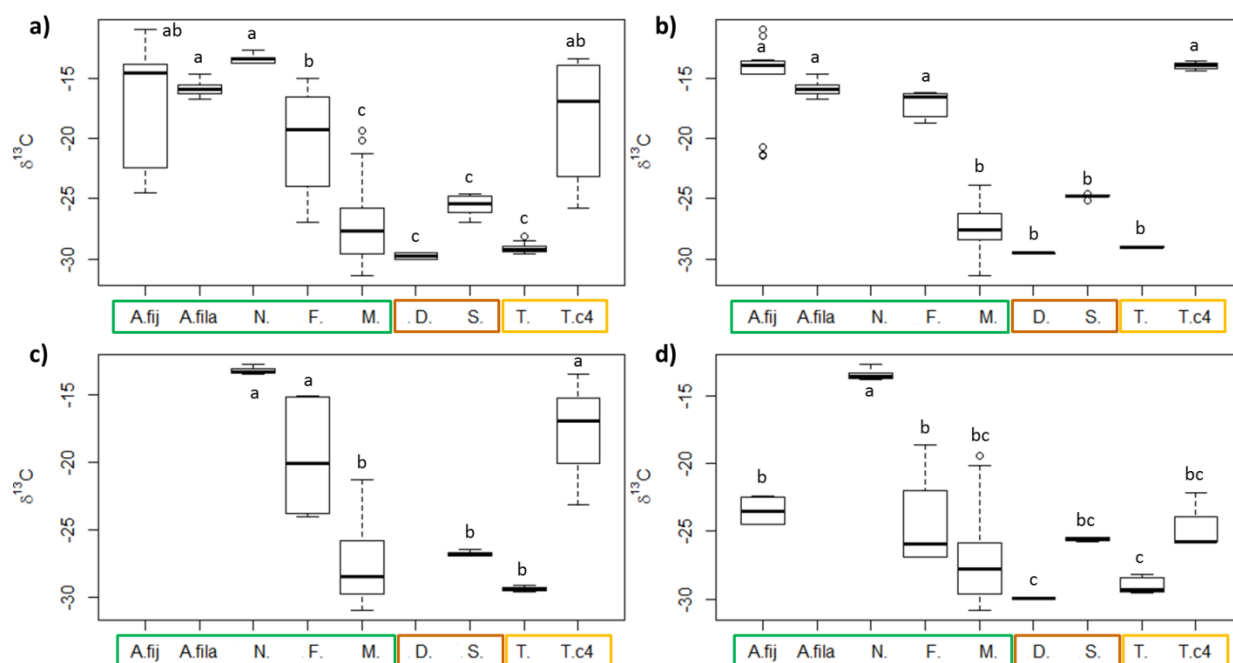


Figura 10. Señal isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) para las distintas fuentes de carbono del sistema: productores primarios y detrito (debris y sedimento). La gráfica **a)** todo el sistema Laguna del Sauce, la **b)** el subsistema Laguna del Sauce, la **c)** el subsistema Laguna de los Cisnes y el **d)** subsistema Laguna del Potrero. Se recuadran en verde los productores primarios acuáticos, en marrón el sedimento y debris (hojarasca en el fondo) y en amarillo los productores primarios alóctonos. Referencias: A.fij: Algas fijas, A.fila: Algas filamentosas, N.: *Nostoc* sp., F.: Fitoplancton, M.: Macrófitas, D.: Debris (hojarasca en el fondo), S.: Sedimento, T.: Plantas terrestres (C3) y T.c4: Plantas terrestres C4. Distintas letras sobre los digramas de caja indican diferencias significativas (ANOVA y test a posteriori de a pares corregido por Bonferroni).

1.2 Comunidad de invertebrados

La estructura de la red trófica de los invertebrados en Laguna de los Cisnes fue diferente a los otros subsistemas (LP y LS). En esta laguna, la comunidad de invertebrados presentó un menor rango de carbono y una menor área de la elipse, reflejando una menor diversidad trófica. Las señales de carbono para esta comunidad fueron más empobrecidas, comparada con las otras dos. Por otro lado, los subsistemas Laguna del Sauce y del Potrero mostraron una

diversidad trófica similar, con firmas de carbono y nitrógeno muy solapadas, y rangos de carbono más amplios en comparación al subsistema Laguna de los Cisnes (Fig. 11).

El valor del área de la elipse Bayesiana estándar para la comunidad de invertebrados de cada laguna fue: 13.74 para Laguna del Sauce, 9.84 para Laguna de los Cisnes y 14.24 para Laguna del Potrero. El valor del área de la elipse Bayesiana estándar corregida por el tamaño de muestra fue 14.47 para Laguna del Sauce, 10.73 para Laguna de los Cisnes y 15.08 para Laguna del Potrero (Fig. 11).

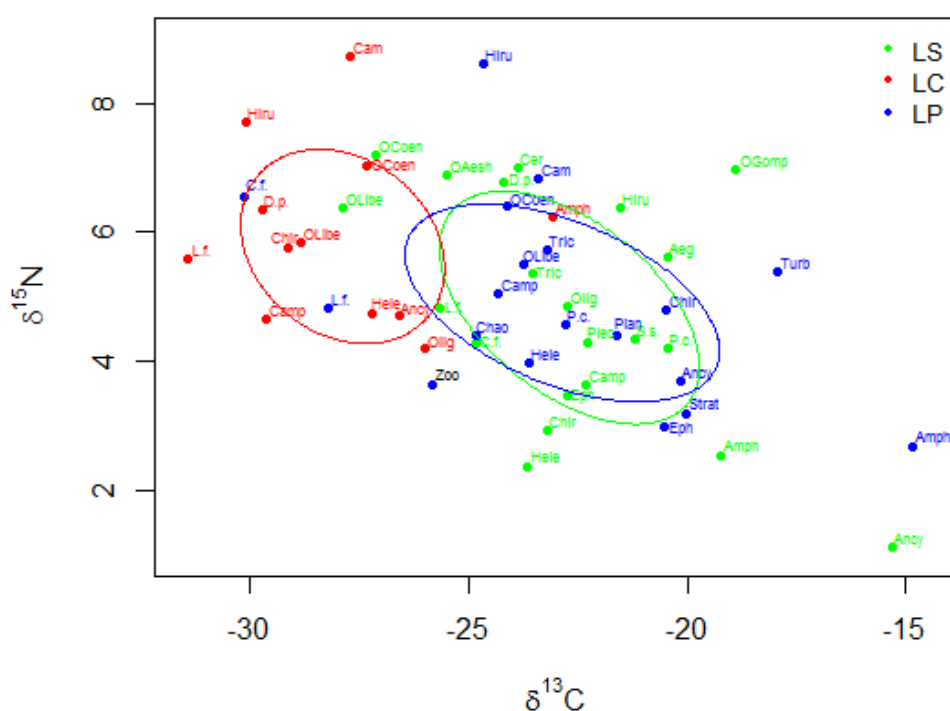


Figura 11. Valores promedio por taxón de invertebrado de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de cada subsistema: LS, Laguna del Sauce (en verde), LC, Laguna de los Cisnes (en rojo), LP, Laguna del Potrero (en azul). Se muestran con líneas sólidas las elipses estándar Bayesianas para la comunidad de invertebrados de cada laguna. Referencias: Aeg: *Aegla* sp., Amph: Amphipoda Hyalidae, Ancy: Ancyliidae, Cam: Camarón *Palaemonetes* sp, Camp: *Campsurus* sp., Cer: Ceratopogonidae, Chao: *Chaoborus* sp., Chir: Chironomidae, C.f.: *Corbicula fluminea*, D.p.: *Diplodon parallelopipedon*, Eph: Ephemeroptera, Hele: *Heleobia* sp., Hiru: Hirudinea, L.f.: *Limnoperna fortunei*, OAesh: Odonato Aeshnidae, OCoen: Odonato Coenagrionidae, OGomp: Odonato Gomphidae, OLibe: Odonato Libellulidae, Olig: Oligochaeta, Plec: Plecoptera, P.c.: *Pomacea canaliculata*, S.s.: *Sinelobus stanfordi*, Tric: Trichoptera, Turb: Turbellaria, Zoo: Zooplancton (de todos los subsistemas).

1.3 Comunidad de peces

Se observaron importantes diferencias entre los subsistemas en relación a la comunidad de peces. El subsistema Laguna del Potrero presentó una mayor riqueza de especies, con varias especies exclusivas, por ejemplo, *Australoheros facetus*, *Characidium rachovii*, *Cheirodon interruptus*, *Crenicichla scottii*, entre otros (Tabla 2).

Tabla 2. Lista de las especies de peces y riqueza específica para cada subsistema: LP: Laguna del Potrero, LC: Laguna de los Cisnes, LS: Laguna del Sauce.

Nombre de la especie	LP	LC	LS
<i>Astyanax sp.</i>	•	•	•
<i>Australoheros facetus</i>	•		
<i>Bryconamericus iheringii</i>	•	•	•
<i>Characidium rachovii</i>	•		
<i>Charax stenopterus</i>	•		•
<i>Cheirodon interruptus</i>	•		
<i>Cnesterodon decemmaculatus</i>	•		
<i>Crenicichla scottii</i>	•		
<i>Cyphocharax voga</i>	•	•	•
<i>Diapoma terofali</i>	•	•	•
<i>Gymnogeophagus meridionalis</i>	•		
<i>Gymnogeophagus terrapurpura</i>			•
<i>Gymnotus omarorum</i>		•	
<i>Heterocheirodon yatai</i>			•
<i>Hisonotus sp.</i>	•		
<i>Hoplias malabaricus</i>	•	•	
<i>Hyphessobrycon luetkenii</i>	•		
<i>Hyphessobrycon meridionalis</i>	•	•	
<i>Jenynsia multidentata</i>	•		•
<i>Odonthestes sp.</i>	•	•	•
<i>Oligosarcus oligolepis</i>	•	•	
<i>Oligosarcus jenynsii</i>	•	•	•
<i>Parapimelodus valenciennis</i>		•	•
<i>Platanichtys platana</i>	•	•	•
<i>Rhamdia quelen</i>	•		•
<i>Rineloricaria</i>			•
<i>Steindachnerina biornata</i>	•	•	
Riqueza de especies de peces	22	13	14

Utilizando las métricas de Layman et al. (2007) se observó que la comunidad de peces de Laguna del Potrero fue la que presentó mayor amplitud de nicho

(TA). Los valores del área total del polígono (TA) fueron: 13.14 para Laguna del Sauce, 13.38 para Laguna de los Cisnes y 27.89 para Laguna del Potrero (Fig. 12). A su vez, la comunidad de peces del subsistema Laguna del Potrero también fue la que presentó una mayor amplitud del rango de carbono (CR), y mayor diversidad trófica (CD) (Fig. 13). Por otro lado, no se observan diferencias entre lagunas para el rango de nitrógeno (NR), ni en cómo están distribuidas en el espacio isotópico las especies (NND y SDNND) (Fig. 13).

En cuanto a las elipses bayesianas, nuevamente, la comunidad de peces de Laguna del Potrero fue la que presentó una mayor diversidad trófica. El valor del área de la elipse Bayesiana estándar para la comunidad de peces de cada laguna fue: 6.503 para Laguna del Sauce, 7.090 para Laguna de los Cisnes y 12.248 para Laguna del Potrero. El valor del área de la elipse Bayesiana estándar corregida por el tamaño de muestra fue 7.225 para Laguna del Sauce, 7.799 para Laguna de los Cisnes y 13.269 para Laguna del Potrero (Fig. 12).

El largo de cadena trófica fue similar entre lagunas, habiendo 4 niveles tróficos en el sistema (GLMM, $p > 0.05$; 3.94 ± 0.10 en LP, 3.89 ± 0.16 en LC y 4.04 ± 0.16 en LS). Este resultado coincide con la similitud observada en el rango de nitrógeno de la comunidad de peces entre subsistemas (Fig. 13).

A su vez, al considerar la posición trófica de cada especie de predador tope, tampoco se detectaron diferencias entre los subsistemas estudiados (*O. jenynsii* $F=0.37$, $p > 0.05$, *Odonthestes* sp. $F=0.98$, $p > 0.05$) (Fig. 14). Esto se muestra únicamente para estas dos especies por ser las únicas de este grupo trófico presentes en las tres lagunas.

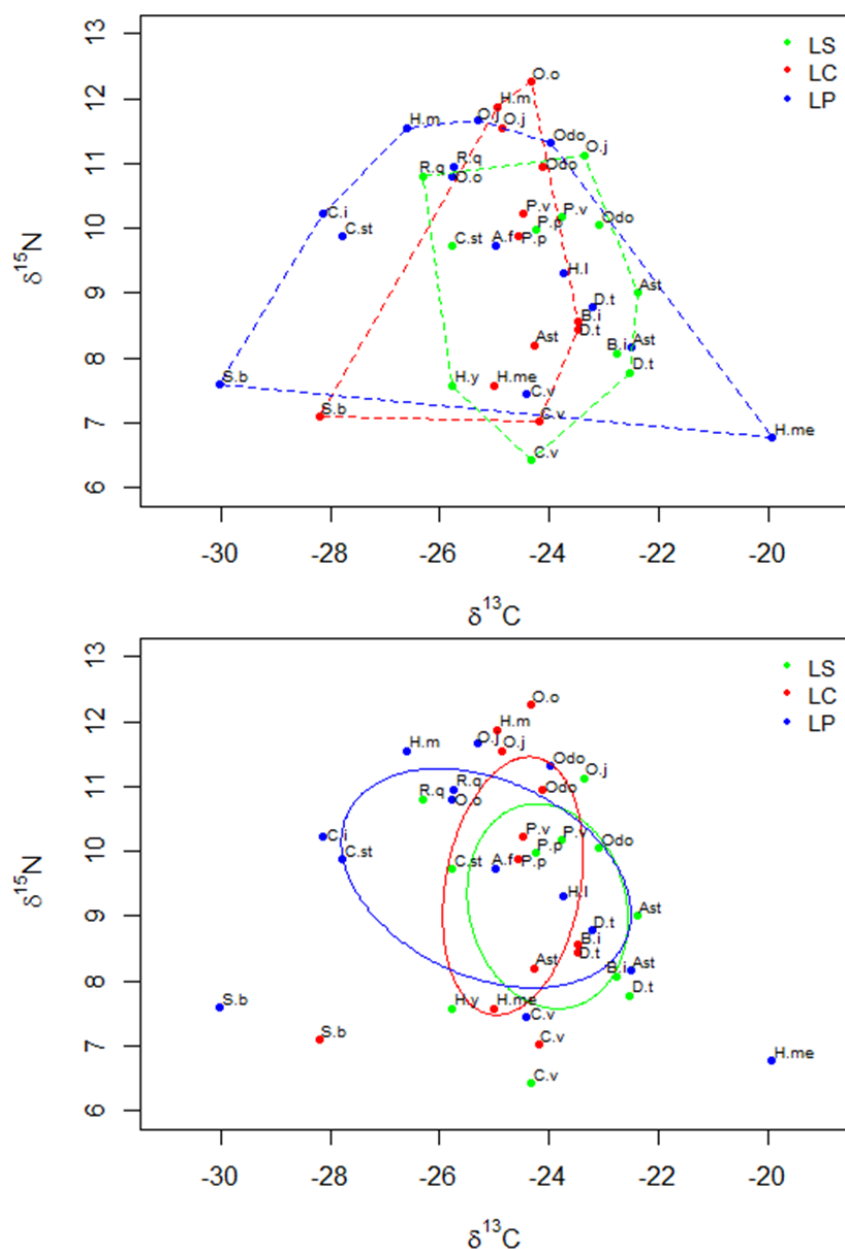


Figura 12. Se observan los valores promedio de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ por especie de pez (muestreadas con redes nórdicas) de cada subsistema: LS, Laguna del Sauce (en verde), LC, Laguna de los Cisnes (en rojo), LP, Laguna del Potrero (en azul). En la gráfica superior se indica con líneas punteadas los polígonos correspondientes a la comunidad de peces para cada laguna. En la gráfica inferior se muestran con líneas sólidas las elipses estándar Bayesianas para la comunidad de peces de cada laguna. Referencias: Ast: *Astyanax* sp., A. f.: *Australoheros facetus*, B. i: *Bryconamericus iheringii*, C. i: *Cheirodon interruptus*, C. st: *Charax stenopterus*, C. v: *Cyphocharax voga*, D. t: *Diapoma terofali*, H. l: *Hyphessobrycon luetkenii*, H. m: *Hoplias malabaricus*, H. me: *Hyphessobrycon meridionalis*, H. y: *Heterocheirodon yatai*, Odo: *Odonthestes* sp., O. o: *Oligosarcus oligolepis*, O. j: *Oligosarcus jenynsii*, P. p: *Platanichthys platana*, P. v: *Parapimelodus valenciennis*, R. q: *Rhamdia quelen*, S. b: *Steindachnerina biornata*.

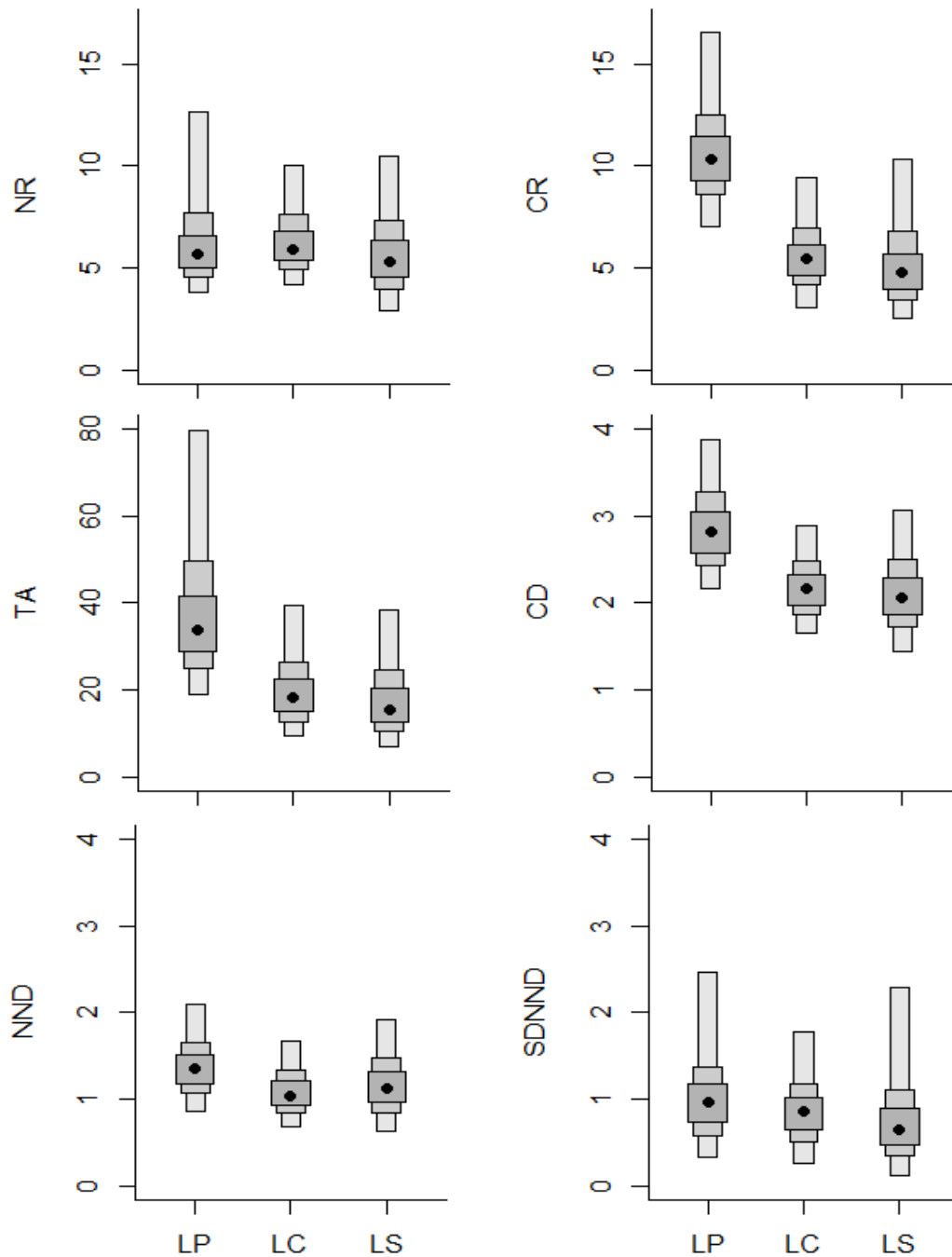


Figura 13. Métricas comunitarias (Layman et al., 2007) para la comunidad de peces capturada con redes (muestreo estandarizado) de cada laguna: LP: Laguna del Potrero, LC, Laguna de los Cisnes y LS, Laguna del Sauce. Las dos gráficas superiores muestran el rango de nitrógeno (NR) y rango de carbono (CR). Las gráficas del medio, el área total del polígono (TA) y la distancia media al centroide (CD). Las gráficas de abajo, la distancia media al vecino más cercano (NND) y el desvío estándar de la distancia al vecino más cercano (SDNND). En todos los casos, se muestra el rango de los valores Bayesianos, marcándose con un punto el valor con mayor probabilidad bayesiana.

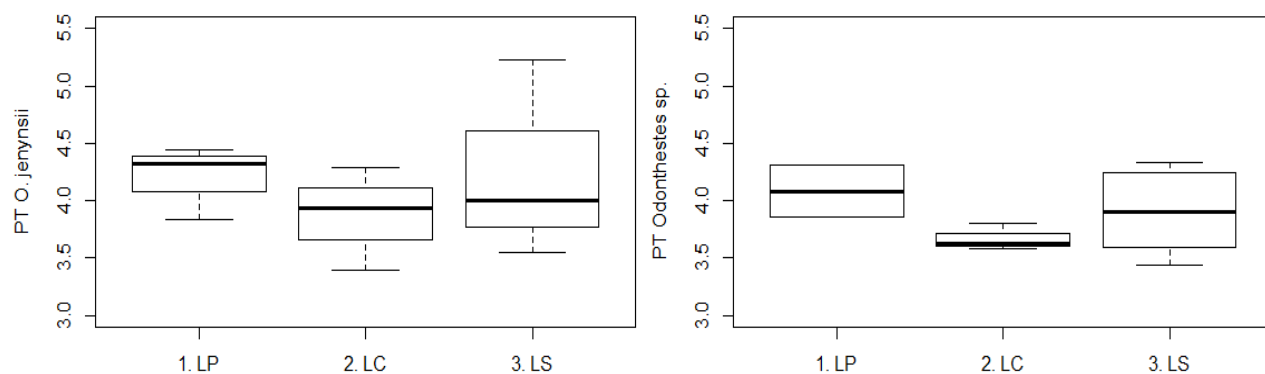


Figura 14. Posición trófica del dientudo *Oligosarcus jenynsii* (izquierda) y del pejerrey *Odonthestes* sp. (derecha) entre lagunas: LS, Laguna del Sauce, LC, Laguna de los Cisnes y LP, Laguna del Potrero.

A modo de resumen de la primera sección de resultados, se observaron importantes diferencias a distintos niveles en la estructura de la comunidad de peces de Laguna del Sauce en función del subsistema muestreado. Laguna del Potrero presentó diferencias marcadas con las otras dos Lagunas, siendo la comunidad con mayor riqueza de especies, mayor amplitud en la utilización de las fuentes de carbono y mayor diversidad trófica (Fig. 15).

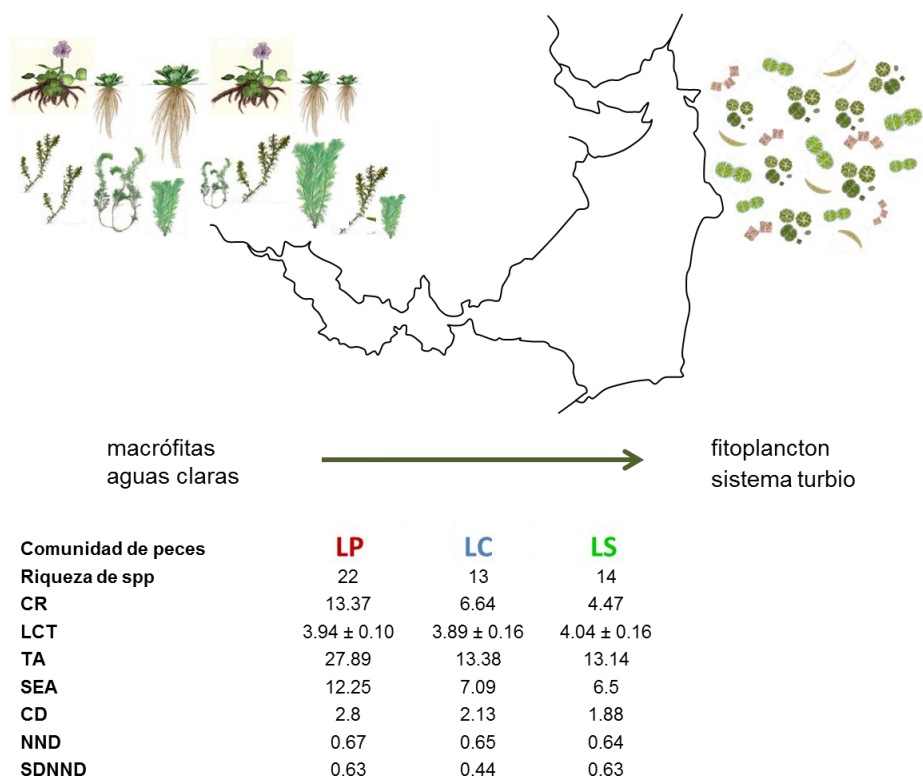


Figura 15. Resumen de los resultados de la comunidad de peces de Laguna del Sauce vinculados con la estructura espacial del sistema. Subsistemas: LS, Laguna del Sauce, LC,

Laguna de los Cisnes y LP, Laguna del Potrero. Se muestra para cada subsistema, la riqueza de especies de peces, el largo de cadena trófica (LCT) y los valores de la métrica de Layman et al. (2007) para cada subsistema: rango de carbono (CR), área total del polígono (TA), distancia media al centroide (CD), distancia media al vecino más cercano (NND) y desvío estándar de la distancia al vecino más cercano (SDNND). También se incluyó el valor de la elipse bayesiana estándar (SEA).

2. Análisis de contenido estomacal y descripción de grupos tróficos en peces

Se identificaron cuatro grupos tróficos diferentes en la comunidad de peces de Laguna del Sauce, a través del análisis de agrupamiento, realizado con los datos de contenido estomacal (Fig. 16). Estos grupos fueron significativamente diferentes considerando la proporción de presas promedio de sus estómagos (test ANOSIM, comparación de a pares corregida por Bonferroni, $p \leq 0.05$ para todas las comparaciones). El análisis de agrupamiento presentó un coeficiente de correlación co-fenética de 0.65, que se consideró aceptable.

De los cuatro grupos identificados en el análisis de agrupamiento, el de los “piscívoros” quedó definido y separado del resto de las especies como el más diferente (ver Fig. 16). En consecuencia, se definió como piscívoros a las especies: *Odonthestes* sp., *Oligosarcus jenynsii*, *Oligosarcus oligolepis*, *Hoplias malabaricus* y *Rhamdia quelen*. Cabe destacar que la dieta de estos organismos incluye, además de peces, insectos acuáticos, crustáceos y bivalvos. Sin embargo, se decidió llamarlos “piscívoros” porque los peces son el ítem que consumen en mayor proporción.

Un segundo grupo quedó conformado por las especies *Cnesterodon decemmaculatus*, *Hisonotus* sp., *Heterocheirodon yatai*, *Cyphocharax voga* y *Steindachnerina biornata* (Fig. 16). Este grupo se denominó detritívoro, ya que son animales que se alimentan principalmente de materia orgánica del fondo, larvas de insectos asociados como *Chironomidae*, y también diatomeas y algas que forman parte del perifiton.

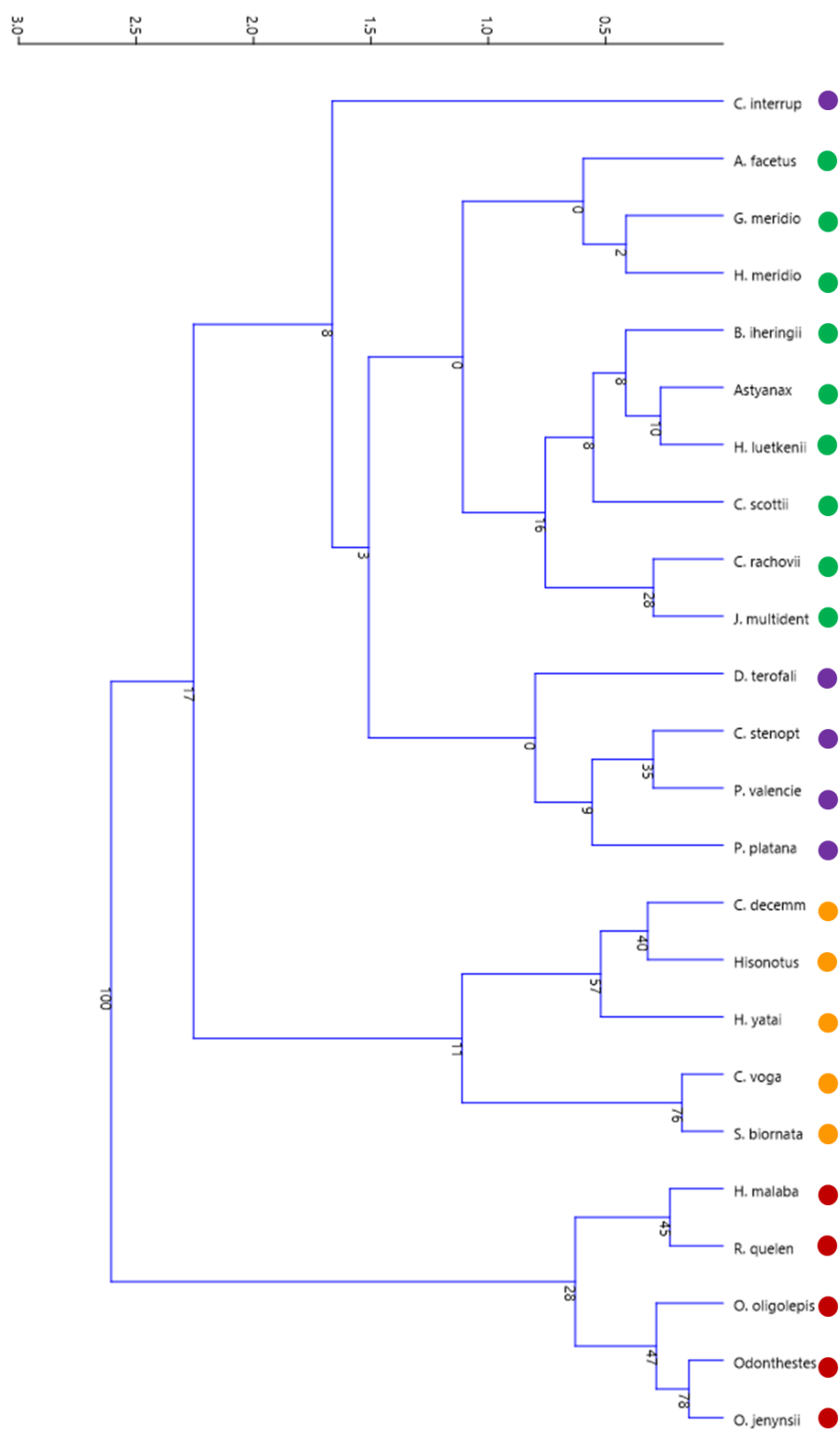


Figura 16. Análisis de agrupamiento realizado a partir de los datos de contenido estomacal por especie de pez. Se marcan los 4 grupos obtenidos con diferentes colores (rojo: piscívoros, naranja: detritívoros, violeta: invertívoros y verde: omnívoros) y para cada nodo, su apoyo estadístico según el test “Bootstrap” con 10000 pseudoréplicas. Para el análisis se utilizó el método de Ward y distancia euclidiana. El coeficiente de correlación cofenética fue 0.65 y se consideró aceptable.

El tercer grupo quedó conformado por *Cheirodon interruptus*, *Diapoma terofali*, *Charax stenopterus*, *Parapimelodus valenciennis* y *Platanichthys platana* (Fig. 16). A este grupo se lo denominó invertívoros. A través de la observación de los contenidos estomacales, se determinó que estos peces se alimentan en toda la columna de agua. Entre los invertebrados que consumen se destacan cladóceros, ostrácodos y otros integrantes del zooplancton, dípteros adultos, larvas de Ephemeroptera, larvas de *Chaoborus* sp. y *Chironomidae*. Aunque, en menor proporción, consumen también macrófitas o fitoplancton.

El cuarto grupo estuvo conformado por *Australoheros facetus*, *Gymnogeophagus meridionalis*, *Hyphessobrycon meridionalis*, *Bryconamericus iheringii*, *Astyanax* sp., *Hyphessobrycon luetkenii*, *Crenicichla scottii*, *Characidium rachovii* y *Jenynsia multidentata* (Fig. 16). Este grupo se tituló omnívoro. Se observó que estos peces se alimentan integrando la columna de agua y el bentos. Consumen invertebrados como larvas de Ephemeroptera y *Chironomidae*, gasterópodos, pupas y adultos de dípteros, zooplancton, entre otros. Además, consumen material vegetal como macrófitas, algas y diatomeas, y también detrito orgánico.

3. Evaluación del contenido de plaguicidas en sedimentos y peces

3.1 Análisis del contenido de plaguicidas en sedimentos

Se detectó la presencia de plaguicidas en todas las muestras de sedimentos analizadas (12). Se detectaron 7 plaguicidas distintos en las muestras, todos por encima del límite de detección y debajo del límite de cuantificación de las técnicas analíticas utilizadas (LC-MS/MS y GC-MS) (ver anexo, tablas A4 y A5), lo que indica que es posible utilizar estos resultados solamente a nivel cualitativo (presencia/ausencia).

En esta matriz, se encontró hasta 6 compuestos distintos en una misma muestra. El Metolaclo ro fue el plaguicida encontrado en todas las muestras de sedimentos, seguido del Pirimifos metil que se encontró en 9 de las 12 muestras analizadas. El Metolaclo ro, Pirimifos metil, Trifloxistrobin y la Atrazina (este último fue el compuesto más frecuentemente encontrado en músculo de

peces) fueron detectados en muestras de sedimento de todos los subsistemas estudiados (Fig. 17).

No se observaron diferencias en la presencia de plaguicidas entre los subsistemas (ANOSIM $R=0.07$, $p>0.05$). Laguna del Potrero fue el subsistema donde se detectó una mayor diversidad de plaguicidas en sedimentos (6), siendo el único sistema donde se detectó Azoxistrobin y Hexitiazox. Por otro lado, Laguna de los Cisnes, fue el único sistema donde se detectó la presencia de Metalaxil en sedimentos, compuesto frecuentemente detectado en peces.

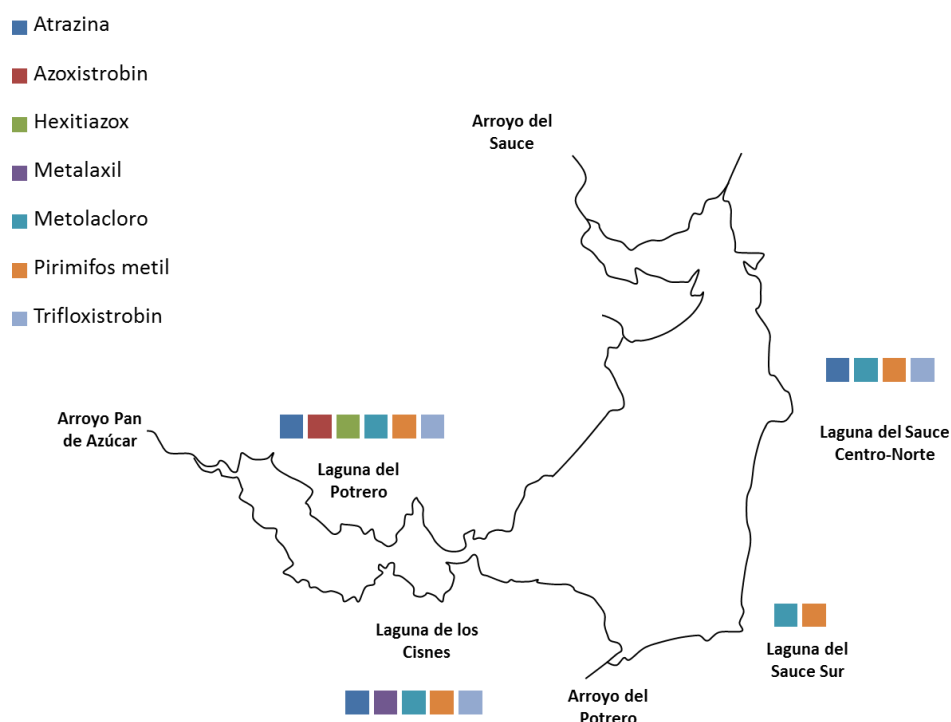


Figura 17. Plaguicidas detectados en las muestras de sedimento en las distintas zonas del sistema Laguna del Sauce. Todos los plaguicidas presentaron valores por debajo del límite de cuantificación (LOQ) de la técnica (extracción QuEChERS, adaptada a la matriz sedimentos y GC-MS y LC-MS/MS). Por esto, se reporta la presencia de plaguicidas en los sistemas, pero no es posible la cuantificación.

3.2 Análisis del contenido de plaguicidas en peces

Del total de 57 muestras analizadas, se detectó la presencia del plaguicida Atrazina en 21 muestras, de Metalaxil en 15 muestras, y la presencia de Piraclostrobin y Espiroxamina en dos y una muestra respectivamente (Tabla 3).

Se confirmó la presencia de estos plaguicidas en peces, ya que todos los resultados se encuentran por encima del Límite de Detección de la técnica analítica (detectados con LC-MS/MS). Sin embargo, no fue posible determinar la concentración de plaguicidas, ya que en todos los casos los valores se encuentran por debajo del Límite de Cuantificación de la técnica (ver anexo, tabla A1).

Tabla 3. Número de muestras en las que se detectó plaguicidas en peces, discriminado por especie, laguna y qué compuesto se detectó. Además, se detalla el número de muestras analizadas en cada caso y el número de muestras total.

Especie	Laguna	Analizadas	Plaguicidas detectados en peces			
			Atrazina	Metalaxil	Piraclostrobin	Espiroxamina
<i>Astyanax sp.</i>	Potrero	1				
	Cisne	2		1		
	Sauce	2	1			
<i>Australoheros facetus</i>	Potrero	2		1		
<i>Bryconamericus iheringii</i>	Cisne	2	2			
	Sauce	1	1			
<i>Cyphocharax voga</i>	Potrero	1	1			
	Cisne	2	2	1		1
	Sauce	2	2			
<i>Characidium rachovii</i>	Potrero	1				
<i>Charax stenopterus</i>	Potrero	1		1		
<i>Diapoma terofali</i>	Potrero	1				
	Cisne	1	1			
	Sauce	2	2			
<i>Gymnotus omarorum</i>	Cisne	1				
<i>Hoplias malabaricus</i>	Potrero	4		2		
	Cisne	2		1		
<i>Hyphessobrycon meridionalis</i>	Potrero	1				
<i>Odonthestes sp.</i>	Potrero	2		1	1	
	Cisne	2		2		
	Sauce	2				
<i>Oligosarcus oligolepis</i>	Potrero	1		1		
	Cisne	2				
<i>Oligosarcus jenynsii</i>	Potrero	1				
	Cisne	2				
	Sauce	2	1	1		
<i>Parapimelodus valenciensis</i>	Cisne	2	2			
	Sauce	2	2	1		
<i>Platanichtys platana</i>	Cisne	1				
	Sauce	4	3		1	
<i>Rhamdia quelen</i>	Potrero	2		1		
	Sauce	1	1			

<i>Steindachnerina biornata</i>	Potrero	1				
	Cisne	1		1		
Número de muestras		57	21	15	2	1

No se detectó ningún plaguicida en las muestras de peces mediante GC-ECD. Esta técnica se utiliza para detectar plaguicidas organoclorados que en particular tienen muy baja sensibilidad a los espectrómetros de masa (como LC-MS y GC-MS), pero es una técnica cada vez menos utilizada por su baja selectividad (SANTE, 2015). A través de este análisis es posible asegurar ausencia de plaguicidas. Sin embargo, cuando se detecta una señal, no es posible asegurar que sea debido a ese compuesto, por lo que no se puede asegurar presencia, y para hacerlo se lo debe confirmar mediante alguna otra técnica (con espectrómetro de masa) y que los resultados sean congruentes.

En los resultados que se presentan a continuación, se trabajó con las especies de peces donde se detectó, al menos, un plaguicida.

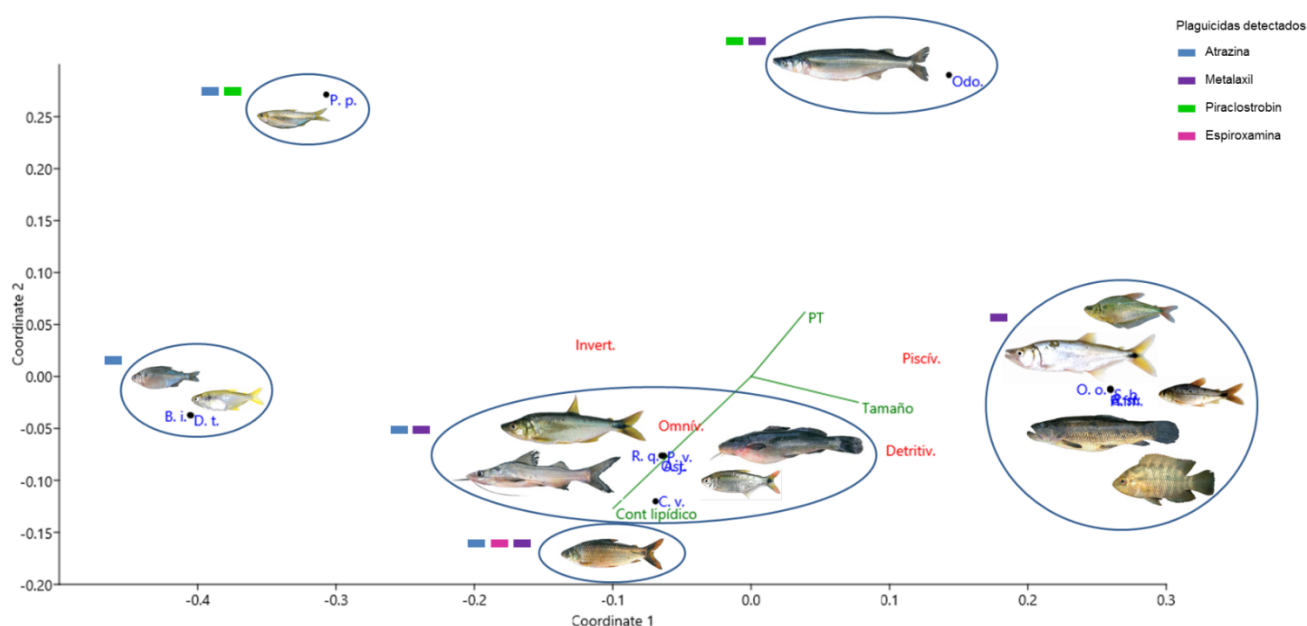


Figura 18. Análisis multivariado de ordenación (NMDS) considerando la frecuencia de ocurrencia de los compuestos Atrazina, Metalaxil, Piraclostrobin y Espiroxamina por especie de pez. En rojo se muestra la distribución, según el análisis, del grupo trófico y en verde las variables: posición trófica (PT), contenido lipídico y tamaño para la especie de pez (en todos los casos valor promedio por especie). Como medida de similitud se utilizó el índice de Jaccard. Referencia para las especies de peces en sentido anti-horario: P. p: *Platanichthys platana*, B. i: *Bryconamericus iheringii*, D. t: *Diapoma terofali*, O. j: *Oligosarcus jenynsii*, P. v: *Parapimelodus valenciennis*, C. v: *Cyphocharax voga*, Ast: *Astyanax sp.*, R. q: *Rhamdia quelen*, A. f.: *Australoheros facetus*, H. m: *Hoplias malabaricus*, S. b: *Steindachnerina biornata*, O. o: *Oligosarcus oligolepis*, C. st: *Charax stenopterus*, Odo: *Odonthestes sp.*

En el análisis multivariado NMDS, se observa que el contenido lipídico es la variable que podría explicar la mayor presencia de plaguicidas encontrada en *C. voga*, pero no es la única que explica la distribución de plaguicidas en peces (Fig. 18). A su vez, el contenido lipídico fue significativamente diferente según el grupo trófico considerado ($F=5.5$, $p<0.05$), los piscívoros (en promedio) presentan la mitad de contenido lipídico que los detritívoros (Fig. 19). El contenido lipídico mostró una relación significativa con la posición trófica, pero la mayor parte de la varianza no es explicada por esta variable ($R^2=0.13$, $p<0.05$).

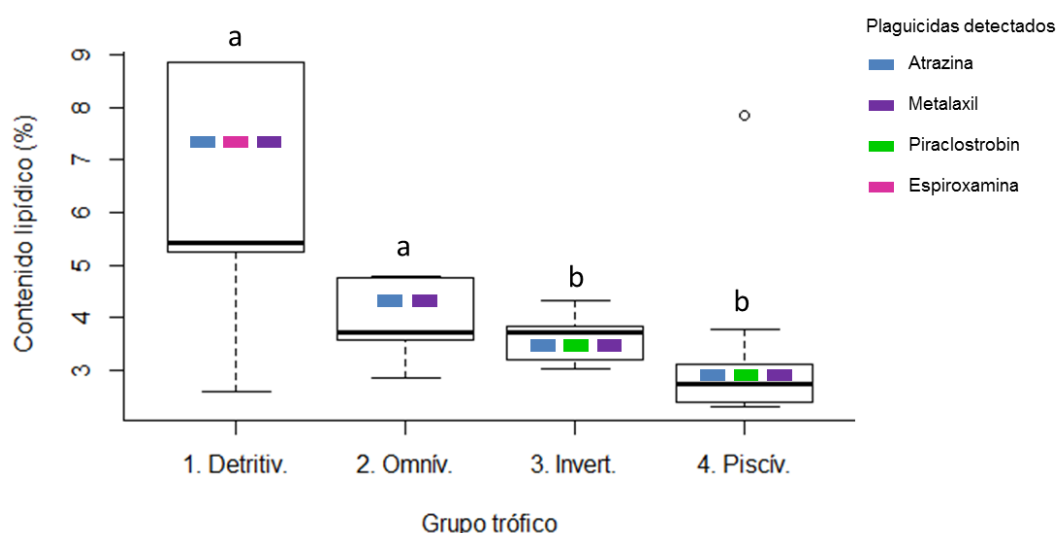


Figura 19. Contenido lipídico (%) según el grupo trófico de la especie de pez. El grupo trófico fue determinado mediante los análisis de contenido estomacal de peces. El orden de los grupos tróficos en el eje x se estableció de acuerdo a los análisis de isótopos estables de la comunidad de Laguna del Sauce. Las letras indican diferencias significativas en el contenido lipídico entre los grupos tróficos (test de t pareado corregido por Bonferroni). Los rectángulos de colores indican los plaguicidas detectados en cada grupo trófico.

Al considerar en conjunto los cuatro plaguicidas detectados en peces, el subsistema Laguna del Sauce fue diferente a Laguna del Potrero (ANOSIM corregido por Bonferroni para muestras pareadas, $p<0.05$). El subsistema Laguna del Sauce fue el que presentó mayor presencia de Atrazina y menor de Metalaxil en peces (GLM binomial, $p<0.01$) comparado con Laguna del Potrero que tuvo la menor presencia de Atrazina y mayor presencia de Metalaxil en

peces (GLM binomial, $p < 0.01$) (Tabla 4). Cabe aclarar que el herbicida Atrazina fue detectado en todas las muestras de peces provenientes del subsistema Laguna del Sauce.

Como se describió previamente, los plaguicidas Piraclostrobin y Espiroxamina fueron encontrados en 2 y 1 muestra de pez respectivamente, de un total de 57 muestras analizadas (Tabla 3). La frecuencia de detección de estos plaguicidas en peces fue muy baja, lo que limita estudiar las relaciones con las variables de interés. Por esto, de ahora en más, se centrará el análisis únicamente en los dos compuestos más frecuentemente presentes en peces: Atrazina y Metalaxil.

El Sabalito (*Cyphocharax voga*) fue la especie en donde se detectó una mayor diversidad de compuestos (Atrazina, Metalaxil y Espiroxamina), además, fue la única en la que se detectaron plaguicidas en todas las muestras analizadas (Tabla 3). Además, el sabalito *C. voga* fue la especie con mayor contenido lipídico en sus músculos ($F = 3.56$; $p < 0.001$). Sin embargo, la identidad taxonómica en sí misma, no fue significativa a la hora de explicar la presencia de ninguno de los plaguicidas (GLM binomial, $p > 0.05$). Por otro lado, se observó que la presencia de Atrazina está fuertemente explicada por la ausencia de Metalaxil, y viceversa (GLM binomial, $p < 0.001$) (Tabla 4).

Para evaluar qué variables de los peces explicaban el patrón inverso detectado en la presencia de Atrazina y Metalaxil, se realizaron modelos lineales generalizados mixtos con distribución binomial, donde la identidad de la especie de pez y el subsistema del que proviene la muestra se consideraron efectos aleatorios (Tablas 5 y 6). Tanto para la Atrazina como el Metalaxil, la variable que explicó mayormente la presencia de los plaguicidas fue el contenido lipídico del pez. Sin embargo, para el Metalaxil, esta variable no fue significativa, aunque el modelo fue el de menor AIC de los considerados (Tabla 6). Es más probable detectar Atrazina en especies con mayor contenido lipídico, mientras que para el compuesto Metalaxil sucede lo contrario.

A su vez, la posición trófica estuvo significativamente relacionada a la presencia de Atrazina y Metalaxil (GLMM binomial, $p < 0.0001$ en ambos casos). Para la Atrazina, esta relación es poco clara, ya que este herbicida estuvo presente en especies con posición trófica baja y alta (como extremos, *C. voga*

del subsistema LC, con PT=2.4 hasta *R. quelen* u *O. jenynsii* del subsistema LS con PT>4). Por otro lado, la presencia de Metalaxil parecería estar asociada a especies de mayor posición trófica, pero este efecto puede estar enmascarado por ser, además, especies con menor contenido lipídico (ver Fig. 19).

Finalmente, las variables grupo trófico y tamaño del pez no fueron significativas para explicar la presencia de Atrazina y Metalaxil, cuando se consideró la estructura de los efectos aleatorios (GLMM binomial, $p > 0.05$ en todos los casos, ver Tabla 5 y 6).

Tabla 4. Modelos lineales generalizados con distribución binomial utilizados para explicar la presencia de Atrazina y Metalaxil en músculo de peces respecto al subsistema de donde provienen las muestras (Laguna), especie de pez y la presencia del otro plaguicida. Se detalla para cada modelo el p valor y el criterio de información de Akaike (AIC).

Pregunta/Modelo^a	p valor	AIC^b
presencia de Atrazina ~ Laguna familia: binomial Laguna: LP, LC y LS ^c Deviancia de los residuales: 19.96 en 30 grados de libertad	0.03	25.96
presencia de Atrazina ~ especie de pez familia: binomial Deviancia de los residuales: 5.55 en 19 grados de libertad	>0.9	33.55
presencia de Atrazina ~ presencia de Metalaxil familia: binomial Deviancia de los residuales: 22.74 en 31 grados de libertad	0.0005	26.73
presencia de Metalaxil ~ Laguna familia: binomial Laguna: LP, LC y LS ^c Deviancia de los residuales: 19.96 en 30 grados de libertad	0.005	41.03
presencia de Metalaxil ~ especie de pez familia: binomial Deviancia de los residuales: 5.55 en 19 grados de libertad	>0.4	47.55

^a Modelos lineales generalizados. Variable de respuesta con distribución binomial .

^b Johnson & Omland (2004) Model selection in ecology and evolution.

^c El subsistema Laguna del Sauce es la que tiene mayor presencia de Atrazina y menor presencia de Metalaxil en peces, comparado con Laguna del Potrero.

Tabla 5. Modelos lineales generalizados mixtos utilizados para explicar la presencia de Atrazina en músculo de peces respecto a las variables: grupo trófico, posición trófica (PT), contenido lipídico y tamaño de la especie de pez (L_{std}). Se detalla para cada modelo el p valor y el criterio de información de Akaike (AIC). En negrita se destacan los modelos seleccionados.

Pregunta/Modelo^a	p valor	AIC^b
presencia de Atrazina ~ grupo trófico + (1 laguna/especie) familia: binomial Efectos fijos: grupo trófico Efectos aleatorios: identidad de especie, anidada en laguna [var (1 laguna/especie) = 1.12 e-05] n(obs.) = 33, n(especies:laguna) = 23, Lagunas= 3	>0.09	28.5
presencia de Atrazina ~ PT + (1 laguna/especie) familia: binomial Efectos fijos: posición trófica Efectos aleatorios: identidad de especie, anidada en laguna [var (1 laguna/especie) = 67209] n(obs.) = 33, n(especies:laguna) = 23, Lagunas= 3	<2 e-16	23.3
presencia de Atrazina ~ Cont. lipídico + (1 laguna/especie) familia: binomial Efectos fijos: contenido lipídico Efectos aleatorios: identidad de especie, anidada en laguna [var (1 laguna/especie) = 2492] n(obs.) = 33, n(especies:laguna) = 23, Lagunas= 3	0.04	22.5
presencia de Atrazina ~ Tamaño + (1 laguna/especie) familia: binomial Efectos fijos: tamaño (L_{std}) Efectos aleatorios: identidad de especie, anidada en laguna [var (1 laguna/especie) = 96.47] n(obs.) = 33, n(especies:laguna) = 23, Lagunas= 3	0.29	32.3
presencia de Atrazina ~ Cont. Lipídico * PT + (1 laguna/especie) familia: binomial Efectos fijos: contenido lipídico*PT Efectos aleatorios: identidad de especie, anidada en laguna [var (1 laguna/especie) = 4861] n(obs.) = 33, n(especies:laguna) = 23, Lagunas= 3	1.03 e-05 <0.001^c	24.4

^a Modelos lineales generalizados mixtos. Se muestran en negrita los modelos seleccionados. Efecto aleatorio: interceptos aleatorios, identidad de especie anidada por laguna (subsistema LP, LC y LS).

^b Johnson & Omland (2004) Model selection in ecology and evolution. Burnham et al., (2011). AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: some background, observations and comparisons.

^c La interacción entre las variables contenido lipídico y posición trófica es significativa

Tabla 6. Modelos lineales generalizados mixtos utilizados para explicar la presencia de Metalaxil en músculo de peces respecto a las variables: grupo trófico, posición trófica (PT), contenido lipídico y tamaño de la especie de pez (L_{std}). Se detalla para cada modelo el p valor y el criterio de información de Akaike (AIC). En negrita se destacan los modelos seleccionados.

Pregunta/Modelo^a	p valor	AIC^b
presencia de Metalaxil ~ grupo trófico + (1 laguna/especie) familia: binomial Efectos fijos: grupo trófico Efectos aleatorios: identidad de especie, anidada en laguna [var (1 laguna/especie) = 0] n(obs.) = 33, n(especies:laguna) = 23, Lagunas= 3	>0.07	46.7
presencia de Metalaxil ~ PT + (1 laguna/especie) familia: binomial Efectos fijos: posición trófica Efectos aleatorios: identidad de especie, anidada en laguna [var (1 laguna/especie) = 0.18] n(obs.) = 33, n(especies:laguna) = 23, Lagunas= 3	<2 e-16	47.3
presencia de Metalaxil ~ Cont. lipídico + (1 laguna/especie) familia: binomial Efectos fijos: contenido lipídico Efectos aleatorios: identidad de especie, anidada en laguna [var (1 laguna/especie) = 0.92] n(obs.) = 33, n(especies:laguna) = 23, Lagunas= 3	0.16	44.4
presencia de Metalaxil ~ tamaño + (1 laguna/especie) familia: binomial Efectos fijos: tamaño (L_{std}) Efectos aleatorios: identidad de especie, anidada en laguna [var (1 laguna/especie) = 0.09] n(obs.) = 33, n(especies:laguna) = 23, Lagunas= 3	0.27	48.4
presencia de Metalaxil ~ Cont. Lipídico * PT + (1 laguna/especie) familia: binomial Efectos fijos: contenido lipídico*PT Efectos aleatorios: identidad de especie, anidada en laguna [var (1 laguna/especie) = 1.1] n(obs.) = 33, n(especies:laguna) = 23, Lagunas= 3	>0.3 0.26 ^c	47
presencia de Metalaxil ~ Cont. Lipídico + PT + (1 laguna/especie) familia: binomial Efectos fijos: contenido lipídico+PT Efectos aleatorios: identidad de especie, anidada en laguna [var (1 laguna/especie) = 0.77] n(obs.) = 33, n(especies:laguna) = 23, Lagunas= 3	>0.3	46.3

^a Modelos lineales generalizados mixtos. Se muestran en negrita los modelos seleccionados. Efecto aleatorio: interceptos aleatorios, identidad de especie anidada por laguna (subsistema LP, LC y LS).

^b Johnson & Omland (2004) Model selection in ecology and evolution. Burnham et al., (2011). AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: some background, observations and comparisons.

^c La interacción entre las variables contenido lipídico y posición trófica no es significativa

Considerando la presencia de plaguicidas en las dos matrices analizadas (peces y sedimentos), se observó una mayor presencia de Atrazina en Laguna del Sauce que en las otras dos lagunas del sistema (GLM binomial, $p < 0.05$), siendo Laguna del Potrero donde se observó la menor presencia de Atrazina (Fig. 20). Para el Metalaxil, sin embargo, al considerar ambas matrices, no se detectaron diferencias entre los subsistemas (GLM binomial, $p > 0.05$).

Por otra parte, se observó mayor presencia de Atrazina y Metalaxil en peces que en sedimentos, aunque esta diferencia para la Atrazina fue marginalmente significativa (GLM binomial, $p = 0.05$ para la Atrazina y $p < 0.001$ para Metalaxil).

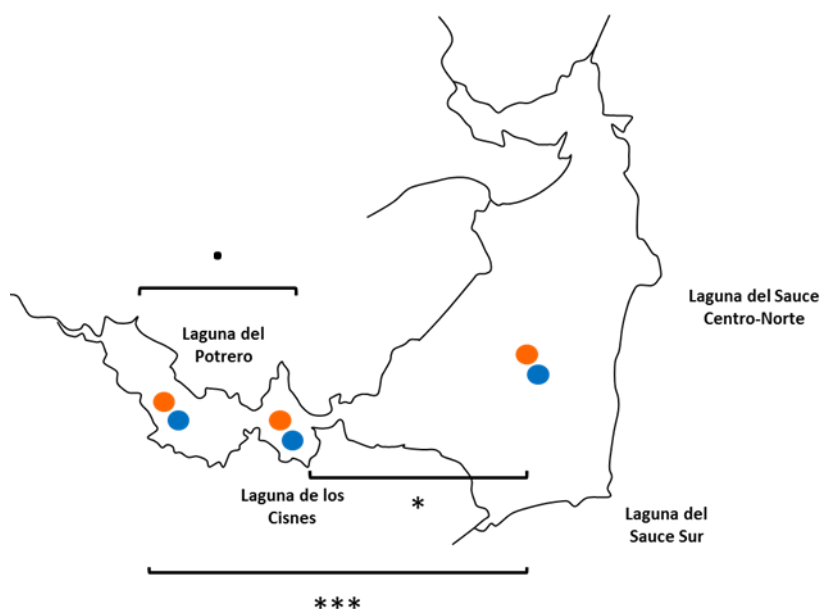


Figura 20. Diferencias en la presencia de Atrazina entre Lagunas, considerando conjuntamente las matrices de peces y sedimentos. Se observa mayor presencia de Atrazina en Laguna del Sauce que en las otras lagunas (GLM Binomial; (***) $p < 0.001$, (*) $p = 0.04$, (°) $p = 0.05$).

3.3 Características de los plaguicidas detectados en peces y sedimentos

Se elaboraron tablas que resumen algunas propiedades fisicoquímicas de interés (Tabla 7 y 8) y las principales características (Tabla 9) de los plaguicidas detectados tanto en peces como en sedimentos.

En cuanto a las características fisicoquímicas de los plaguicidas más frecuentemente encontrados en peces, Atrazina y Metalaxyl tienen diferencias marcadas en la solubilidad en agua. Mientras que el herbicida Atrazina presenta baja solubilidad en agua, Metalaxil tiene elevada solubilidad en agua. Además, según su coeficientes de partición octanol-agua (log “Kow”), Atrazina es un plaguicida con moderada tendencia a la bioacumulación, mientras que Metalaxil se lo considera con baja tendencia a la bioacumulación (interpretación de los valores según Lewis et al., 2016) (ver Tabla 7).

También se destaca que Metolacoloro, Pirimifos metil, Piraclostrobin y Trifloxistrobin son compuestos con un alto potencial de bioacumulación, ya que presentan valores de log Kow por encima de 3 (Lewis et al., 2016) (Tabla 7). De estos compuestos, solo el Piraclostrobin fue detectado en peces, siendo además poco frecuente (detectado en 2 de 57 muestras). Los otros tres plaguicidas, a pesar de su alto valor de log Kow, fueron detectados solamente en sedimentos. El plaguicida Espiroxamina, que presenta un potencial de bioacumulación moderado, fue detectado en una sola muestra de pez.

Tabla 7. Principales características fisicoquímicas de los plaguicidas detectados en peces y sedimentos, indicando en qué matriz estaban presentes. Se detalla: solubilidad en agua (mg/L), coeficiente de partición octanol-agua -log Kow- y presión de vapor (mPa), y su interpretación (Interp.). Fuente: Pesticide Properties DataBase (Lewis et al., 2016).

Plaguicida	Matriz en que se detectó	Solubilidad en agua a 20°C (mg/L)	Interp.	log Kow	Interp.	Presión de vapor a 25°C (mPa)	Interp.
Metalaxil	Sedimento y peces	8400	Alta	1.75	Baja	0.75	Baja volatilidad
Azoxistrobin	Sedimento	6.7	Baja	2.5	Baja	1.10 X 10 ⁻⁰⁷	Baja volatilidad
Hexitiazox	Sedimento	0.1	Baja	2.67	Baja	1.33 X 10 ⁻⁰³	Baja volatilidad
Atrazina	Sedimento y peces	35	Baja	2.7	Moderada	0.039	Baja volatilidad
Espiroxamina	Peces	405	Moderada	2.89	Moderada	3.5	Baja volatilidad
Metolacoloro	Sedimento	530	Alta	3.4	Alta	1.7	Baja volatilidad
Pirimifos metil	Sedimento	11	Baja	3.9	Alta	2.00 X 10 ⁻⁰³	Baja volatilidad
Piraclostrobin	Peces	1.9	Baja	3.99	Alta	2.60 X 10 ⁻⁰⁵	Baja volatilidad
Trifloxistrobin	Sedimento	0.61	Baja	4.5	Alta	3.40 X 10 ⁻⁰³	Baja volatilidad

Respecto a la persistencia de los plaguicidas detectados, el Metolacoloro, detectado en todas las muestras de sedimento, es un plaguicida considerado estable en la interfase agua/sedimento. Pirimifos metil fue un compuesto que se detectó en todos los sistemas muestreados, sin embargo, no se encontró información acerca del tiempo de degradación de este compuesto. Por otra parte, el compuesto Trifloxistrobin tiene una rápida degradación, pero su metabolito principal (trifloxistrobin ácido) tiene una alta persistencia en el ambiente (388 días en agua/sedimento) (Lewis et al. 2016). El compuesto detectado en sedimento con menor tiempo de degradación fue el insecticida Hexitiazox (37 días) (Tabla 8).

Tabla 8. Se muestran los tiempos de degradación en suelo y en la interfase agua/sedimento y su interpretación (Interp.) para los plaguicidas detectados en peces y sedimentos. Fuente: Pesticide Properties DataBase (Lewis et al., 2016).

Plaguicida	Degradación aeróbica en suelo (en días) (DT50)	Interp.	Degradación agua/sedimento (en días) (DT50)	Interp.
Trifloxistrobin	0.34	No persistente *metabolito persistente	2.4	Rápida *metabolito estable
Piraclostrobin	32	Moderadamente persistente	28	Rápida
Hexitiazox	30	Moderadamente persistente	37	Moderadamente rápida
Metalaxil	36	Moderadamente persistente	56	Moderadamente rápida
Espiroxamina	25	No persistente	66.2	Moderadamente rápida
Atrazina	75	Moderadamente persistente	80	Moderadamente rápida
Azoxistrobin	78	Moderadamente persistente	205	Lenta
Metolacoloro	90	Moderadamente persistente	365	Estable
Pirimifos metil	39	Moderadamente persistente	sin información	sin información

La mayoría de los compuestos detectados son funguicidas, y tres de ellos tienen un modo de acción similar, siendo disruptores de la cadena respiratoria (Tabla 9) (Lewis et al., 2016).

Respecto a los plaguicidas más frecuentemente detectados en sedimentos, el Metolacoloro es un herbicida utilizado en cultivos de maíz, girasol, maní, soja,

sorgo, forestales, entre otros; y Pirimifos metil es un insecticida que suele utilizarse para el control de plagas de granos almacenados. Por otra parte, la Atrazina, frecuentemente detectada en peces, es un herbicida que se utiliza en cultivos de maíz, sorgo y caña de azúcar, entre otros; mientras que el Metalaxyl es un funguicida utilizado en múltiples cultivos, como soja, trigo, maíz, cebada y gramíneas forrajeras, entre otros (Bayer CROP Science; Guía SATA Uruguay; Lewis et al., 2016) (Tabla 9).

Tabla 9. Para los plaguicidas encontrados en peces y sedimentos se detalla: tipo de plaguicida, modo de acción y los principales usos (Fuente: Bayer CROP Science; Guía SATA Uruguay; Pesticide Properties DataBase, Lewis et al., 2016).

Plaguicida	Tipo	Modo de acción	Ppales. Usos
Azoxistrobin	Funguicida	Inhibe la respiración mitocondrial en hongos	Funguicida en mezcla, curasemilla. Cultivos de soja, cebada, trigo
Espiroxamina	Funguicida	Actúa en la ruta metabólica de los esteroides, inhibición de la C14 reductasa en la membrana celular del hongo, deteniendo su desarrollo	Cultivos de espárrago, cebolla
Metalaxil	Funguicida	Inhibe la síntesis de ARN	Funguicida en mezcla, curasemilla. Cultivos de soja, trigo, maíz, cebada, gramíneas forrajeras
Piraclostrobin	Funguicida	Actúa sobre la cadena respiratoria en la mitocondria	Funguicida en mezcla. Cultivos de citrus, manzano, trigo, maíz y soja
Trifloxistrobin	Funguicida	Interfiere en la biosíntesis de las membranas celulares del hongo	Funguicida en mezcla. Cultivos de trigo, cebada, soja, girasol, papa, cebada, arroz
Atrazina	Herbicida	Inhibidor del Fotosistema II	Control de malezas en diversos cultivos: maíz, sorgo, caña de azúcar, lino, pino, eucaliptus
Metolacoloro	Herbicida	Inhibe la mitosis, en consecuencia, la división celular en plantas	Cultivos de maíz, girasol, maní, soja, sorgo, forestales y otros
Hexitiazox	Insecticida	No sistémico. Acción por contacto y estomacal	Acaricida. Cultivos de manzana, durazno, citrus, frutilla, tomate, pepino
Pirimifos metil	Insecticida	Inhibe la acetilcolinesterasa	Control de plagas de granos almacenados (trigo, maíz, cebada, avena, arroz)

4. Selección de especies de peces con potencial para monitoreo de plaguicidas

Del total de 17 especies evaluadas en este estudio, 7 especies reúnen varias de las condiciones deseadas para ser potencialmente utilizadas como biomarcadoras de exposición a plaguicidas (Tabla 10). Las mismas permitirían, además, continuar con el monitoreo del sistema, reduciendo sensiblemente el número de especies analizadas en este estudio. Entre estas especies se observan diferencias en el contenido lipídico del músculo (test de ANOVA,

F=5.709, $p<0.001$, Fig. 21) así como en sus hábitos tróficos; y representan 3 de los 4 grupos tróficos definidos en la presente tesis.

Tabla 10. Características deseables en las especies con potencial para ser utilizadas como biomarcadores de exposición a plaguicidas: capacidad de bioacumulación (diversidad de sustancias en músculo y frecuencia de detección de plaguicida), abundancia en el sistema Laguna del Sauce y a nivel país, y si son utilizadas para consumo humano.

Nombre común	Especie	Grupo trófico	Bioacumulación		Tamaño	Abundancia		Consumo humano	Suma
			diversidad	frecuencia		L. del Sauce	País		
Mojarra	<i>Astyanax sp.</i>	Omnív	1	0	0	1	1	0	3
Castañeta	<i>Australoheros facetus</i>	Omnív	0	0	1	0	1	0	2
Mojarra	<i>Bryconamericus iheringii</i>	Omnív	0	1	0	1	1	0	3
Sabalito	<i>Cyphocharax voga</i>	Detritív	1	1	1	1	1	0	5
Virolito	<i>Characidium rachovii</i>	Omnív	0	0	0	0	1	0	1
Dientudo jorobado	<i>Charax stenopterus</i>	Invertív	0	1	0	1	1	0	3
Mojarra	<i>Diapoma terofali</i>	Invertív	0	1	0	1	1	0	3
Tararira	<i>Hoplias malabaricus</i>	Piscív	0	1	1	0	1	1	4
Mojarra	<i>Hyphessobrycon meridionalis</i>	Omnív	0	0	0	1	0	0	1
Pejerrey	<i>Odonthestes sp.</i>	Piscív	1	1	1	1	1	1	6
Dientudo	<i>Oligosarcus oligolepis</i>	Piscív	0	0	1	1		1	3
Dientudo	<i>Oligosarcus jenynsii</i>	Piscív	1	0	1	1	1	1	5
Bagre misionero	<i>Parapimelodus valenciennis</i>	Invertív	1	1	1	1	0	0	4
Anchoíta	<i>Platanichthys platana</i>	Invertív	1	1	0	1	1	0	4
Bagre negro	<i>Rhamdia quelen</i>	Piscív	1	1	1	1	1	1	6
Sabalito	<i>Steindachnerina biornata</i>	Detritív	0	1	0	1	1	0	3

De estas 7 especies, el sabalito detritívoro (*Cyphocharax voga*), fue la especie con mayor contenido graso en promedio, donde se detectaron plaguicidas con mayor frecuencia, detectándose además, la mayor diversidad de compuestos. También se incluyen dos especies invertívoras (el bagre *Parapimelodus valenciennis* y la anchoíta *Platanichthys platana*) y cuatro especies piscívoras, la tararira (*Hoplias malabaricus*), el bagre negro (*Rhamdia quelen*), el pejerrey (*Odonthestes sp.*) y el dientudo (*Oligosarcus jenynsii*). Además, según sus hábitos, cada especie muestrearía distintos compartimentos: *C. voga* como “muestreador” del sedimento, la anchoíta *P. platana* (muy abundante en el sistema) y el bagre *P. valenciennis*, podrían considerarse “muestreadores” de la columna de agua, *Odonthestes sp.* un piscívoro que se alimenta en la columna de agua, *R. quelen* como un piscívoro con hábitos bentónicos y *H.*

malabaricus y *O. jenynsii* como piscívoros que están presentes en muchos sistemas de agua dulce de nuestro país. El pejerrey, el bagre negro y la tararira, además, son especies frecuentemente utilizadas para consumo humano. Resulta importante considerar biomarcadores de exposición a plaguicidas que permitan, además, evaluar posibles impactos en la salud humana.

Las especies seleccionadas, en conjunto, presentaron en músculo los 4 plaguicidas detectados en peces (Fig. 21). Sin embargo, para el caso de *Odonthestes* sp., resulta fundamental a futuro determinar qué especie habita Laguna del Sauce, de manera de poder utilizarla precisamente como biomarcadora de exposición a nivel nacional.

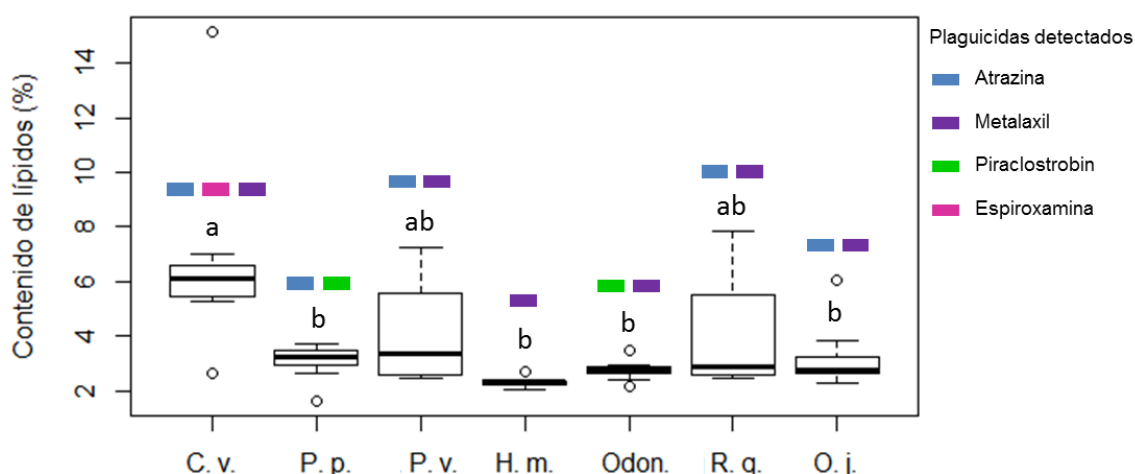


Figura 21. Contenido lipídico en músculo (%) para especies con potencial de ser utilizadas como biomarcadores de exposición a plaguicidas en Laguna del Sauce (y a nivel país). Las letras indican diferencias significativas en el contenido lipídico entre las especies (test de t pareado corregido por Bonferroni). Los rectángulos de colores indican los plaguicidas detectados para cada especie de pez. Referencias para las especies de peces: C. v.: *Cyphocharax voga*, P. p.: *Platanichthys platana*, P. v.: *Parapimelodus valenciennis*, H. m.: *Hoplias malabaricus*, Odon.: *Odonthestes* sp., R. q.: *Rhamdia quelen* y O. j.: *Oligosarcus jenynsii*.

Finalmente, otra ventaja de las especies propuestas, con la excepción de *P. platana*, es que son de mediano a gran porte (rango L_{std} : 10-43 cm), lo que

facilita la colecta de muestras (por el peso mínimo de muestra necesario), e incluso permite obtener una muestra para análisis de plaguicidas por individuo.

Para el sistema Laguna del Sauce en particular, se podría utilizar como biomarcadoras de exposición de plaguicidas el sabalito *C. voga* y la anchoíta *P. platana*, con hábitos tróficos diferentes y diferencias significativas en contenido lipídico en músculo (test de t pareado con ajuste Bonferroni, $p < 0.01$). También se podría incorporar un piscívoro para evaluar posibles efectos a nivel de consumo humano, aunque en este sistema esto no sería prioritario ya que no está permitida la pesca.

A nivel regulatorio, solo existen límites máximos de residuos (LMRs) para algunos plaguicidas organoclorados determinados por la FDA (Food and Drug Administration) en pescado (Food Code, 2013). Sin embargo, a nivel país sí resulta importante considerar a especies utilizadas para consumo humano como biomarcadoras de exposición a plaguicidas de manera de evaluar potenciales riesgos. En este sentido, se sugiere incorporar junto con el sabalito *C. voga*, la tararira o el bagre negro, los tres con amplia distribución a nivel país, y los dos piscívoros en particular, son frecuentemente utilizados para consumo humano (Teixeira de Mello et al., 2011).

Discusión

Dado que los plaguicidas suelen ser sustancias persistentes en el ambiente (tiempo que varía de acuerdo a las propiedades fisicoquímicas del compuesto y también del compartimento ambiental considerado (Mackay, 2001)), los muestreos puntuales capturan e integran una parte de las diferentes condiciones a las que está expuesto el sistema Laguna del Sauce.

Actualmente en Uruguay, el plan de Monitoreo de Residuos en Recursos Naturales incluye las matrices agua y suelo (MVOTMA, Ley General de Medio Ambiente N° 17.283 del año 2000). La matriz agua (no evaluada en el presente estudio) generalmente permite evaluar aportes puntuales muy acotados en el tiempo. Muchos plaguicidas permanecen muy poco tiempo como tales en este compartimento ambiental, ya sea porque por sus características fisicoquímicas migran a otros compartimentos, o porque se degradan, lo que ocasiona que la determinación de plaguicidas en esta matriz no esté exenta de dificultades (Tankiewicz et al., 2010). En particular, implica el desarrollo de programas de monitoreo adaptativos en función de los períodos de aplicación y régimen de lluvias. Esto condiciona grandes dificultades para demostrar el ingreso de plaguicidas. En este sentido, la evaluación de matrices alternativas al agua resulta clave.

Matriz sedimentos

Los sedimentos acumularon una mayor diversidad de plaguicidas que los peces (7 compuestos en sedimentos y 4 en peces). Los resultados de esta tesis evidencian la complementariedad de ambas matrices, ya que fue más frecuente encontrar Atrazina y Metalaxil en peces que en sedimentos e incluso se encontró en peces dos compuestos que no aparecieron en ninguna muestra de sedimentos: Piraclostrobin y Espiroxamina.

La matriz sedimentos, resulta apropiada para reflejar el tipo de impacto que ha recibido el ecosistema, integrando un lapso de tiempo mayor que la matriz agua (Mc. Murry et al., 2016). El sedimento actúa como un absorbente heterogéneo de contaminantes, principalmente debido a su variabilidad en el

contenido de materia orgánica, siendo reservorio de contaminantes orgánicos persistentes y metales pesados (El Nemr & El-Sadaawy, 2016). Los sedimentos ricos en materia orgánica en particular, son compartimentos apropiados para la acumulación de plaguicidas principalmente apolares (Ccanccapa et al., 2016). En este tipo de sedimentos, los compuestos altamente solubles (como el Metalaxyl o el Metolacoloro) no presentarían tanta afinidad. Sin embargo, en este estudio, el herbicida Metolacoloro fue detectado en todas las muestras de sedimento analizadas, resultado llamativo considerando el alto contenido de materia orgánica en los sedimentos, característico de sistemas con un proceso de eutrofización acelerado como lo es Laguna del Sauce (Mazzeo et al., 2010).

Los muestreos puntuales no permiten analizar las variaciones en los contenidos de plaguicidas que ocurren a lo largo del tiempo, que dependen de distintos factores, como el uso del suelo que se hace en la cuenca en distintos momentos del año, o de las condiciones meteorológicas, como el régimen de precipitaciones, entre otros (Ccanccapa et al., 2016). Sin embargo, resultan una aproximación acertada para determinar el ingreso o no, de residuos de plaguicidas en un sistema acuático. Además, por su capacidad de integrar un lapso amplio de tiempo (meses o incluso años) logran capturar múltiples eventos de ingresos de plaguicidas.

El compuesto detectado en sedimento con menor tiempo de degradación fue el insecticida Hexitiazox (37 días). Es importante recordar que el muestreo se realizó a inicios del otoño, por lo tanto, es posible que esta matriz refleje el laboreo de la tierra y las aplicaciones de plaguicidas que ocurrieron durante los meses de verano. Los sedimentos y el agua de ecosistemas lénticos reflejan procesos de mayor tiempo que en sistemas lóticos, donde el agua fluye y el sedimento sufre mayor erosión y deriva (Marsh & Fairbridge, 1999). Laguna del Sauce es un sistema con un tiempo de residencia del agua de 195 días en promedio (Rodríguez et al., 2010), pudiendo oscilar entre 70 días hasta casi un año dependiendo del régimen de precipitación, por lo que el sedimento superficial podría integrar un período de varios meses.

Es de esperar que la dinámica del sedimento sea muy diferente entre los subsistemas Laguna del Sauce y Laguna del Potrero, dado por los procesos de

resuspensión y sedimentación que predominan en cada uno de los subsistemas. El subsistema Laguna del Sauce, en particular, está expuesto a regímenes intensos de viento que genera resuspensión de sedimento ocasionando una alta turbidez (Crisci et al., 2017). Estos eventos pueden mezclar a los plaguicidas adheridos a partículas de materia orgánica en la columna de agua, quedando más disponibles para ser acumulados por la biota, hasta que luego de cierto tiempo volverían a alcanzar los estados de equilibrio químico (Mackay, 1979).

Los plaguicidas Metolaclor, Pirimifos metil y Trifloxistrobin fueron los más frecuentemente detectados en sedimentos. En este trabajo, ninguno fue detectado en músculo de peces, a pesar de que son compuestos con alto potencial de ser bioacumulados (Lewis et al. 2016). Cualquiera de los tres compuestos representa un riesgo potencial para el sistema acuático, ya sea por su toxicidad o potencial de bioacumulación.

El Metolaclor es un herbicida persistente en el ambiente, considerado moderadamente tóxico para peces y otros invertebrados acuáticos. Su utilización está prohibida en Europa desde 2009 (Lewis et al. 2016). Actualmente, este herbicida tiene alto impacto en Uruguay, ya que es frecuentemente detectado en matrices ambientales como los sedimentos (Pérez-Parada com. pers) y peces (Ernst et al., 2018).

Por otro lado, el Pirimifos metil es un insecticida organofosforado utilizado para el tratamiento insecticida en granos almacenados (Lewis et al. 2016). Este compuesto se lo ha reportado como moderadamente tóxico para peces y altamente tóxico para invertebrados como *Daphnia magna* o *Chironomus riparius* (Lewis et al. 2016), por lo que su presencia en los sedimentos del sistema representa un riesgo para todo el ecosistema acuático dada su toxicidad.

Por último, el Trifloxistrobin es un fungicida identificado como altamente tóxico en *Daphnia magna* y peces (trucha arcoiris -*Oncorhynchus mykiss*-) (Lewis et al. 2016). Además, es altamente tóxico para embriones de peces (evaluado en embriones de *Gobiocypris rarus* – Cypriniforme) (Zhu et al. 2015). En nuestro país, tanto Pirimifos metil como Trifloxistrobin han sido frecuentemente

reportados en músculo de peces (Alonso et al., 2016, Teixeira de Mello et al., 2016 b; Ernst et al., 2018).

Finalmente, el herbicida Atrazina fue detectado en muestras de los tres subsistemas de Laguna del Sauce, aunque con menor frecuencia que los tres plaguicidas mencionados anteriormente. Cabe destacar que se ha planteado que la Atrazina es resistente a la hidrólisis y persiste en el tiempo una vez que alcanza depósitos ambientales, como el sedimento (Ccanccapa et al. 2016).

Es posible afirmar que el sedimento resultó ser una matriz apropiada para evaluar la presencia de plaguicidas en el sistema estudiado. Sin embargo, la utilización de esta matriz demanda cierto conocimiento del sistema. Si bien el sedimento superficial refleja las condiciones a las que el sistema ha estado expuesto, el tiempo que éste representa puede ser muy variable entre distintos sistemas acuáticos. A su vez, en el caso de ecosistemas lóticos, el agua puede erosionar los sedimentos, impidiendo que sean utilizados como matriz. En este caso, los peces podrían representar una mejor visión del sistema.

Matriz peces

La Atrazina y el Metalaxil fueron los dos compuestos más frecuentemente encontrados en las muestras de músculo de peces. Se observó que el comportamiento de estos compuestos fue disímil, dado que en las muestras en que se detectaba uno de estos plaguicidas era más probable que no estuviera presente el otro. De acuerdo a las características fisicoquímicas de estos compuestos, este comportamiento es esperable, ya que difieren en la solubilidad en agua (Ward & Weber 1968, Lewis et al. 2016). Según los modelos considerados en este trabajo, fue más probable detectar Atrazina en muestras con alto contenido lipídico, mientras que Metalaxil se presentó principalmente en peces con bajo contenido graso, lo que resulta concordante con las diferencias de solubilidad reportadas para ambos.

El contenido lipídico resultó ser una variable importante a la hora de explicar la presencia de plaguicidas. En este sentido, se debe tener en cuenta que el contenido lipídico en peces puede variar según su historia de vida, las

estaciones del año (Arrington et al., 2006) o el momento de su ciclo de vida (ej.: durante la reproducción, de Vlaming et al. (1978)) lo que podría generar variaciones a nivel intraespecífico que deberían ser consideradas o evaluadas en estudios futuros.

Resultó llamativa la presencia de Metalaxil en músculo de peces a pesar de ser clasificado con baja tendencia a la bioacumulación (Lewis et al. 2016), e incluso se detectó para este compuesto, una asociación más fuerte a la matriz peces que a los sedimentos. Este comportamiento seguramente no hubiera podido ser predicho utilizando los modelos de fugacidad más simples desarrollados por Mackay (1979), dado que se basan fundamentalmente en las características fisicoquímicas de los plaguicidas.

Otros estudios han evaluado la acumulación de Metalaxil en lombrices de tierra (Xu et al., 2011) y ratones (Zhang et al., 2014). Estos trabajos en laboratorio se enfocan en la diferencia de acumulación de los enantiómeros S y R del Metalaxil y sus metabolitos, hallándose una acumulación diferencial de R enantiómeros de Metalaxil en plasma, orina, heces, corazón, hígado y riñones de ratones (Zhang et al., 2014). También se ha detectado y cuantificado la presencia de Metalaxil en peces de la especie *Jenynsia multidentata* en un curso de agua que atraviesa una importante región agrícola de la Pampa Argentina (Brodeur et al., 2017) y en peces de los ríos Negro y Uruguay en nuestro país (Ernst et al., 2018).

A diferencia del Metalaxil, la Atrazina presenta una moderada tendencia a la bioacumulación. Este herbicida es relativamente persistente en aguas superficiales con alto pH, asociado con sus principales usos en agricultura (Solomon et al., 2008). El sistema Laguna del Sauce tiene habitualmente un pH alto (> 8), debido a la fotosíntesis de plantas sumergidas o el fitoplancton (González-Madina et al., 2017). Esta situación favorecería su persistencia en agua, incrementando la probabilidad de que los organismos acuáticos queden expuestos al mismo (Solomon et al. 2008), y podría explicar el hecho de que fue el plaguicida más frecuentemente hallado en peces.

La Atrazina ha sido catalogada como potencial contaminante de aguas subterráneas y moderadamente tóxica para invertebrados acuáticos y peces

(Lewis et al. 2016). Además, se han reportado otros posibles efectos no deseados, como la fragmentación de hábitat ya que puede actuar como una barrera química para la especie de pez *Poecilia reticulata* (Araujo et al., 2017). La utilización de este plaguicida está prohibida en los países de la Unión Europea desde el 2009 (Lewis et al. 2016), y desde diciembre de 2016 fue prohibida en Uruguay (Resoluciones MGAP).

Los niveles de contaminantes medidos directamente en peces pueden ser usados como biomarcadores de exposición. En este contexto, van der Oost et al. (2003) sugieren como tejidos más adecuados para evaluar contaminantes orgánicos persistentes (COPs), el tejido muscular, el hígado, o el pez entero. Se ha reportado que en peces, el músculo es el tejido que acumula menor cantidad de plaguicidas organoclorados y otros contaminantes orgánicos persistentes (Silva Barni et al., 2016). Cabe destacar que Silva Barni et al. (2016) trabajaron en un lago somero de Argentina con los peces *Cyphocharax voga*, *Odonthestes bonariensis* y *Oligosarcus jenynsii*, es decir, las mismas especies (o del mismo género) a las evaluadas en este estudio. En este sentido, sería interesante evaluar en el futuro, la presencia de plaguicidas en distintas especies y en distintos tejidos, midiendo directamente el contenido lipídico. De esta manera, se podría evaluar para un mismo individuo, los tejidos más apropiados para detectar distintos plaguicidas. Esto permitiría aumentar la “capacidad de detección” por cada individuo, aunque esto sería posible realizarlo solo con especies de gran porte.

Hábitos tróficos y plaguicidas

El modo de alimentación contribuye a la adquisición de plaguicidas por parte de los peces, ya que la especie detritívora *C. voga* fue la que acumuló una mayor diversidad de compuestos y en la que se detectó plaguicidas en mayor frecuencia. Sin embargo, esto no puede tratarse con independencia del contenido lipídico, variable también importante a la hora de explicar la presencia de los plaguicidas encontrados en peces, siendo ésta la especie con mayor contenido lipídico.

En este sentido, la Atrazina fue detectado en todas las muestras del Sabalito detritívoro *C. voga*, sin embargo, esto no fue así para *Steindachnerina biornata*, una especie de sabalito con hábitos tróficos muy similares, donde no se detectó Atrazina. El número de muestras involucradas en esta comparación es muy bajo, lo que se debe en parte a que los individuos de *S. biornata* son de menor tamaño (*S. biornata* 7.7 ± 3.4 ; *C. voga* 18.3 ± 4.4) generando la necesidad de tomar muestras integradas por varios individuos. Sin embargo, esta diferencia resultó llamativa dada la similaridad aparente entre ambas especies, que no mostraron diferencias en su posición trófica ($F=0.13$, $p>0.05$), aunque sí en la señal de $\delta^{13}C$ ($F=58.07$, $p<0.001$) y su contenido lipídico ($F=11.43$, $p<0.01$). El mayor contenido lipídico de *C. voga* podría explicar la diferencia en la presencia de Atrazina observada, dado que este herbicida fue mayormente detectado en peces con mayor contenido lipídico. A su vez, los piscívoros fueron el grupo trófico donde fue menos frecuente la presencia de este compuesto, y el menor contenido lipídico que presentaron estos organismos, parecería ser la explicación para el patrón observado.

Otros trabajos, como el de Fan et al. (2017), han comparado los niveles de distintos contaminantes en peces con vías de alimentación bentónicas o pelágicas y han determinado que las vías de ingreso de los plaguicidas son importantes a la hora de explicar el contenido de contaminantes en peces. Sin embargo, observan que esto es también muy dependiente de las características fisicoquímicas del compuesto, dado que es lo que determina su afinidad por los distintos compartimentos ambientales (Fan et al., 2017).

A su vez, *S. biornata* es una especie que fue colectada en los subsistemas de los Cisnes y Potrero, donde en particular Laguna del Potrero fue el sistema con menor presencia de Atrazina en músculo de peces, por lo que podría haber un efecto del sistema que no permita entender con independencia la trofodinámica de los plaguicidas (ver más adelante).

Presencia de plaguicidas y posición trófica: evaluación de biomagnificación

Todas las muestras analizadas en esta tesis presentaron valores de plaguicidas por debajo del límite de cuantificación de la técnica analítica

utilizada en cada caso (ver anexo). De esta manera, se trabajó con resultados cualitativos, donde se detectó la presencia o ausencia de plaguicidas en las muestras. En consecuencia, no fue posible evaluar la biomagnificación de plaguicidas en peces, dado que este concepto implica el aumento de la concentración de plaguicidas a medida que aumenta la posición trófica de los organismos. Sin embargo, en el presente trabajo no se observó ningún patrón que se asemeje a un proceso de biomagnificación. Por ejemplo, se podría haber detectado cierto plaguicida en especies con baja posición trófica y éste haber sido cuantificado en las especies de mayor posición trófica. Si bien esto no se observó, no es posible descartar el proceso de biomagnificación, ni confirmar o rechazar la tercera predicción de la primera hipótesis de trabajo.

A pesar de lo mencionado anteriormente, con los resultados obtenidos es posible realizar ciertas suposiciones basándose en la bibliografía disponible. Es probable que las diferencias observadas en la acumulación de plaguicidas entre los distintos grupos tróficos, no se deban a procesos de biomagnificación, sino a diferencias en la bioacumulación de plaguicidas con características fisicoquímicas distintas (polar/apolar). Esta afirmación se debe a que éstos plaguicidas se acumularon diferencialmente de acuerdo a las diferencias que existen en el contenido lipídico entre grupos tróficos (Metalaxil más presente en piscívoros y Atrazina en todos los grupos excepto piscívoros).

Por otro lado, los plaguicidas que se detectaron en peces presentan valores de coeficiente de partición octanol-agua ($\log K_{ow}$) que indican un potencial de bioacumulación moderado. El coeficiente de partición octanol-agua ($\log K_{ow}$) es un buen predictor del potencial de bioacumulación para animales acuáticos (Gobas, 1993; Morrison et al., 1997) y se ha planteado al coeficiente de partición octanol- aire y K_{ow} combinados, en el caso de animales que respiran aire (Kelly et al., 2004).

Varios estudios han planteado que el proceso de biomagnificación sería significativo en casos de plaguicidas con valores de $\log K_{ow}$ mayores a 5, mostrando además que los plaguicidas con $\log K_{ow}$ menores a 7 son sensibles en la eficiencia de asimilación del contaminante (Thomann, 1989). Por otro lado, otros trabajos plantean que la biomagnificación es significativa en plaguicidas con valores de $\log K_{ow}$ mayores a 6.3 (LeBlanc, 1995; Russell et

al., 1999), aunque también hay evidencia de biomagnificación en plaguicidas con log Kow entre 5.5 y 6.3 (Rusell et al., 1999).

Ninguno de los plaguicidas detectados en este estudio tuvo valores de log Kow mayores a 5 (máximo log Kow: 4.5 en Trifloxistrobin), por lo que se podría pensar que éste es el motivo por lo que no se observó un patrón de biomagnificación de plaguicidas.

En nuestro país, varios estudios han detectado en peces la presencia de plaguicidas con alto potencial de bioacumulación, respresentando riesgos potenciales para los ecosistemas y la salud humana. En particular, durante el estudio de Ríos et al. (2010), realizado en la cuenca del Parque Nacional Esteros de Farrapos e Islas del Río Uruguay y siguiendo la misma metodología de análisis directo en músculo de peces, se cuantificaron plaguicidas muy persistentes como DDT (log Kow=6.91) y su metabolito (DDE), o Endosulfán (log Kow=4.75) y su metabolito (Endosulfán sulfato). Por otro lado, en un trabajo reciente en la cuenca del Río Cuareim se detectó Clorpirifos (log Kow=4.7) y Trifloxistrobin (log Kow=4.5) y se cuantificó Pirimifos-metil (log Kow=3.9) y Azinfos-metil (log Kow=2.96), entre otros compuestos (Teixeira de Mello & Stábile, 2016). A su vez, Ernst et al., (2018) reportaron plaguicidas en el 96% de las muestras de peces analizadas provenientes de los Ríos Negro y Uruguay, detectando la presencia de 30 plaguicidas diferentes entre los que se destacan Trifloxistrobin y Metolaclor por su alta frecuencia de ocurrencia, y Amitraz por su alto Kow con potencial de biomagnificación (log Kow=5.5).

En este trabajo, resultó llamativo el comportamiento del Metalaxil (alta solubilidad en agua), frecuentemente encontrado en peces piscívoros, de mayor posición trófica y la mitad de contenido graso en promedio en sus músculos, en comparación con los detritívoros. Para este plaguicida en particular, podría pensarse que el compuesto se esté biomagnificando en la red trófica, pero que la concentración en peces de niveles tróficos inferiores sea menor al límite de detección de la técnica analítica utilizada. Sin embargo, es probable que en este caso no se deba a un proceso de biomagnificación del

compuesto, debido al bajo log Kow que tiene el Metalaxil (Thomann, 1989; LeBlanc, 1995; Russell et al., 1999).

Respecto a la bioacumulación de plaguicidas en organismos vivos, si bien el log Kow sería un buen predictor, hay otros factores que se deben considerar. Por un lado, considerar las diferencias en la difusión de compuestos a través de las membranas celulares y la existencia de transporte activo (Franke et al. 1994). A su vez, poco se conoce sobre el comportamiento de los metabolitos (a veces incluso más tóxicos que los compuestos parentales). Por otro lado, las diferencias en las tasas metabólicas de los organismos y en eficiencia de asimilación y depuración son factores que pueden afectar los patrones de acumulación de plaguicidas (Franke et al., 1994; Kelly et al. 2004).

Asimismo, tener en cuenta la complejidad que puede existir en ambientes naturales, incluyendo los efectos sinérgicos de varios compuestos químicos presentes en los individuos (Fernandez-Alba et al., 2002). En este contexto, Franke (1996) ha planteado que el log Kow resulta útil para evaluar distintos compuestos y elaborar listados de sustancias peligrosas pero no sería suficiente para predecir factores de bioacumulación confiables para sustancias nuevas (también llamados Factores de Bioconcentración, BCF).

Patrones espaciales observados en las tramas tróficas

Laguna del Potrero, dominado por la presencia de macrófitas sumergidas y gran abundancia de plantas flotantes, fue el que presentó la comunidad de peces con mayor riqueza, mayor amplitud en la utilización de las fuentes de carbono y mayor diversidad trófica. Este resultado confirma la primera predicción de la segunda hipótesis de trabajo.

La dinámica espacial es un aspecto fundamental en ecología y muchos investigadores se han interesado en cómo los diferentes gradientes espaciales de factores bióticos o abióticos condicionan la dinámica y estructura de las redes tróficas (Holt, 2002). A las marcadas diferencias espaciales en los parámetros fisicoquímicos que ya han sido reportadas para el sistema Laguna del Sauce (Mazzeo et al., 2010; Crisci et al., 2017; González-Madina et al.,

2017), se suma las diferencias en la estructura de la red trófica entre los subsistemas observadas en este trabajo

Podría afirmarse que el mayor rango de carbono observado en la comunidad de peces está relacionado a las especies exclusivas que este subsistema presenta. Sin embargo, las especies de peces *Hyphessobrycon meridionalis* y *Steindachnerina biornata* serían las que explican el mayor valor de la métrica CR, ya que fueron las que presentaron señales promedio de $\delta^{13}\text{C}$ más extremas (-19.9 y -30.0 respectivamente). Ambas especies están presentes en los subsistemas Laguna de los Cisnes y Laguna del Potrero, por lo que tendría que haber otros factores que expliquen el mayor rango de carbono reportado para Laguna del Potrero. La mayor presencia y diversidad de macrófitas que presenta Laguna del Potrero con respecto a las otras lagunas del sistema, representa en sí misma una fuente de carbono más diversa. En este sentido, el mayor rango de carbono observado en la comunidad de peces de Laguna del Potrero podría deberse a cómo utiliza la comunidad de peces las fuentes de carbono presentes en este subsistema.

El estado de aguas claras (Scheffer et al., 1993; Scheffer et al., 2003), promovido por la presencia de macrófitas del subsistema Laguna del Potrero, podría contribuir a una mayor dominancia del perifiton respecto al fitoplancton como productor primario. La competencia entre algas planctónicas y bentónicas ha sido demostrada tanto en estudios de laboratorio como de campo, siendo las primeras competitivamente superiores en cuanto a la luz, mientras que las algas bentónicas serían más eficientes compitiendo por los nutrientes liberados desde el sedimento (Hansson, 1988).

A su vez, se ha visto que ante el aumento de la producción primaria total de un sistema, causada por el aumento de fósforo total en la columna de agua, la producción del perifiton decrece o se mantiene constante (Björk- Ramberg & Anell, 1985; Vadeboncoeur & Lodge, 2000). Liboriussen & Jeppesen (2003) plantean que esto sería resultado de una redistribución de la productividad desde el ambiente bentónico al pelágico, y que esta redistribución puede ocurrir incluso en un rango relativamente estrecho de fósforo total y claridad de agua.

Estudios en Laguna del Sauce muestran que, en promedio, los valores de fósforo reactivo soluble y fósforo total son menores hacia Laguna del Potrero (González-Madina et al., 2017; González-Madina et al., en prensa). En este escenario, hacia el subsistema Laguna del Sauce existe un gradiente de mayor fósforo reactivo soluble, mayor profundidad, mayor turbidez y mayor resuspensión de sedimento (Crisci et al. 2017; González-Madina et al., en prensa) que favorecerían una mayor dominancia de la producción primaria pelágica respecto a la perifítica. Es esperable que este cambio de dominancia de una producción primaria bento-pelágica y con macrófitas en LP, hacia una producción principalmente pelágica hacia LS, repercuta en los niveles superiores de la red, afectando la composición de especies y la estructura de la red trófica en general (Power, 1992).

Sumado a esto, en este trabajo se observó que la firma isotópica de carbono tanto para las algas fijas como para el fitoplancton, fue significativamente diferente entre los subsistemas Laguna del Sauce y Laguna del Potrero, presentando el subsistema Laguna del Potrero firmas de carbono más empobrecidas en ambos casos. Sin embargo, para ambos subsistemas, las algas fijas tuvieron firmas más enriquecidas en carbono 13 con respecto a las firmas fitoplanctónicas, lo que es esperable debido a estar expuestas a zonas de aguas con menor turbulencia (por ejemplo, las zonas bentónicas o litorales o con presencia de macrófitas) (France et al., 1995 b). Los resultados de este trabajo reflejan la necesidad de explorar en mayor detalle la comunidad perifítica de los subsistemas Laguna del Potrero y Laguna del Sauce debido a que: (1) se observaron diferencias significativas en sus firmas isotópicas y (2) se observó un uso diferencial por parte de la comunidad de peces como fuente de carbono, posiblemente debido a la relevancia que esta fuente tiene en un sistema de aguas claras como es Laguna del Potrero.

Es posible que el flujo de energía del subsistema Laguna del Sauce no implique la transferencia clásica vía fitoplancton-zooplacton-peces, sino de aportes alóctonos de la vegetación litoral, de las macrófitas y en particular, del detrito. En un principio esto puede parecer contra intuitivo debido a la eutrofización y elevada biomasa fitoplanctónica que alcanza el sistema en

algunos momentos. Sin embargo, esta afirmación se basa en distintos aspectos claves a considerar.

Por un lado, la estructura del zooplancton, característica de un sistema eutrófico con gran abundancia de peces zoopláctívoros, ejerce una baja presión de herbivoría sobre el fitoplancton (Lacerot et al., 2013; da Rosa et al., 2017). En Laguna del Sauce, el zooplancton está dominado, en términos de abundancia, por microfiltradores (rotíferos y nauplios) y los mesofiltradores (cladóceros y calanoides) presentan un tamaño reducido (Mazzeo et al., 2010).

Por otro lado, a través de los análisis de isótopos estables, se observó que la fuente de carbono principal del subsistema Laguna del Sauce provendría de la vía detritívora. Es probable que en este subsistema, la comunidad bacteriana, la comunidad de invertebrados bentónicos y los peces detritívoros utilicen como fuente de energía la materia orgánica del detrito, dejando así disponible esos nutrientes para el resto de los componentes de la red (Carpenter et al., 2005).

Crisci et al. (2017) identificaron que ciertas condiciones meteorológicas e hidrológicas desencadenan eventos de elevada turbidez en el subsistema LS y que, cuando ésta supera cierto umbral (>29 TNU), limita el crecimiento del fitoplancton. Es posible suponer que en estos momentos la disminuida penetración de luz en la columna de agua, aumente la dependencia del sistema hacia el detrito y la materia orgánica, proveniente de la comunidad de macrófitas (y probablemente también de los sistemas vecinos como los humedales de los arroyos Pan de Azúcar y Sauce).

A su vez, Crisci et al. (2017) identificaron, para el subsistema LS, condiciones favorables para la dominancia de grupos funcionales de cianobacterias potencialmente tóxicas. Esto agrega, a las características anteriormente mencionadas para el subsistema LS, un escenario no favorable de consumo del fitoplancton para los herbívoros, pudiendo impactar negativamente en la comunidad zoopláctónica y de peces (Sheffer et al., 1993).

Por los motivos detallados anteriormente, es posible observar que mientras la comunidad del subsistema Laguna del Potrero presenta una diversidad de fuentes de carbono que la sustentan, tanto autóctonas como alóctonas, la comunidad de Laguna del Sauce parece ser heterotrófica, siendo muy

importantes los aportes de carbono provenientes del detrito, de la vegetación litoral y las macrófitas.

Se ha planteado que ante un escenario de cambio climático, el aumento de temperatura y sustancias húmicas en los sistemas acuáticos, generaría menor incidencia de la luz y mayor abundancia de bacterias, fomentando una dominancia de fitoplacton mixótrofo, es decir, aquel que facultativamente consume bacterias (Wilken et al., 2013, 2017). Wilken et al. (2017) plantean además, que el cambio hacia redes heterotróficas estaría mediado por cambios a nivel de los productores, aumentando la abundancia de fitoplancton mixótrofo (como *Dinobryon* o *Cryptomonas*), haciendo más eficiente la incorporación de carbono alóctono e impactando a niveles superiores de la red trófica. En el sistema Laguna del Sauce ocurre fitoplacton mixótrofo en bajas abundancias (González-Madina et al., 2017), principalmente asociado a la desembocadura de los arroyos del Sauce y Pan de Azúcar (Pacheco com. pers.). En este sentido y a modo de perspectiva, sería interesante evaluar a largo plazo la proporción de mixótrofos en la comunidad fitoplanctónica de Laguna del Sauce y analizar si utilizan ese modo de alimentación o no.

Por otra parte, en la Laguna se observaron 4 niveles tróficos y los dientudos *Oligosarcus jenynsii* y *O. oligolepis*, fueron los predadores tope, resultados que coinciden con lo reportado por otros trabajos de redes tróficas de lagos someros subtropicales uruguayos (Iglesias et al., 2017 b).

Otra característica a resaltar es que el largo de cadena trófica y el rango de nitrógeno fueron similares entre las redes tróficas de las lagunas. Es posible que los peces de gran porte, como los dientudos (*O. jenynsii* y *O. oligolepis*) y pejerreyes (*Odonthestes* sp.) se desplacen a lo largo de todo el sistema, integrando las redes tróficas de los tres subsistemas, que parecen ser más locales a nivel basal (Vander Zanden & Vadeboncoeur, 2002). En este sentido, también cabe destacar que las comunidades varían mucho más en riqueza de especies que en sus largos de cadena trófica (Pimm & Lawton, 1977; Holt, 2002), y esto es de esperar en un sistema conectado como es Laguna del Sauce.

Dada la gran abundancia y diversidad de macrófitas que presenta el subistema Laguna del Potrero (Mazzeo et al., 2010), era de esperar que la comunidad de invertebrados de este subsistema fuera la más diversa, reflejándose en su diversidad trófica. Las macrófitas ofrecen refugio y soporte para los invertebrados (Meerhoff et al., 2007, 2012; Teixeira de Mello et al., 2009, 2016 a), y la complejidad del hábitat, proporcionada por la morfología de las mismas, está fuerte y positivamente relacionada al número de taxones y la densidad de invertebrados (ej.: Takeda et al., 2003, Thomaz et al., 2008, para ecosistemas acuáticos tropicales). A su vez, en plantas flotantes libres (como *Eichhornia crassipes*) se ha visto dominancia de invertebrados detritívoros, como oligoquetos, posiblemente debido a la gran cantidad de detrito que retienen las raíces de estas plantas (Marco et al., 2001). Sin embargo, las comunidades de invertebrados de los subsistemas Laguna del Potrero y Laguna del Sauce tuvieron una diversidad trófica similar, siendo marcadamente diferente la comunidad de invertebrados del subsistema Laguna de los Cisnes.

Una posible explicación de lo observado es que se hayan compensado dos efectos diferentes: si bien hay que considerar la marcada dominancia de macrófitas que presenta el subsistema Laguna del Potrero, no se debe olvidar el alto contenido de materia orgánica asociada a los sedimentos del sistema LS (Mazzeo et al., 2010), que podría posibilitar el desarrollo de una comunidad de invertebrados muy importante asociada al mismo. A su vez, según lo observado en este trabajo, las comunidades de invertebrados de LS y LP parecen estar integrando carbono proveniente del detrito (firmas más empobrecidas en C^{13}), como también del perifiton y fitoplancton (que presentaron señales más enriquecidas).

En los sistemas acuáticos, la descomposición es un proceso ecosistémico fundamental, que vuelve disponibles los nutrientes para los productores primarios, enriquece los sedimentos con materia orgánica e influencia la composición de especies y de toda la estructura trófica (Bellisario et al., 2012). En los lagos someros, en particular, gran parte de la materia orgánica que forma el detrito proviene de la descomposición de las macrófitas sumergidas (Song et al., 2013; Carvalho et al., 2015). Junto con microorganismos como

bacterias y hongos, los macroinvertebrados juegan un papel muy importante en el consumo y descomposición de las macrófitas (Carvalho et al., 2015), y esta comunidad parece ser tróficamente diversa tanto en el subsistema LP, dominado por la presencia de macrófitas, como en el subsistema LS, con escasa vegetación asociada y una gran extensión de sedimento con alto contenido de materia orgánica (Mazzeo et al., 2010).

De esta sección, se concluye que se observaron importantes diferencias espaciales en la estructura de la trama trófica en función del subsistema muestreado. La mayor diversidad de especies de peces e interacciones tróficas en el subsistema Laguna del Potrero podría estar relacionada a una mayor dominancia de la producción primaria bento-pelágica en el subsistema Laguna del Potrero y la utilización por parte de la comunidad de peces de fuentes de carbono autóctonas y alóctonas. En los otros dos subsistemas (LC y LS), es probable que la producción primaria pelágica autóctona no pueda ser aprovechada por los organismos por una combinación de diversos factores: (1) zooplancton pequeño que no logra ejercer presión sobre el fitoplancton (Mazzeo et al., 2010; Lacerot et al., 2013), (2) momentos asociados a eventos meteorológicos e hidrológicos extremos en que el subsistema Laguna del Sauce alcanza elevados valores de turbidez, que limitan la producción primaria (Crisci et al., 2017) y (3) especies fitoplanctónicas con el potencial de producir toxinas que pueden dañar a los organismos (Crisci et al. 2017; González-Madina et al., en prensa). Por estos motivos se plantea que las redes tróficas de los subsistemas LC y LS serían principalmente heterotróficas, con una fuerte dependencia de la materia orgánica alojada en los sedimentos del sistema.

Distribución espacial de la presencia de plaguicidas en peces y sedimentos de Laguna del Sauce

El subsistema Laguna del Potrero fue el que presentó una mayor diversidad de plaguicidas en sedimento, pero esto no fue significativamente diferente de los otros dos subsistemas. En ningún caso se pudo determinar la concentración de

plaguicidas dado que todos los resultados estuvieron por debajo del límite de cuantificación de la técnica analítica utilizada.

Al analizar los plaguicidas individualmente, Laguna del Potrero y Laguna del Sauce fueron significativamente diferentes en la presencia de Atrazina y Metalaxil en peces. La tercera predicción de la segunda hipótesis se cumplió para el plaguicida Atrazina, pero no para el Metalaxil, que fue encontrado mayormente en peces capturados en Laguna del Potrero. Por otro lado, a pesar de que la Atrazina fue hallada en sedimentos de los tres subsistemas, los peces de Laguna del Potrero fueron los que tuvieron menor presencia de este herbicida.

El patrón observado podría estar vinculado a la gran cantidad de macrófitas sumergidas que presenta el subsistema Laguna del Potrero. Por un lado, las macrófitas disminuyen la turbulencia del agua y el impacto del viento en el fondo del sistema acuático, reduciendo la resuspensión y favoreciendo la deposición de partículas orgánicas e inorgánicas (Jeppesen et al., 1998). Este proceso podría acelerar la llegada de Atrazina asociada a materia orgánica en suspensión, al sedimento, generando que esté menos disponible en la columna de agua para los organismos.

Por otro lado, se ha planteado que las macrófitas sumergidas podrían ser utilizadas para bioremediar sedimentos contaminados por Atrazina (Qu et al., 2017). El estudio indicado confirma que la Atrazina era rápidamente inmovilizada en los sedimentos de lagos, de hecho, éstos pueden absorber Atrazina hasta 6 veces más rápido que los suelos. Además, observaron que las especies de macrófitas sumergidas como *Potamogeton crispus* y *Myriophyllum spicatum* promovían la degradación de Atrazina, al disminuir el tiempo de disipación del compuesto respecto a sedimentos sin macrófitas. Es posible entonces que la comunidad de macrófitas del subsistema Laguna del Potrero pueda estar contribuyendo a disminuir la carga de Atrazina en sedimentos, reduciendo la exposición de los organismos que habitan este sistema al plaguicida.

Desde diciembre de 2016 la Atrazina está prohibida en Uruguay (Resoluciones MGAP) por lo que sería interesante evaluar los sedimentos del sistema Laguna

del Sauce a largo plazo, ya que dados estos antecedentes, sería esperable que en el sistema Laguna de Potrero la Atrazina se remueva más rápidamente que en los otros subsistemas. A su vez, sería necesario evaluar la presencia de productos de degradación de la Atrazina en las plantas, o realizar experimentos que evalúen las diferencias de eficiencia de distintas especies de plantas así como las comunidades bacterianas asociadas a las mismas.

Por otro lado, el Metalaxil, el segundo compuesto más frecuentemente presente en peces, fue detectado solamente en sedimentos del subsistema Laguna de los Cisnes, pero en peces de los tres subsistemas. El subsistema Laguna del Potrero fue el que tuvo mayor presencia de Metalaxil en peces. En el caso del Metalaxil, fue un compuesto asociado a peces de menor contenido lipídico y mayor posición trófica, pero no es posible diferenciar ambos efectos, dado que los piscívoros, los organismos con mayor posición trófica, fueron quienes tuvieron menor contenido graso en sus músculos.

Es posible que la alta solubilidad en agua del Metalaxil genere una exposición permanente en peces generando su acumulación, al menos en aquellos con bajo contenido lipídico en sus músculos. A su vez, se ha visto que este compuesto puede alcanzar altas concentraciones en aguas subterráneas (Hildebrandt et al., 2008) y concentraciones más elevadas en sedimentos que en agua (Bermúdez-Couso et al., 2007). Estos resultados evidencian la complejidad que existe en los ambientes naturales a la hora de entender la distribución de plaguicidas.

Los estudios de campo han mostrado que son diversos los factores que condicionan la distribución de plaguicidas en el espacio, y entre los más destacados serían el tipo de suelo de la cuenca y su heterogeneidad espacial, la ausencia o presencia de sistemas de drenaje y la topografía local, que influyen fuertemente la tendencia de que un área agrícola libere plaguicidas hacia aguas superficiales (Leu et al., 2004). Para el caso del Metalaxil, en particular, se ha visto que su distribución en agua se asocia a una mayor velocidad de drenaje de los campos, por ejemplo debido a la construcción de canales de drenaje artificiales (Bermúdez-Couso et al., 2013).

En este estudio no se cuenta con información sobre la cantidad ni identidad de plaguicidas que ingresan al sistema, información que sería importante generar, ya sea para futuros estudios de este tipo, o para modelar los mecanismos de transporte y distribución de los plaguicidas en los ecosistemas (Mackay, 2001). También es necesario tener en cuenta, no sólo las vías de ingreso de los plaguicidas, sino los sentidos de circulación de agua y sedimentos, así como la distribución de contenido de materia orgánica en los mismos.

Los peces como biomarcadores de exposición a plaguicidas

Se observó que ciertas especies (como por ejemplo, el sabalito *C. voga*) pueden ser utilizadas a la hora de monitorear plaguicidas en sistemas naturales. Una ventaja de esta aproximación es que permite detectar sustancias que llegan al sistema en bajas concentraciones, así como detectar múltiples contaminantes al mismo tiempo (van der Oost et al., 2003; Zhou et al., 2008). En cuanto a los peces, una desventaja que presentan es su gran movilidad, por lo que no siempre se los puede asociar a un sitio en particular. En este sentido, un organismo que resulta prometedor y deberá ser evaluado en futuras aproximaciones son los bivalvos. Dado que estos organismos tienen una forma de vida sésil, podrían reflejar más precisamente las condiciones locales. A su vez, su forma de alimentación por filtración de la columna de agua (y en algunos casos, por consumo directo de sedimento a través del pie) los expone a sustancias que puedan alojarse en ambos compartimentos. Estas características le confieren la potencialidad ser un buen candidato como biomarcador de exposición a plaguicidas, y de hecho, son utilizados en diversos programas de monitoreo ambiental a nivel mundial (WHO 1993; Zuykov et al., 2013).

Plaguicidas en el ambiente, dependencia del contexto

Finalmente, es importante destacar que las respuestas de las comunidades a los contaminantes y factores estresores son dependientes del contexto, influyendo tanto características a nivel de paisaje (el clima regional, la vegetación riparia, la geomorfología y la estructura de la red hídrica en la

cuenca), como también a nivel local (el contenido de materia orgánica, el nivel de erosión, la estructura y funcionamiento de la comunidad y las historias de vida de los organismos) (Clements et al., 2016).

Si bien esto se ha visto principalmente para comunidades de arroyos (y en particular comunidades bentónicas), destacarlo resulta oportuno, dado que la presencia de plaguicidas en los cuerpos de agua puede ser muy dinámica, siendo altamente dependiente de los usos del suelo de la cuenca, pero también del clima regional, como ser el régimen de precipitación (Clements et al., 2016) o los vientos que puedan resuspender el sedimento. A su vez, eventos de sequía podrían concentrar los contaminantes en el sistema (Mosley, 2015), exponiendo a los organismos a niveles de contaminantes más elevados y potencialmente riesgosos.

Por otro lado, a nivel local, la estructura comunitaria y sus interacciones tróficas van a condicionar su estabilidad ante una perturbación (May, 1972; McCann & Hastings, 1997). En particular, la modularidad¹ de las redes tróficas parece ser importante en promover la estabilidad de la red ante perturbaciones que son transportadas a través de las interacciones tróficas, como es el caso de los contaminantes persistentes. Además, se ha visto (al menos a nivel teórico) que las redes tróficas más diversas son más robustas, incluso cuando se consideran distintos grados de modularidad (Garay-Narváez et al., 2014).

En este escenario, es posible suponer que las características del subsistema Laguna del Potrero le conferirán una mayor estabilidad ante las perturbaciones. Las características de este subsistema en particular, son principalmente promovidas por la amplia dominancia de macrófitas, que condicionan un estado de aguas claras y una comunidad de peces más diversa y con mayor diversidad de interacciones tróficas.

Finalmente, se enfatiza la importancia de continuar con este tipo de estudios, así como la realización de experimentos que los complementen, de manera de

¹ Se habla de estructura modular o modularidad cuando la red presenta subunidades, dentro las cuales predominan interacciones fuertes y entre distintas subunidades o módulos predominan las interacciones débiles (Ebenman & Jonsson, 2005).

entender la compleja dinámica de los plaguicidas una vez que son liberados al ambiente.

Conclusiones

- Los resultados de esta tesis evidencian la presencia de plaguicidas en peces y sedimentos de Laguna del Sauce y la importancia de utilizar matrices alternativas al agua para la detección de plaguicidas en sistemas acuáticos.
- El sedimento resultó ser una matriz apropiada para evaluar la presencia de plaguicidas en el sistema estudiado. En particular en ecosistemas lénticos, el sedimento puede ser una matriz útil y de fácil acceso, y los peces resultarían una matriz complementaria interesante, dado que permiten evidenciar qué plaguicidas (de los que llegan al sistema) realmente ingresan a la red trófica, permitiendo además, evaluar biomagnificación.
- La variable más significativa a la hora de explicar la presencia de plaguicidas en peces fue el contenido lipídico. Si bien la forma de alimentación condicionaría la exposición de los organismos a plaguicidas que puedan acumularse en uno u otro compartimento ambiental, no fue una variable significativa a la hora de explicar la presencia de los mismos.
- Dado que todos los plaguicidas detectados en las muestras analizadas tuvieron valores por debajo del límite de cuantificación de la técnica analítica utilizada, no fue posible evaluar la biomagnificación de los mismos. De todos modos, no se observó ningún patrón que se asemeje a un proceso de biomagnificación de plaguicidas, pero aún así no es posible descartarla.
- Los resultados de este trabajo evidencian importantes diferencias espaciales en la estructura de la trama trófica en función del subsistema muestreado. El subsistema Laguna del Potrero, con un estado de agua clara y dominado por la presencia de macrófitas, fue el que tuvo la

comunidad de peces con mayor riqueza de especies, mayor amplitud en la utilización de las fuentes de carbono y mayor diversidad trófica.

- Se observaron diferencias espaciales en la distribución del plaguicida Atrazina en peces. Laguna del Potrero fue el subsistema que presentó menor presencia de Atrazina en peces, situación que podría estar relacionada a la gran abundancia de macrófitas sumergidas que este subsistema presenta.
- Se identificaron especies de peces que pueden ser utilizadas como biomarcadoras de exposición a plaguicidas en programas de biomonitoreo.
- Finalmente, se enfatiza la importancia de continuar realizando estudios de este tipo, dado que la dinámica de contaminantes en los sistemas acuáticos es altamente dependiente del contexto, influyendo tanto las características a nivel de paisaje, como a nivel local.

Perspectivas

- Incorporar nuevas matrices al análisis de plaguicidas como macrófitas y bivalvos.
- Evaluar la utilización de macrófitas como bioremediadores, estudiando la eficiencia de remoción de distintos plaguicidas que se acumulen en sedimento.
- Realizar experimentos de toxificación y detoxificación de plaguicidas en peces (por ejemplo, en escala de mesocosmos).

- Realizar monitoreos a largo plazo incorporando dos muestreos por año acoplados a la dinámica agrícola (primavera y fines de verano-otoño).
- Caracterizar la red trófica del sistema en otros momentos del año, buscando entender si su estructura se sostiene a lo largo del tiempo, o varía en función del fitoplancton dominante y la turbidez del sistema.
- Profundizar en el estudio de los procesos de biomagnificación asociados a la trama trófica clásica y la vía detritívora.

Esta Maestría contó durante su desarrollo con una beca de Maestría de 2 años de duración otorgada por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (POS_NAC_2013_1_11424) y una beca de finalización de posgrado de 9 meses de duración aportada por la Comisión Académica de Posgrado (CAP) de la Universidad de la República. Los fondos del proyecto provienen del grupo “Ecología, conservación y rehabilitación de sistemas acuáticos continentales” apoyado por la CSIC y parte de la compra de las redes de pesca fue financiada por OSE-UGD Maldonado.

Parte de los resultados de esta Tesis fueron presentados en el XVI Congreso Brasileiro de Limnología (2017). También se difundieron algunos de los resultados de esta tesis durante una sesión del Comité de Cuenca de Laguna del Sauce (2016) y en el taller académico “Perspectivas de la investigación nacional hacia una gestión ambientalmente adecuada de plaguicidas” (2016) organizado por MSP, MGAP, MVOTMA, FAO y GEF.

Referencias bibliográficas

1. Alonso B., Ernst F., Pereira A., Cesio V., Pérez-Parada A. & Heinzen H. (2016). Desarrollo de una metodología analítica y su aplicación en el monitoreo de residuos de pesticidas en peces en las cuencas de los ríos Negro y Uruguay. 25a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ.
2. Anastassiades M. & Lehotay S. J. (2003). Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *Journal of AOAC International*, (86)2, 412-431.
3. Andreu V. & Picó Y. (2012). Determination of currently used pesticides in biota. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404(9), 2659-2681.
4. Anuario estadístico agropecuario de la Dirección de estadística agropecuaria (DIEA). (2012). Publicaciones del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP). 244p.
5. Araújo, C. V., Silva, D. C., Gomes, L. E., Acayaba, R. D., Montagner, C. C., Moreira-Santos, M., Ribeiro R. & Pompêo, M. L. (2018). Habitat fragmentation caused by contaminants: Atrazine as a chemical barrier isolating fish populations. *Chemosphere*, 193, 24-31.
6. Arrington, D. A., Davidson, B. K., Winemiller, K. O., & Layman, C. A. (2006). Influence of life history and seasonal hydrology on lipid storage in three neotropical fish species. *Journal of Fish Biology*, 68(5), 1347-1361.
7. Atlas de Cobertura del Suelo del Uruguay, FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). (2015). Proyecto Fortalecimiento del conocimiento y la generación de Instrumentos de Ordenamiento Territorial, Componente Cobertura del Suelo. Proyecto TCP/URU/3401. 54p.
8. BAYER crop science (<http://cropscience.bayer.com.uy/>), consultada el 25/05/16.
9. Bellisario, B., Cerfolli, F., & Nascetti, G. (2012). The interplay between network structure and functioning of detritus-based communities in patchy aquatic environment. *Aquatic ecology*, 46(4), 431-441.

10. Bermúdez-Couso, A., Fernández-Calviño, D., Álvarez-Enjo, M. A., Simal-Gándara, J., Nóvoa-Muñoz, J. C., & Arias-Estévez, M. (2013). Pollution of surface waters by metalaxyl and nitrate from non-point sources. *Science of the Total Environment*, 461, 282-289.
11. Bermúdez-Couso, A., Arias-Estévez, M., Nóvoa-Muñoz, J. C., López-Periago, E., Soto-González, B., & Simal-Gándara, J. (2007). Seasonal distributions of fungicides in soils and sediments of a small river basin partially devoted to vineyards. *Water research*, 41(19), 4515-4525.
12. Björk-Ramberg, S., & Ånell, C. (1985). Production and chlorophyll concentration of epipelagic and epilithic algae in fertilized and nonfertilized subarctic lakes. *Hydrobiologia*, 126(3), 213-219.
13. Borga K., Gabrielsen G.W. & Skaare J.U. (2001). Biomagnification of organochlorines along a Barents sea food chain. *Environmental Pollution*, 113(2), 187-198.
14. Borga K., Hop H., Skaare J.U., Wolkers H. & Gabrielsen G.W. (2007). Selective bioaccumulation of chlorinated pesticides and metabolites in Arctic seabirds. *Environmental Pollution*, 145(2), 545-553.
15. Brady N.C. & Weil R.R. (1996). Soils and chemical pollution. En: *The Nature and properties of soils*. Prentiss Hall International.
16. Brinkhurst R.O. & Marchese M.R. (1989). *Guide to freshwater Aquatic Oligochaeta of South and Central America*. 180 p.
17. Brodeur, J. C., Sanchez, M., Castro, L., Rojas, D. E., Cristos, D., Damonte, M. J., Poliserpi, M. B., D'Andrea, M. F. & Andriulo, A. E. (2017). Accumulation of current-use pesticides, cholinesterase inhibition and reduced body condition in juvenile one-sided livebearer fish (*Jenynsia multidentata*) from the agricultural Pampa region of Argentina. *Chemosphere*, 185, 36-46.
18. Bruggeman W.A., Opperhuizen A., Wijkenga A. & Hutzinger O. (1984). Bioaccumulation of super-lipophilic chemicals in fish. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 7(3), 173-189.
19. Bunn S. E., Leigh C. & Jardine, T. D. (2013). Diet-tissue fractionation of $\delta^{15}\text{N}$ by consumers from streams and rivers. *Limnology and Oceanography*, 58(3), 765-773.

20. Burger, M., & Pose Román, D. (2012). Plaguicidas salud y ambiente: experiencia en Uruguay. UdelaR.
21. Burnham, K. P., Anderson, D. R., & Huyvaert, K. P. (2011). AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: some background, observations, and comparisons. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 65(1), 23-35.
22. Caut S., Angulo E. & Courchamp F. (2009). Variation in discrimination factors ($\Delta^{15}N$ and $\Delta^{13}C$): The effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *Journal of Applied Ecology*, 46(2), 443-453.
23. Carrasco-Letelier L., Eguren G., Teixeira de Mello F. & Phill P. (2006). Preliminary field study of hepatic porphyrin profiles of *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characiformes) to define anthropogenic pollution. *Chemosphere*, 62(8), 1245-1252.
24. Carson R. (1962). *Silent Spring*. Houghton Mifflin, Boston, MA.
25. Carpenter, S. R., Cole, J. J., Pace, M. L., Van de Bogert, M., Bade, D. L., Bastviken, D., Gille C. M., Hodgson J. R., Kitchell J F. & Kritzberg, E. S. (2005). Ecosystem subsidies: terrestrial support of aquatic food webs from ^{13}C addition to contrasting lakes. *Ecology*, 86(10), 2737-2750.
26. Carvalho, C., Hepp, L.U., Palma-Silva, C., & Albertoni, E.F. (2015). Decomposition of macrophytes in a shallow subtropical lake. *Limnological-Ecology and Management of Inland Waters*, 53, 1-9.
27. Ccanccapa A., Masiá A., Andreu V., & Picó Y. (2016). Spatio-temporal patterns of pesticide residues in the Turia and Júcar Rivers (Spain). *Science of the Total Environment*, 540, 200-210.
28. Chapman D. (1996). *Water Quality Assessments: A guide to the use of biota, sediments and water in environmental monitoring*. Chapman & Hall, Cambridge.
29. Clements W. H. & Newman M.C. (2003). *Community ecotoxicology*. John Wiley & Sons Ltd. 334p.
30. Clements, W. H., Kashian, D. R., Kiffney, P. M., & Zuellig, R. E. (2016). Perspectives on the context-dependency of stream community responses to contaminants. *Freshwater Biology*, 61(12), 2162-2170.

31. Coat S., Monti D., Legendre P., Bouchon C., Massat F. & Lepoint G. (2011). Organochlorine pollution in tropical rivers (Guadeloupe): Role of ecological factors in food web bioaccumulation. *Environmental Pollution*, 159(6), 1692-1701.
32. Connell D.W. (1988). Bioaccumulation behavior of persistent organic chemicals with aquatic organisms. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 102, 117-154.
33. Covaci A., Gheorghe A., Hulea O. & Schepens P. (2006). Levels and distribution of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in sediments and biota from the Danube Delta, Romania. *Environmental Pollution*, 140(1), 136-149.
34. Crisci C., Terra R., Pacheco J. P., Ghattas B., Bidegain M., Goyenola G., Lagomarsino J.J., Méndez G. & Mazzeo, N. (2017). Multi-model approach to predict phytoplankton biomass and composition dynamics in a eutrophic shallow lake governed by extreme meteorological events. *Ecological Modelling*, 360, 80-93.
35. da Rosa, L. M., de Souza Cardoso, L., Crossetti, L. O., & da Motta-Marques, D. (2017). Spatial and temporal variability of zooplankton–phytoplankton interactions in a large subtropical shallow lake dominated by non-toxic cyanobacteria. *Marine and Freshwater Research*, 68(2), 226-243.
36. Dellarossa, V., Céspedes, J. & Zaror, C. (2001). Eichhornia crassipes-based tertiary treatment of Kraft pulp mill effluents in Chilean Central region. *Hydrobiologia*, 443: 187-191.
37. de Vlaming, V. L., Kuris, A., & Parker JR, F. R. (1978). Seasonal variation of reproduction and lipid reserves in some subtropical cyprinodontids. *Transactions of the American Fisheries Society*, 107(3), 464-472.
38. Dhir, B., Sharmila, P., & Saradhi, P. P. (2009). Potential of aquatic macrophytes for removing contaminants from the environment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39(9), 754-781.
39. Domínguez E. & Fernández H.R. (2009). Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. *Sistemática y biología*. 1a ed. Tucumán: Fundación Miguel Lillo. 656 p.

40. Ebenman, B., & Jonsson, T. (2005). Using community viability analysis to identify fragile systems and keystone species. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(10), 568-575.
41. El Nemr A. & El-Sadaawy M. M. (2016). Polychlorinated biphenyl and organochlorine pesticide residues in surface sediments from the Mediterranean Sea (Egypt). *International Journal of Sediment Research*, 31(1), 44-52.
42. Ernst, F., Alonso, B., Colazzo, M., Pareja, L., Cesio, V., Pereira, A., Márquez, A., Errico, E., Segura, A. M., Heinzen, H. & Pérez-Parada, A. (2018). Occurrence of pesticide residues in fish from South American rainfed agroecosystems. *Science of the total environment*, 631, 169-179.
43. Esteves K.E. & Galetti J.P.M. (1995). Food partitioning among some characids of a small Brazilian floodplain lake from the Parana River basin. *Environmental Biology of Fishes*, 42(4), 375-389.
44. Fan, S., Wang, B., Liu, H., Gao, S., Li, T., Wang, S., Liu, Y., Liu X. & Wan, Y. (2017). Trophodynamics of Organic Pollutants in pelagic and benthic food webs of Lake Dianchi: importance of ingested sediment as uptake route. *Environmental science & technology*, 51(24), 14135-14143.
45. Fernandez-Alba A., Guil H., Díaz G. & Chisti Y. (2001). Toxicity of pesticides in wastewater: a comparative assessment of rapid bioassays. *Analytica Chimica Acta*, 426(2), 289-301.
46. Fernandez-Alba A., Guil H., Piedra L. & Chisti Y. (2002). Toxicity evaluation of single and mixed antifouling biocides measured with acute toxicity bioassays. *Analytica Chimica Acta*, 456(2), 303-312.
47. Food Code. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. 2013.
48. France, R. (1995 a). Critical examination of stable isotope analysis as a means for tracing carbon pathways in stream ecosystems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52(3), 651-656.
49. France, R. L. (1995 b). Differentiation between littoral and pelagic food webs in lakes using stable carbon isotopes. *Limnology and Oceanography*, 40(7), 1310-1313.

50. Franke C., Studinger G., Berger G., Böhling S., Bruckmann U., Cohors Fresenborg D. & Jöhncke, U. (1994). The assessment of bioaccumulation. *Chemosphere*, 29(7), 1501-1514.
51. Franke C. (1996). How meaningful is the bioconcentration factor for risk assessment? *Chemosphere*, 32(10), 1897-1905.
52. Fry B. (2006). *Stable Isotope Ecology* (Vol. 521). New York, USA. Springer. 308 p.
53. Garay-Narváez, L., Flores, J. D., Arim, M., & Ramos-Jiliberto, R. (2014). Food web modularity and biodiversity promote species persistence in polluted environments. *Oikos*, 123(5), 583-588.
54. Gobas F. A. (1993). A model for predicting the bioaccumulation of hydrophobic organic chemicals in aquatic food-webs: application to Lake Ontario. *Ecological Modelling*, 69(1-2), 1-17.
55. González-Madina, L., Pacheco, J. P., Mazzeo, N., Levrini, P., Clemente, J. M., Lagomarsino, J. J., & Fosalba, C. (2017). Factores ambientales controladores del fitoplancton con énfasis en las cianobacterias potencialmente tóxicas en un lago somero utilizado como fuente de agua para potabilización Laguna del Sauce, Maldonado, Uruguay. ISSN 1688-6593. *Innotec*, (13): 26-35.
56. González-Madina L., Pacheco J.P., Yema L., de Tezanos P., Levrini P., Clemente J., Crisci C., Lagomarsino J.J., Méndez G., Fosalba C., Goyenola G. & Mazzeo N. En prensa. Drivers of cyanobacteria dominance, composition and nitrogen fixing behavior in a shallow lake with alternative regimes in time and space. *Hydrobiologia*.
57. Guía SATA Uruguay (<http://www.laguiasata.com/>), consultada el 25/05/16.
58. Halmelink J. & Spacie A. (1977). Fish and chemicals: The process of accumulation. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 17(1), 167-177.
59. Hammer, Ø., Harper, D.A.T. & Ryan, P.D. (2008). PAST-palaeontological statistics, ver. 1.89. Paleontological Museum, University of Oslo, Noruega. (<http://folk.uio.no/ohammer/past/index.html>).

60. Hansson, L. A. (1988). Effects of competitive interactions on the biomass development of planktonic and periphytic algae in lakes. *Limnology and Oceanography*, 33(1), 121-128.
61. Henriksson E. (1951). Nitrogen Fixation by a Bacteria-free, Symbiotic Nostoc Strain Isolated from Collema. *Physiologia Plantarum*, 4(3), 542-545.
62. Hildebrandt, A., Guillaumon, M., Lacorte, S., Tauler, R., & Barceló, D. (2008). Impact of pesticides used in agriculture and vineyards to surface and groundwater quality (North Spain). *Water research*, 42(13), 3315-3326.
63. Hobson K.A., Fisk A., Karnovsky N., Holst M., Gagnon J.M. & Fortier M. (2002). A stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) model for the North Water food web: implications for evaluating trophodynamics and the flow of energy and contaminants. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 49(22), 5131-5150.
64. Holt R. D. (2002). Food webs in space: on the interplay of dynamic instability and spatial processes. *Ecological Research*, 17(2), 261-273.
65. Hutchinson, G. E. (1957). Concluding Remarks. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. 22: 415-42
66. Hyslop E. J. (1980). Stomach contents analysis - a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology*, 17(4), 411-429.
67. Iglesias, C., Jeppesen, E., Mazzeo, N., Pacheco, J. P., Teixeira de Mello, F., Landkildehus, F., Fosalba, C., Clemente J.M. & Meerhoff, M. (2017 a). Fish but Not Macroinvertebrates Promote Trophic Cascading Effects in High Density Submersed Plant Experimental Lake Food Webs in Two Contrasting Climate Regions. *Water*, 9(7), 514-531.
68. Iglesias, C., Meerhoff, M., Johansson, L. S., González-Bergonzoni, I., Mazzeo, N., Pacheco, J. P., Teixeira de Mello, F., Goyenola G., Lauridsen, T.L., Sondergaard, M., Davidson, T. A. & Jeppesen E. (2017 b). Stable isotope analysis confirms substantial differences between subtropical and temperate shallow lake food webs. *Hydrobiologia*, 784(1), 111-123.
69. Jackson A.L., Inger R., Parnell A.C. & Bearhop S. (2011). Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER—Stable

- Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology*, 80(3), 595-602.
70. Jardine T.D., Hadwen W.L., Hamilton S.K., Hladyz S., Mitrovic S.M., Kidd K.A., Tsoi W.Y., Spears M., Westhorpe D.P., Fry V.M., Sheldon F. & Bunn S.E. (2014). Understanding and overcoming baseline isotopic variability in running waters. *River Research and Applications*, 30(2), 155-165.
71. Jeppesen E., Ma. Søndergaard, Mo. Søndergaard and K. Christoffersen (eds). (1997). *The Structuring Role of Submerged Macrophytes in Lakes*, Ecological Studies Vol. 131. DOI: 10.1007/978-1-4612-0695-8
72. Jeppesen E., T. L. Lauridsen, T. Kairesalo & M. Perrow. (1997). Impact of submerged macrophytes on fish-zooplankton relationships in lakes. En: Jeppesen, E., Ma. Søndergaard, Mo. Søndergaard & K. Christoffersen (eds), *The Structuring Role of Submerged Macrophytes in Lakes*. Ecological Studies, Vol. 131. Springer-Verlag, New York, 91-115.
73. Johnson, J. B., & Omland, K. S. (2004). Model selection in ecology and evolution. *Trends in ecology & evolution*, 19(2), 101-108.
74. Junges C. M., Peltzer P. M., Lajmanovich R. C., Attademo A. M., Zenklusen M. C. & Basso A. (2012). Toxicity of the fungicide trifloxystrobin on tadpoles and its effect on fish–tadpole interaction. *Chemosphere*, 87(11), 1348-1354.
75. Karr J.R. (1981). Assessment of biotic integrity using fish communities. *Fisheries*, 6(6), 21-27.
76. Kidd K.A., Schindler D.W., Hesslein R.H. & Muir D.C.G. (1998). Effects of trophic position and lipid on organochlorine concentrations in fishes from subarctic lakes in Yukon Territory. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 55(4), 869-881.
77. Kiffney, P. M., & Clements, W. H. (1993). Bioaccumulation of heavy metals by benthic invertebrates at the Arkansas River, Colorado. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12(8), 1507-1517.
78. Kiriluk R.M., Servos M.R., Whittle D.M., Cabana G. & Rasmussen J.B. (1995). Using ratios of stable nitrogen and carbon isotopes to characterize the biomagnification of DDE, mirex, and PCB in a Lake

- Ontario pelagic food web. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52(12), 2660-2674.
79. Kodric-Brown A. & Brown J. H. (1993). Highly structured fish communities in Australian desert springs. *Ecology*, 74(6), 1847-1855.
 80. Kruk, C., Rodríguez-Gallego, L., Meerhoff, M., Quintans, F., Lacerot, G., Mazzeo, N., Scasso, F., Paggi, J.C. Peeters, E.T.H.M. & Scheffer, M. (2009). Determinants of biodiversity in subtropical shallow lakes (Atlantic coast, Uruguay). *Freshwater Biology*, 54(12), 2628-2641.
 81. Lacerot, G., Kruk, C., Lüring, M., & Scheffer, M. (2013). The role of subtropical zooplankton as grazers of phytoplankton under different predation levels. *Freshwater Biology*, 58(3), 494-503.
 82. Layman C.A., Arrington D.A., Montaña C.G. & Post D.M. (2007). Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? *Ecology*, 88(1), 42-48.
 83. Layman, C. A., Araujo, M. S., Boucek, R., Harrison, E., Jud, Z.R., Matich, P., Hammerschlag-Peyer, C.M., Rosenblatt, A.E., Vaudo, J.J., Yeager, L.A., Post, D., Bearhop, S. (2012). Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biological Reviews*, 87(3), 545-562.
 84. Lebedev A.T, Poliakova O.V., Karakhanova N.K., Petrosyan V.S. & Renzoni A. (1998). The contamination of birds with pollutants in the Lake Baikal region. *Science of the Total Environment*, 212(2), 153-162.
 85. LeBlanc G. A. (1995). Trophic-level differences in the bioconcentration of chemicals: implications in assessing environmental biomagnification. *Environmental science & technology*, 29(1), 154-160.
 86. Leu, C., Singer, H., Stamm, C., Müller, S. R., & Schwarzenbach, R. P. (2004). Variability of herbicide losses from 13 fields to surface water within a small catchment after a controlled herbicide application. *Environmental science & technology*, 38(14), 3835-3841.
 87. Levirini P. (2018). Análisis espacio-temporal de las propiedades físico-químicas en la red de tributarios de la cuenca de Laguna del Sauce (Maldonado) y su relación con controles naturales y de origen antrópico. Tesina final de la Licenciatura en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias-UdelaR. Montevideo, Uruguay, 59 p.

88. Lewis, G.N. (1901). The law of physico-chemical change. En: Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences (Vol. 37, No. 3, pp. 49-69). American Academy of Arts & Sciences.
89. Lewis K.A., Tzilivakis J., Warner D. & Green A. (2016). An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 22(4), 1050-1064.
90. Li, Y., Zhu, G., Ng, W. J., & Tan, S. K. (2014). A review on removing pharmaceutical contaminants from wastewater by constructed wetlands: design, performance and mechanism. *Science of the Total Environment*, 468, 908-932.
91. Liboriussen L. & Jeppesen E. (2003). Temporal dynamics in epipelagic, pelagic and epiphytic algal production in a clear and a turbid shallow lake. *Freshwater Biology*, 48(3), 418-431.
92. Mackay, D. (1979). Finding fugacity feasible. *Environmental Science & Technology*, 13(10), 1218-1223.
93. Mackay D. (1982). Correlation of bioconcentration factors. *Environmental Science & Technology*, 16(5), 274-278.
94. Mackay D. (2001). Multimedia environmental models: the fugacity approach. CRC press.
95. Mackay D. & Fraser A. (2000). Bioaccumulation of persistent organic chemicals: mechanisms and models. *Environmental Pollution*, 110(3), 375-391.
96. Marco, P., Reis Araújo, M. A., Barcelos, M. K., & Santos, M. B. L. (2001). Aquatic invertebrates associated with the water-hyacinth (*Eichhornia crassipes*) in an eutrophic reservoir in tropical Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 36(1), 73-80.
97. Marsh, G. A., & Fairbridge, R. W. (1999). Lentic and lotic ecosystems. En: *Environmental Geology* (pp. 381-388). Springer Netherlands.
98. Mattsson, K., Johnson, E. V., Malmendal, A., Linse, S., Hansson, L. A., & Cedervall, T. (2017). Brain damage and behavioural disorders in fish induced by plastic nanoparticles delivered through the food chain. *Scientific Reports*, 7(1), 11452.

99. Mattsson, K., Jovic, S., Doverbratt, I., & Hansson, L. A. (2018). Nanoplastics in the aquatic environment. In: *Microplastic Contamination in Aquatic Environments* (pp. 379-399).
100. May, R. M. (1972). Will a large complex system be stable? *Nature*, 238(5364), 413-414.
101. Mazzeo N., Dardano B. & Marticorena C. (1998). Interclonal variation in responses to simazine stress in *Lemna gibba* (Lemnaceae). *Ecotoxicology*, 7(3), 151-160.
102. Mazzeo N., García-Rodríguez F., Rodríguez A., Méndez G., Iglesias C., Inda H., Goyenola G., García S., Fosalba C., Marroni S., Crisci C., del Puerto L., Clemente J., Pacheco J.P., Carballo C., Kröger A., Vianna M., Meerhoff M., Steffen M., Lagomarsino J.J., Masdeu M., Vidal N., Teixeira de Mello F., González-Bergonzoni I. & Larrea D. (2010). Estado trófico de Laguna del Sauce y respuestas asociadas. En: *Bases técnicas para el manejo integrado de Laguna del Sauce y cuenca asociada*. Steffen M. & Inda H. (Eds), 31-51.
103. Mazzeo, N., Rodríguez-Gallego, L., Kruk, C., Meerhoff, M., Gorga, J., Lacerot, G., Quintans, F., Loureiro, M., Larrea, D., & García-Rodríguez, F. (2003). Effects of *Egeria densa* Planch. beds on a shallow lake without piscivorous fish. *Hydrobiologia*, 506(1), 591-602.
104. McCann, K., & Hastings, A. (1997). Re-evaluating the omnivory–stability relationship in food webs. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 264(1385), 1249-1254.
105. McMurry S. T., Belden J. B., Smith L. M., Morrison S. A., Daniel D. W., Euliss B. R., Euliss Jr. N. H, Kensinger B. J. & Tangen B. A. (2016). Land use effects on pesticides in sediments of prairie pothole wetlands in North and South Dakota. *Science of the Total Environment*, 565, 682-689.
106. Meerhoff M., Clemente J. M., Teixeira de Mello F., Iglesias C., Pedersen A.R., & Jeppesen E. (2007). Can warm climate-related structure of littoral predator assemblies weaken the clear water state in shallow lakes? *Global Change Biology*, 13(9), 1888-1897.
107. Meerhoff, M., Teixeira-de Mello, F., Kruk, C., Alonso, C., Gonzalez-Bergonzoni, I., Pacheco, J. P., Lacerot, G., Arim, M., Beklioglu M., Brucet S., Goyenola, G., Iglesias, C., Mazzeo, N., Kosten, S. &

- Jeppesen, E. (2012). Environmental warming in shallow lakes: a review of potential changes in community structure as evidenced from space-for-time substitution approaches. En: *Advances in ecological research* (Vol. 46, pp. 259-349). Academic Press.
108. Merritt R.W. & Cummins K.W. editores. (1996). *An introduction to the aquatic insects of North America*. Dubuque, IA: Kendall/ Hunt Publishing Company.
 109. Moriarty F. & Walker C.H. (1987). Bioaccumulation in food chains - a rational approach. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 13(2), 208-215.
 110. Morrison H. A., Gobas F. A., Lazar R., Whittle D. M., & Haffner G. D. (1997). Development and verification of a benthic/pelagic food web bioaccumulation model for PCB congeners in western Lake Erie. *Environmental science & technology*, 31(11), 3267-3273.
 111. Mosley, L. M. (2015). Drought impacts on the water quality of freshwater systems; review and integration. *Earth-Science Reviews*, 140, 203-214.
 112. Mugnai, R., Nessimian, J. L., & Baptista, D. F. (2010). *Manual de identificação de macroinvertebrados aquáticos do Estado do Rio de Janeiro: para atividades técnicas, de ensino e treinamento em programas de avaliação da qualidade ecológica dos ecossistemas lóticos*. Technical Books Editora.
 113. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, ed. (1986). «DEFINICIONES PARA LOS FINES DEL CODEX ALIMENTARIUS». Consultado el 22 de marzo de 2016.
 114. OSE-Instituto SARAS². 2018. Aportes al Plan Director de Agua y Saneamiento de OSE para el Departamento de Maldonado, Uruguay. Reporte Técnico en el marco del Convenio de Cooperación OSE-SARAS², Maldonado. 43 p.
 115. Oyhancabal, G. y Narbondo, I., 2009. *Radiografía del agronegocio sojero*. Montevideo: REDES-AT. Uruguay. ISBN: 978-9974-7885-8-9.
 116. Parnell A., Inger R. & Bearhop S. (2010). Source Partitioning Using Stable Isotopes: Coping with Too Much Variation. *PLoS ONE*, 5(3), e9672.

117. Parnell A. & Jackson A. (2013). Stable Isotope Analysis in R. R package version 4.2. <http://CRAN.R-project.org/package=siar>.
118. Parnell A., Phillips D.L., Bearhop S., Semmens B.X., Ward E.J., Moore J.W., Jackson A.L., Grey J., Kelly D.J. & Inger R. (2013). Bayesian stable isotope mixing models. *Environmetrics*, 24(6), 387-399.
119. Pérez Güida V. & Teixeira de Mello F. (2010). Estrategias para la evaluación del riesgo potencial de plaguicidas y sus efectos. En: Bases técnicas para el manejo integrado de Laguna del Sauce y cuenca asociada. Steffen M. & Inda H. (Eds), 95-105.
120. Pérez-Parada A., Colazzo M., Besil N., Dellacassa E., Cesio V., Heinzen H. & Fernández-Alba A. R. (2011). Pesticide residues in natural products with pharmaceutical use: occurrence, analytical advances and perspectives. En: *Pesticides in the Modern World-Trends in Pesticides Analysis*. InTech.
121. Phillips, D. L., Inger, R., Bearhop, S., Jackson, A. L., Moore, J. W., Parnell, A. C., Semmens B.X. & Ward, E. J. (2014). Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. *Canadian Journal of Zoology*, 92(10), 823-835.
122. Pimm S. L. & Lawton J. H. (1977). The number of trophic levels in ecological communities. *Nature*, 268: 329-331.
123. Pistone G. (2005). Evaluación de los efectos de la exposición a pesticidas organofosforados y carbamatos mediante el uso de biomarcadores en peces. Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, UdelaR.
124. Post D.M. (2002). Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods and assumptions. *Ecology* 83(3), 703-718.
125. Power M. (1992). Top-down and bottom-up forces in food webs: do plants have primacy? *Ecology*, 73, 733-746.
126. Qu, M., Li, H., Li, N., Liu, G., Zhao, J., Hua, Y., & Zhu, D. (2017). Distribution of atrazine and its phytoremediation by submerged macrophytes in lake sediments. *Chemosphere*, 168, 1515-1522.
127. R Core Team. 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <http://www.R-project.org/>.

128. Rahman, M. A., & Hasegawa, H. (2011). Aquatic arsenic: phytoremediation using floating macrophytes. *Chemosphere*, 83(5), 633-646.
129. Rasmussen J.B., Rowan D.J., Lean D.R.S. & Carey J.H. (1990). Food Chain Structure in Ontario Lakes Determines PCB Levels in Lake Trout (*Salvelinus namaycush*) and Other Pelagic Fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47(10), 2030-2038.
130. Reddy, K. R., & De Busk, W. F. (1985). Nutrient removal potential of selected aquatic macrophytes. *Journal of Environmental Quality*, 14(4), 459-462.
131. Resoluciones MGAP. Prohibición Atrazina. 2016. http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/prohibicion_atrazina_ndeg_104.pdf
132. Rodríguez A., Méndez G., Kausas S., Clemente J., Kröger A. & Mazzeo N. (2010). Importancia de la carga externa e interna de nutrientes en el estado trófico de Laguna del Sauce. En: Bases técnicas para el manejo integrado de Laguna del Sauce y cuenca asociada. Steffen M. & Inda H. (eds). Editorial Montevideo, pp. 53-61.
133. Russell R. W., Gobas F. A. & Haffner G. D. (1999). Role of chemical and ecological factors in trophic transfer of organic chemicals in aquatic food webs. *Environmental toxicology and chemistry*, 18(6), 1250-1257.
134. Sarikaya R., Selvi M. & Erkoc F. (2004). Investigation of acute toxicity of fenitrothion on peppered corydoras (*Corydoras paleatus*) (Jenyns, 1842). *Chemosphere*, 56(7), 697-700.
135. SANTE (2015). Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. SANTE/11945/2015 Supersedes SANCO/12571/2013.
136. Scheffer M., Hosper S.H., Meijer M.L., Moss B. & Jeppesen E. (1993) Alternative equilibria in shallow lakes. *Trends in Ecology and Evolution*, 8, 275-279.
137. Scheffer, M., & Carpenter, S. R. (2003). Catastrophic regime shifts in ecosystems: linking theory to observation. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(12), 648-656.

138. Schmidt, T. S., Clements, W. H., Wanty, R. B., Verplanck, P. L., Church, S. E., San Juan, C. A., Fey, D.L., Rockwell, B.W., DeWitt, E.H. & Klein, T. L. (2012). Geologic processes influence the effects of mining on aquatic ecosystems. *Ecological Applications*, 22(3), 870-879.
139. Schulz R. (2004). Field studies on exposure, effects, and risk mitigation of aquatic nonpoint-source insecticide pollution: a review. *Journal of Environmental Quality*, 33(2), 419-448.
140. Schwarzenbach, R. P., Escher, B. I., Fenner, K., Hofstetter, T. B., Johnson, C. A., Von Gunten, U., & Wehrli, B. (2006). The challenge of micropollutants in aquatic systems. *Science*, 313(5790), 1072-1077.
141. Sherwood, G. D., Kovecses, J., Hontela, A., & Rasmussen, J. B. (2002). Simplified food webs lead to energetic bottlenecks in polluted lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59(1), 1-5.
142. Soddy, F. (1913). Intra-atomic charge. *Nature*, 92(2301), 399.
143. Solomon K. R., Carr J. A., Du Preez L. H., Giesy J. P., Kendall R. J., Smith E. E. & Van Der Kraak G. J. (2008). Effects of atrazine on fish, amphibians, and aquatic reptiles: a critical review. *Critical reviews in toxicology*, 38(9), 721-772.
144. Song, N., Yan, Z. S., Cai, H. Y., & Jiang, H. L. (2013). Effect of temperature on submerged macrophyte litter decomposition within sediments from a large shallow and subtropical freshwater lake. *Hydrobiologia*, 714(1), 131-144.
145. Stefen M. & Inda H. (2010). Bases técnicas para el manejo integrado de Laguna del Sauce y cuenca asociada. Universidad de la República y South American Institute for Resilience and Sustainability Studies. 150 p.
146. Takeda, A. M., Souza-Franco, G. M., Melo, S. M., & Monkolski, A. (2003). Invertebrados associados às macrófitas aquáticas da planície de inundação do alto rio Paraná (Brasil). *Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas*. Maringá: Eduem, 243-260.
147. Tanabe S. & Tatsukawa R. (1992). Chemical modernisation and vulnerability of cetaceans: increasing threat of organochlorine contaminants. En: Walker C.H. & Livingstone D.R. (Eds.), *Persistent Pollutants in Marine Ecosystems*, 161-180.

148. Tankiewicz, M., Fenik, J., & Biziuk, M. (2010). Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(9), 1050-1063.
149. Taveira G., Bianchi P., Fuentes M., Díaz I. & Inda H. (2018) ¿Cuáles son los principales usos del suelo actuales y tendenciales en la cuenca de Laguna del Sauce? En: Bianchi P., Taveira G., Inda H. & Steffen M. (eds). *Aportes para la rehabilitación de la Laguna del Sauce y el Ordenamiento Territorial de su cuenca*. Instituto SARAS², Bella Vista, Maldonado.
150. Teixeira de Mello, F; González-Bergonzoni, I. & Loureiro, M. 2011. *Peces de agua dulce del Uruguay*. PPR-MGAP. 188 pp.
151. Teixeira de Mello F., Meerhoff, M., Pekcan-Hekim, Z. & Jeppesen, E. (2009). Substantial differences in littoral fish community structure and dynamics in subtropical and temperate shallow lakes. *Freshwater Biology*, 54(6), 1202-1215.
152. Teixeira de Mello F., Pérez-Parada A. & Soutullo A. (2016 b). Diagnóstico nacional de la exposición de organismos y sistemas acuáticos a plaguicidas. Presentación en taller académico: “Perspectivas de la investigación nacional hacia una gestión ambientalmente adecuada de plaguicidas”, MSP, MGAP, MVOTMA, FAO y GEF. Montevideo, Uruguay.
153. Teixeira de Mello F. & Stábile F. (2016) “Residuos de plaguicidas en peces en la cuenca del Río Cuareim: hacia el diseño de programas de monitoreo de la calidad del agua”. Capítulo 9 en: “Estudio de ecosistemas acuáticos y asociados de la cuenca del Río Cuareim/Quarai (Uruguay-Brasil)”. Coordinador: Marcelo Loureiro. Comité Intergubernamental Coordinador de los Países de la Cuenca del Plata (CIC) y Departamento de Desarrollo Sostenible (DDS) de la Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos (SG/OEA). Ejecutado a través del Convenio OEA-Facultad de Ciencias (UDELAR). Subcomponente II.7.3: Proyecto Piloto Demostrativo Cuareim/Quarai. 300 p.
154. Thomann R. V. (1989). Bioaccumulation model of organic chemical distribution in aquatic food chains. *Environmental science & technology*, 23(6), 699-707.

155. Thomaz, S. M., Dibble, E. D., Evangelista, L. R., Higuti, J., & Bini, L. M. (2008). Influence of aquatic macrophyte habitat complexity on invertebrate abundance and richness in tropical lagoons. *Freshwater biology*, 53(2), 358-367.
156. Vadeboncoeur, Y., & Lodge, D. M. (2000). Periphyton production on wood and sediment: substratum-specific response to laboratory and whole-lake nutrient manipulations. *Journal of the North American Benthological Society*, 19(1), 68-81.
157. Vanderklift M. A. & Ponsard S. (2003). Sources of variation in consumer-diet $\delta^{15}\text{N}$ enrichment: A meta-analysis. *Oecologia*, 136(2), 169-182.
158. Van der Oost R., Beyer J. & Vermeulen N.P. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13(2), 57-149.
159. Vander Zanden, M. J., & Vadeboncoeur, Y. (2002). Fishes as integrators of benthic and pelagic food webs in lakes. *Ecology*, 83(8), 2152-2161.
160. Van Gestel C.A.M. & Van Brummelen T.C. (1996). Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms. *Ecotoxicology*, 5(4), 217-225.
161. Verlicchi, P., & Zambello, E. (2014). How efficient are constructed wetlands in removing pharmaceuticals from untreated and treated urban wastewaters? A review. *Science of the Total Environment*, 470, 1281-1306.
162. Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P.F., Green, M.B. & R. Haberl. (1998). *Constructed wetlands for wastewater treatment in Europe* (eds.). Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands.
163. Walker C. H. (2009). *Organic pollutants: an ecotoxicological perspective*. 2nd ed. CRC Press, Taylor & Francis Group. 414 pp.
164. Ward T.M & Weber J.B. (1968). Aqueous solubility of alkylamino-s-triazine as a function of pH and molecular structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 16(6), 959-961.
165. West, M., Fenner, N., Gough, R., & Freeman, C. (2017). Evaluation of algal bloom mitigation and nutrient removal in floating

- constructed wetlands with different macrophyte species. *Ecological Engineering*, 108, 581-588.
166. WHO International Programme on Chemical Safety (IPCS). (1993). *Biomarkers and risk assessment: concepts and principles*. Environmental Health Criteria 155, World Health Organization, Geneva.
 167. Wilken, S., Huisman, J., Naus-Wiezer, S., & Donk, E. (2013). Mixotrophic organisms become more heterotrophic with rising temperature. *Ecology letters*, 16(2), 225-233.
 168. Wilken, S., Soares, M., Urrutia-Cordero, P., Ratcovich, J., Ekvall, M. K., Van Donk, E., & Hansson, L. A. (2018). Primary producers or consumers? Increasing phytoplankton bacterivory along a gradient of lake warming and browning. *Limnology and Oceanography*, 63(S1), S142-S155.
 169. Willis G.H. & Mc. Dowell L.L. (1982). Pesticides in agricultural runoff and their effects on downstream water quality. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1(4), 267-219.
 170. Xu, P., Diao, J., Liu, D., & Zhou, Z. (2011). Enantioselective bioaccumulation and toxic effects of metalaxyl in earthworm *Eisenia foetida*. *Chemosphere*, 83(8), 1074-1079.
 171. Zaldúa N., Ríos M., Teixeira-de Mello F., Gonzalez-Bergonzoni I., Miguele C., Rosano A. & Spinelli, W. (2010). Evaluación participativa de niveles de plaguicidas en peces de interés comercial del Sitio RAMSAR. En: *Evaluación participativa de plaguicidas en el sitio RAMSAR, Parque Nacional Esteros de Farrapos e Islas del Río Uruguay*. Ríos M., Zaldúa N., & Cupeiro S. (eds). Vida Silvestre. 59-76 p.
 172. Zanden M., & Rasmussen J. B. (2001). Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: implications for aquatic food web studies. *Limnology and oceanography*, 46(8), 2061-2066.
 173. Zhang, Y., Ge, S., Jiang, M., Jiang, Z., Wang, Z., & Ma, B. (2014 a). Combined bioremediation of atrazine-contaminated soil by *Pennisetum* and *Arthrobacter* sp. strain DNS10. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(9), 6234-6238.
 174. Zhang, P., Zhu, W., Qiu, J., Wang, D., Wang, X., Wang, Y., & Zhou, Z. (2014 b). Evaluating the enantioselective degradation and novel

- metabolites following a single oral dose of metalaxyl in mice. *Pesticide biochemistry and physiology*, 116, 32-39.
175. Zhou Q., Zhang J., Fu J., Shi J. & Jiang G. (2008). Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta*, 606(2), 135-150.
176. Zhu B., Liu G. L., Liu L., Ling F., & Wang, G. X. (2015). Assessment of trifloxystrobin uptake kinetics, developmental toxicity and mRNA expression in rare minnow embryos. *Chemosphere*, 120, 447-455.
177. Zuykov M., Pelletier E. & Harper D.A.T. (2013). Bivalve mollusks in metal pollution studies: From bioaccumulation to biomonitoring. *Chemosphere*, 93: 201-208.

Anexo

Tabla A1. Límite de Detección (LOD) y Límite de Cuantificación (LOQ) para 48 plaguicidas analizados en **peces** a través de la técnica analítica cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa-masa (**LC-MS/MS**).

Plaguicida	LOD (µg/Kg)	LOQ (µg/Kg)
Acetamiprid	0.35	0.98
Alaclor	0.82	56.80
Ametrina	0.13	0.93
Amitraz	0.22	6.81
Atrazina	0.17	1.03
Azinfos Metil	0.10	0.77
Azoxistrobin	0.13	0.92
Bispiribac	0.71	8.80
Boscalid	0.90	3.00
Carbaril	0.24	0.81
Carbendazim	0.77	0.93
Carbofuran	1.75	54.33
Ciproconazol	0.10	0.84
Clomazone	0.36	0.79
Clorpirifos Metil	0.67	80.35
Difenoconazol	0.12	0.87
Dimetoato	0.16	0.96
Epoxiconazol	0.13	1.09
Espiroxamina	0.01	--
Flutriafol	0.47	0.87
Fluziazole	0.03	0.96
Hexitiazox	0.24	0.64
Imazalil	1.93	42.15
Malaoxon	0.05	1.00
Malation	0.39	0.75
Metalaxil	0.08	1.03
Metamidofos	0.55	0.67
Metidation	0.20	0.81
Metiocarb	4.01	10.89
Metolaclor	0.02	1.00
Metribuzin	0.63	60.05
Metsulfuron Metil	0.14	0.92
Pendimetalin	0.91	0.80
Penoxulam	0.72	9.41
Piraclostrobin	0.03	0.83
Pirazosulfuron	0.10	0.76
Pirimetanil	0.84	0.84
Pirimicarb	0.02	0.91
Pirimifos metil	0.07	0.82

Procloraz	0.55	0.87
Propanil	0.13	0.87
Propiconazol	0.44	0.93
Tebuconazol	0.29	0.91
Tiabendazol	0.53	0.84
Tiacloprid	0.06	0.93
Tiametoxam	0.43	0.98
Triciclazol	0.05	0.88
Trifloxistrobin	0.0107	0.828860606

Tabla A2. Límite de Detección (LOD) y Límite de Cuantificación (LOQ) para 30 plaguicidas analizados en **peces** a través de la técnica analítica cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (**GC-MS**).

Plaguicida	LOD (µg/Kg)	LOQ (µg/Kg)
Alaclor	14.51	49.78
Azinphos methyl	21.56	110.82
Bromopropilate	22.58	43.38
Buprofezin	19.49	42.82
Clorfenvinphos	17.23	1.13
Clorpyrifos	4.12	72.48
Clorpyrifos metil	2.66	85.13
Coumaphos	28.99	71.47
Cyfluthrin	34.76	58.82
Cyhalofop buthyl	31.45	20.45
Cypermethrine	48.16	75.82
Deltametrina	80.25	77.01
Diazinon	5.74	11.95
Ethion	12.91	10.91
Fenhexamid	27.58	73.09
Fenthion	34.62	48.44
Fenvalerato	73.48	159.51
Fipronil	77.99	1.36
Iprodiona	93.62	81.38
Kresoxim methyl	39.29	12.94
Lambda cyhalothrin	28.09	11.51
OPP	18.53	10.58
Parathion ethyl	34.62	1.58
Parathion methyl	43.87	17.16
Pyriproxifen	41.47	12.01
Tau-Fluvalinate	74.29	48.64
Tretradifon	31.21	78.97
Trifloxystrobin	37.76	20.80
Trifluralin	9.37	10.53
Vinclozolin	38.24	11.44

Tabla A3. Límite de detección (LOD) para 20 plaguicidas analizados en **peces** por la técnica analítica cromatografía de gases acoplada a detector de captura de electrones (**GC-ECD**).

Plaguicida	LOD (µg/kg)	Observaciones
4,4' DDE	2	
4,4' DDD	2	
4,4' DDT	10	
Acetochlor	6	
Aldrin	2	
Alfa HCH	2	
Delta HCH	2	
Diclorobenceno	-	No selectivo
Dicofol	-	Muy baja sensibilidad
Diendrin	4	
Endosulfan	3	
Endosulfan Sulfato	5	
Endrin	4	
Gamma HCH	2	
Heptaclor	8	
Hexaclorobenceno	5	
Methoxychlor	3	
Metolachlor	-	Se analizó por LC-MS
Mirex	10	
Pentaclorofenol	-	No selectivo

Tabla A4. Límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) para 50 plaguicidas analizados en **sedimentos** con la técnica analítica cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa-masa (**LC-MS/MS**).

Plaguicida	LOD (µg/Kg)	LOQ (µg/Kg)
Acetamiprid	1.0	10.0
Acetoclor	1.0	10.1
Ametrina	0.5	10.0
Amitraz	0.5	8.1
Atrazina	0.3	10.1
Azinfos Metil	0.5	10.2
Azoxistrobin	0.2	10.0
Carbaril	0.5	10.1
Carbendazim	1.0	10.2
Carbofuran	0.3	10.6
Ciproconazol	0.5	9.8
Ciprodinil	1.0	10.2
Clomazone	0.3	9.6
Clorimuron Etil	0.9	10.2

Clorsulfuan	0.5	9.6
Difenoconazol	0.3	11.0
Dimetoato	0.3	10.0
Epoxiconazol	0.3	10.0
Espiroxamina	0.7	8.9
Fenbuconazol	0.3	10.1
Flutriafol	0.7	10.2
Fluziazone	0.3	9.7
Hexitiazox	0.5	10.8
Imazalil	0.6	10.1
Malaoxon	0.3	10.2
Malation	0.5	10.1
Metalaxil	0.3	10.3
Metamidofos	0.5	10.0
Metidation	0.5	10.3
Metiocarb	0.3	9.6
Metolaclor	0.3	10.0
Metoxifenozone	0.3	10.2
Metribuzin	0.6	10.0
Metsulfuron Metil	0.3	7.6
Pendimetalin	1.0	10.7
Penoxulam	0.2	9.8
Piraclostrobin	0.2	10.4
Pirazosulfuron	0.2	10.2
Pirimetanil	0.9	9.5
Pirimicarb	0.2	9.9
Pirimifos metil	0.2	10.4
Procloraz	0.2	9.8
Propanil	0.5	9.6
Propiconazol	0.8	10.0
Tebuconazol	0.5	10.2
Tiabendazol	0.6	10.4
Tiacloprid	0.1	10.8
Tiametoxam	0.5	9.7
Triciclazol	0.2	10.1
Trifloxistrobin	0.2	10.2

Tabla A5. Límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) para 28 plaguicidas analizados en **sedimentos** con la técnica analítica cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

Plaguicida	LOD (µg/Kg)	LOQ (µg/Kg)
(Z+E)-Chlorfenvinphos	13.1	25.4
2-Phenylphenol	8.2	16.4
Alachlor	10.3	20.4
Bromopropylate	7.3	22.3
Buprofezin	12.2	19.2
Chlorothalonil	20.0	20.0
Chlorpyrifos	10.1	22.0
Chlorpyrifos-methyl	10.2	21.0
Coumaphos	8.2	25.3
Cyfluthrin	52.1	72.1
Cyhalofop-butyl	10.4	20.3
Cyhalothrin	17.7	20.0
Cypermethrin	50.1	102.3
Deltamethrin	22.1	50.0
Diazinon	8.6	19.4
Endosulfan (a+b)	10.2	25.0
Ethion	10.5	22.0
Fenthion	25.1	21.3
Fenvalerate	38.4	96.1
Fipronil	11.2	25.0
Iprodione	8.9	20.0
Kresoxim-methyl	9.4	18.6
Parathion	9.6	22.4
Parathion-methyl	8.9	20.2
Pyriproxyfen	9.9	21.2
tau-Fluvalinate	26.4	52.8
Tetradifon	12.3	22.1
Trifluralin	9.3	17.3