



Universidad de la República

Evaluación de riesgo a plaguicidas en la cuenca del Arroyo Maldonado y potencial exposición de organismos macrobentónicos

Estudiante: Javier Fernández Afonso

Orientador: Dr. Javier García Alonso

Co-orientador: Dr. Ángel Segura

Tribunal:

Dr. Pablo Muniz. Dra. Luciana Griffero. Dra. Gissell Lacerot.

2025

Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas

Resumen

Las cuencas hidrográficas deben ser gestionadas de forma integral, considerando sus aspectos físicos, biológicos, químicos y sociales, compatibilizando los servicios ecosistémicos con la conservación. Es esencial para una correcta gestión, el monitorear el uso de agroquímicos, su liberación al ambiente y sus impactos sobre la biota.

Aunque los agroquímicos en agua pueden estar en concentraciones bajas, los sedimentos acumulan estos compuestos a largo plazo, ofreciendo un registro histórico que permite evaluar el riesgo ecológico a largo plazo.

Asociado a los sedimentos, las comunidades macrobentónicas, son ideales biomonitores y bioindicadores de contaminación en todos los niveles de organización biológica. Dicha comunidad varía a lo largo de la cuenca, desde las nacientes hasta su desembocadura. La cuenca del Arroyo Maldonado, presenta un ecosistema estuarino en zona baja y fuerte presión urbana en su zona media.

Esta tesis se divide en dos capítulos, en el primero se realizaron validaciones para dos métodos de extracción de agroquímicos: SPE (extracción en fase sólida) para agua y QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rough and Safe) para sedimentos. Los compuestos se identificaron y cuantificaron mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (HPLC-MSMS). Posteriormente, en el segundo capítulo, se realizaron muestreos en los años 2019 y 2020 en 19 puntos representativos de toda la cuenca, colectando agua y sedimento para cuantificar agroquímicos, analizando en paralelo las comunidades macrobentónicas y evaluando el riesgo.

Se validaron 28 de 59 agroquímicos seleccionados por su uso regular en nuestro país para extraer mediante QuEChERS en sedimentos, pero no se pudo validar el método para agua con SPE. Se pudo identificar la importancia de ciertas propiedades de los plaguicidas en

el resultado de la validación, siendo la masa molecular y el coeficiente octanol/agua las más relevantes en ese sentido.

En los sedimentos de la cuenca, se detectaron 9 agroquímicos, siendo el fungicida Azoxistrobín el más frecuente. En agua se identificaron 3 compuestos siendo el herbicida 2.4 D el que más veces se identificó. En cuanto a las variaciones temporales, las muestras de invierno mostraron más plaguicidas que las de primavera y verano, siendo una cañada urbana lindera a una escuela de la ciudad de San Carlos la que presentó la mayor cantidad de plaguicidas ($n = 8$). En 4 de los 19 sitios de muestreo hubo riesgo medio o alto para los organismos acuáticos, estando 3 de ellos ubicados en zona media de la cuenca. Se pudo identificar la importancia de algunas variables como oxígeno disuelto, temperatura y conductividad en la presencia o ausencia de plaguicidas en ambas matrices.

Los agroquímicos se acumulan diferencialmente a lo largo de la cuenca, afectando diversos organismos según el área. En zona baja el Piraclostrobin está en contacto con Poliquetos, en zona media se detectaron en sedimento 6 plaguicidas asociados a los Órdenes Haplotaxida y Anfípoda, y en zona alta se vieron 2 agroquímicos asociados a los Órdenes Anfípoda y Veneroida. Los Órdenes Anfípoda y Haplotaxida se visualizan como potenciales bioindicadores de la contaminación por plaguicidas. La co-ocurrencia de agroquímicos con determinados taxa de la comunidad macrobentónica, permite a futuros estudios, diseñar monitoreos y estudios de impacto a largo plazo para la cuenca del Arroyo Maldonado.

Palabras claves

QuEChERS; SPE; Validación; Plaguicida; Macrobentos; Evaluación de riesgo; Cuenca del Maldonado

Abstract

Watersheds must be managed holistically, considering their physical, biological, chemical, and social aspects, balancing ecosystem services with conservation. Monitoring the use of agrochemicals, their release into the environment, and their impacts on biota is essential for proper management.

Although agrochemicals in water may be present at low concentrations, sediments accumulate these compounds over the long term, providing a historical record that allows for long-term ecological risk assessment.

Associated with sediments, macrobenthic communities are ideal biomonitors and bioindicators of pollution at all levels of biological organization. This community varies throughout the watershed, from the headwaters to the mouth. The Maldonado Creek watershed presents an estuarine ecosystem in the lower reaches and strong urban pressure in its middle reaches. This thesis is divided into two chapters. In the first, validations were performed for two agrochemical extraction methods: SPE (solid-phase extraction) for water and QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rough and Safe) for sediments. The compounds were identified and quantified using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (HPLC-MSMS). Subsequently, in the second chapter, sampling was carried out in 2019 and 2020 at 19 representative points throughout the basin, collecting water and sediment to quantify agrochemicals, analyzing macrobenthic communities in parallel, and assessing risk.

Twenty-eight of 59 agrochemicals selected for their regular use in our country were validated for extraction using QuEChERS in sediments, but the method could not be validated for water using SPE. The importance of certain pesticide properties in the validation results was identified, with molecular mass and octanol/water ratio being the most relevant.

In the watershed sediments, 9 agrochemicals were detected, with the fungicide Azoxystrobin being the most frequent. Three compounds were identified in water, with the herbicide 2.4 D being the most frequently identified. Regarding temporal variations, winter samples showed more pesticides than spring and summer samples, with an urban stream adjacent to a school in the city of San Carlos presenting the highest amount of pesticides (n = 8). Four of the 19 sampling sites presented a medium or high risk to aquatic organisms, three of which were located in the middle of the watershed. The importance of some variables such as dissolved oxygen, temperature and conductivity in the presence or absence of pesticides in both matrices was identified.

Agrochemicals accumulate differentially throughout the watershed, affecting diverse organisms depending on the area. In the lower reaches, Pyraclostrobin is in contact with Polychaetes; in the middle reaches, six pesticides associated with the orders Haplotaxida and Amphipoda were detected in the sediment; and in the upper reaches, two agrochemicals associated with the orders Amphipoda and Veneroida were observed. The orders Amphipoda and Haplotaxida are seen as potential bioindicators of pesticide contamination. The co-occurrence of agrochemicals with certain taxa of the macrobenthic community allows for future studies, the design of monitoring and long-term impact studies for the Maldonado Stream watershed.

Keywords

QuEChERS; SPE; Validation; Pesticide; Agrochemical; Macrobenthos; Risk assessment; Maldonado basin

Agradecimientos

En primera instancia quiero agradecer a la Universidad de la República, de no ser pública y gratuita no hubiera podido formarme como veterinario, y lo hago extensivo al posgrado con PEDECIBA.

También quiero agradecer a los que hicieron y hacen posible la descentralización de la Universidad por la creación del CURE, de haber tenido que viajar para hacer el posgrado hubiera sido muy difícil compatibilizarlo con mi trabajo y familia.

A mi tutor, por el acompañamiento desde los primeros pasos, por sus críticas y sugerencias sin las cuales no hubiera llegado a buen puerto con la tesis.

A mi co tutor por aceptar esa responsabilidad en las últimas etapas y por sus aportes para lograr cumplir los objetivos trazados.

A Noel Alonzo por todas lo que me enseñó con respecto al análisis de plaguicidas, y a Lucia Pareja por el uso de las instalaciones del laboratorio del Departamento de Química del Litoral en Paysandú y sus sugerencias.

Al equipo de muestreo integrado por Joaquín González, Esteban García y Alejandra Bertone.

A Cesar Rodriguez por la ayuda con los cálculos de cociente de riesgo.

A Gustavo Olivera que me dio un enorme empujón para poder iniciarme en el manejo del R y en la estadística.

A mi hermana, madre y padre, por ser quien soy.

A Laura Ocaño por todo el apoyo.

Agradecer a los miembros del tribunal por los valiosos aportes.

En especial agradecer y dedicárselo a mi hija Aylín, motivo por el cual, incursioné en las ciencias ambientales, para que dentro de lo poco que está a mi alcance, dejarle un mundo mejor...

Índice

Resumen	2
Abstract	4
Keywords	5
Agradecimientos	6
Índice	7
Listado de Figuras	10
<i>Capítulo 1</i>	10
<i>Capítulo 2</i>	10
<i>Anexo</i>	11
Listado de tablas	12
<i>Capítulo 1</i>	12
<i>Capítulo 2</i>	12
<i>Anexo</i>	13
Introducción general	14
Objetivo general:	19
Capítulo 1 Validación de métodos de extracción para la determinación de agroquímicos en muestras ambientales de la cuenca del arroyo Maldonado	20
Introducción	20
<i>Extracción de agroquímicos orgánicos en sedimento</i>	21
<i>Extracción de agroquímicos orgánicos en agua</i>	23
<i>Detección y cuantificación de agroquímicos</i>	24
<i>Validación de los métodos de extracción</i>	26
Objetivos:	29
Pregunta:	29
Materiales y métodos	29
<i>Selección de agroquímicos a validar</i>	29
<i>Validación de la extracción QuEChERS para agroquímicos en sedimentos de la cuenca del Arroyo Maldonado</i>	32
<i>Secado de las muestras</i>	32
<i>Extracción con QuEChERS</i>	33
<i>Recuperaciones</i>	34
<i>Validación de extracción de agroquímicos en agua mediante SPE</i>	35

<i>Recuperaciones</i>	36
<i>Detección y cuantificación de los agroquímicos</i>	36
<i>Análisis estadísticos</i>	37
Resultados	39
<i>Validación de QuEChERS como método de extracción de agroquímicos en sedimento</i>	40
<i>Validación de extracción de agroquímicos en agua con cartuchos Oasis</i>	44
<i>Análisis estadísticos de los resultados de la validación</i>	45
Discusión	53
<i>Validación QuEChERS</i>	53
<i>Validación de extracción de agroquímicos en agua con SPE Oasis</i>	55
Conclusiones y perspectivas	56
Capítulo 2. Cuenca del Arroyo Maldonado: Identificación de Plaguicidas en Agua y Sedimento y Evaluación de Riesgos para la Comunidad Macrobentónica	57
Introducción	57
<i>Cuencas y usos de suelo</i>	57
<i>Plaguicidas en los cauces de agua</i>	58
<i>Comunidades macrobentónicas</i>	63
<i>Riesgo ecológico</i>	66
<i>Ecosistemas estuarinos</i>	67
<i>Conocimiento actual de la cuenca del arroyo Maldonado</i>	68
Objetivo general:	69
Objetivos específicos	69
Hipótesis:	70
Materiales y métodos	70
<i>Área de estudio</i>	70
<i>Caracterización ambiental</i>	74
<i>Parámetros fisicoquímicos</i>	74
<i>Toma de muestras</i>	74
<i>Granulometría</i>	75
<i>Determinación de materia orgánica del sedimento</i>	75
<i>Identificación de los agroquímicos presentes en sedimento y agua de la cuenca</i>	76
<i>Extracción de agroquímicos del sedimento de la cuenca del Maldonado</i>	76
<i>Extracción de agroquímicos en agua de la cuenca del Maldonado</i>	77

Detección y cuantificación	77
<i>Identificación de la comunidad macrobentónica</i>	79
<i>Riesgo ecológico</i>	79
Resultados	81
<i>Caracterización ambiental</i>	81
Descripción fisicoquímica de la cuenca del Arroyo Maldonado	81
Características del sedimento de la cuenca	82
Contenido de materia orgánica en el sedimento.....	83
<i>Agroquímicos presentes en la cuenca del arroyo Maldonado</i>	85
Agroquímicos identificados en el sedimento	85
Agroquímicos identificados en agua	91
<i>Comunidad macrobentónica en la cuenca del arroyo Maldonado</i>	96
<i>Evaluación de riesgos</i>	102
<i>Exposición del macrobentos de la cuenca del Maldonado a agroquímicos</i>	104
Discusión	105
<i>Caracterización ambiental</i>	105
<i>Plaguicidas presentes en la cuenca</i>	107
<i>Comunidad macrobentónica en la cuenca del Maldonado</i>	112
<i>Evaluación de Riesgos</i>	115
<i>Exposición de comunidad bentónica a plaguicidas</i>	117
<i>Potenciales bioindicadores locales</i>	119
Perspectivas	121
Conclusiones	122
Conclusiones generales	123
Bibliografía:	124
Anexo	151

Listado de Figuras

Capítulo 1

Figura 1. Pasos del método QuEChERS utilizado en esta investigación.

Figura 2. A, Muestras de sedimento siendo liofilizadas; B, Tubo Fálcon donde se realizó el QuEChERS luego de ser centrifugado; C, Extracciones con cartuchos OASIS en un Manifold en CURE Maldonado.

Figura 3. Cromatograma de extracción de Metolaclor y Azoxistrobin en sedimento

Figura 4. Boxplot de medias de pendiente con sus respectivos desvíos de compuestos no validados y validados.

Figura 5. Boxplot de medias de R^2 con su respectivo desvío de compuestos no validados y los validados.

Figura 6. Medias de compuestos no validados y validados para las propiedades fisicoquímicas evaluadas en este trabajo.

Figura 7. Árbol de clasificación generado para visualizar el resultado de la validación.

Figura 8. Importancia de las variables en el resultado de la validación evaluadas con el método de Random Forest.

Capítulo 2

Figura 9. Cuenca hidrológica del arroyo Maldonado.

Figura 10. Usos de suelo en la cuenca del Arroyo Maldonado.

Figura 11. Diferentes tamaños medio de grano en cada sitio de muestreo.

Figura 12. Porcentaje de materia orgánica en los diferentes sitios.

Figura 13. Clúster jerárquico considerando las propiedades fisicoquímicas.

Figura 14. Número de plaguicidas en sedimento de la cuenca del arroyo Maldonado en las diferentes estaciones del año.

Figura 15. Frecuencia de aparición de cada agroquímico encontrado en la cuenca del Maldonado en las diferentes estaciones del año.

Figura 16. Cluster considerando la presencia o ausencia de plaguicidas en sedimento en los 3 muestreos.

Figura 17. Árbol de clasificación considerando la presencia o ausencia de plaguicidas en sedimento.

Figura 18. Árbol de regresión de agroquímicos en agua con las variables fisicoquímicas.

Figura 19. Frecuencia de detección de agroquímicos detectados en la cuenca.

Figura 20. Número de agroquímicos detectado en cada sitio de muestreo en ambas matrices.

Figura 21. Boxplot de medias con sus desvíos de agroquímicos encontrados en cada zona de la cuenca.

Figura 22. Ejemplares de Comunidad macrobentónica colectados en la cuenca del Arroyo Maldonado.

Figura 23. Ejemplares de Comunidad macrobentónica colectados en la cuenca del Arroyo Maldonado.

Figura 24. Cluster considerando la presencia o ausencia de los diferentes Órdenes de la comunidad bentónica.

Anexo

Figura 2. Curvas generadas con las concentraciones realizadas para hacer la curva matriz y el área de las curvas de recuperación.

Listado de tablas

Capítulo 1

Tabla 1. Clasificación y propiedades fisicoquímicas de agroquímicos tomados en cuenta para la validación.

Tabla 2. Lista de agroquímicos validados para extraer del sedimento con QuEChERS.

Tabla 3. Agroquímicos que cumplen exigencias a un nivel para extraer del sedimento con QuEChERS.

Tabla 4. Agroquímicos no validados para extraer del sedimento con QuEChERS.

Tabla 5. Agroquímicos que se intentaron validar en agua.

Tabla 6. Modelos lineales generalizados (GLM).

Tabla 7. Modelos estadísticos realizados para predecir el resultado de una validación.

Capítulo 2

Tabla 8. Sitios muestreados, zona de la cuenca, descripción del lugar, latitud, longitud y altura en metros de sitios de muestreo.

Tabla 9. Sitios muestreados, tipo de ecosistema, parámetros fisicoquímicos.

Tabla 10. Agroquímicos identificados en el sedimento de la cuenca.

Tabla 11. Modelos lineales generalizados (GLM) con la variable de respuesta número de plaguicidas en sedimento por sitio y la variable explicativa estación del año.

Tabla 12. Modelos lineales generalizados (GLM) para variable respuesta número de plaguicidas en sedimento y explicativa zona de la cuenca.

Tabla 13. Agroquímicos detectados en agua en cada sitio de muestreo.

Tabla 14. Modelos lineales generalizados (GLM) con la variable de respuesta número de plaguicidas en agua y explicativa zona de la cuenca.

Tabla 15. Número de individuos por m² de cada Orden identificado de la comunidad macrobentónica en los 19 sitios muestreados de la cuenca del Arroyo Maldonado.

Tabla 16. Cociente de riesgo (RQ) de los diferentes plaguicidas identificados en sedimento de la cuenca del arroyo Maldonado.

Anexo

Tabla 17. Parámetros instrumentales. Agroquímicos utilizados en la validación, que se ven por método negativo.

Tabla 18. Parámetros instrumentales. Agroquímicos utilizados en la validación, que se ven por método positivo.

Tabla 19. Agroquímicos inyectados en el cromatógrafo detectados por el método negativo, tiempo de transición, transición principal (cuantificación) y secundaria (confirmación).

Tabla 20. Agroquímicos inyectados en el cromatógrafo detectados por el método positivo, tiempo de transición, transición principal (cuantificación) y secundaria (confirmación).

Tabla 21. Porcentajes de las diferentes fracciones granulométricas para las muestras de la cuenca del Arroyo Maldonado.

Tabla 22. Sitios de muestreos, fracción de carbono orgánico calculado (FOC).

Tabla 23. Mínima concentración sin efecto observada a los 21 días (NOEC) y concentración prevista sin efecto (PNEC) para los diferentes plaguicidas identificados en sedimento de la cuenca.

Introducción general

Con el objetivo de aumentar la productividad de los cultivos desde la “revolución” verde hasta la fecha, se ha incrementado sistemáticamente el uso de plaguicidas, lo que propició la aparición de afectaciones al suelo, a la producción agrícola y a la salud ambiental (Ogura et al., 2021). A nivel mundial, el uso de plaguicidas superó los 4 millones de toneladas, con los herbicidas liderando las ventas, seguidos por insecticidas y fungicidas (McDougall, 2022).

El término plaguicida comprende todos los productos químicos utilizados para destruir, prevenir, o controlar factores bióticos comúnmente categorizados como “plagas” (FAO, 1997). La palabra agroquímico refiere a plaguicidas utilizados principalmente en la producción agropecuaria. En esta tesis se manejan los términos plaguicidas y agroquímicos como sinónimos. Los agroquímicos se pueden clasificar de muchas formas, como por ejemplo en compuestos naturales o sintéticos, o según la “plaga” a la que atacan como pueden ser sustancias que impiden o retrasan el desarrollo de los hongos (fungicidas), que combatan hierbas consideradas en la producción como no deseables (herbicidas), que controlan o eliminan a los insectos (insecticidas), controlan a los ácaros (acaricidas), etc. Otra forma común de clasificarlos es en base a su composición química donde se encuentran los órganos fosforados, los órganos clorados, carbamatos, piretroides, amidas, ureas, etc. También en base a su persistencia en el ambiente donde se encuentran los no persistentes, moderadamente persistentes, persistentes y permanentes, incluso recalcitrantes (Muller et al., 2007). La persistencia del plaguicida, es una medida en términos de vida-media, y está influenciada por el nivel recalcitrante del compuesto, por procesos bióticos como la biodegradación microbiana y los procesos abióticos como adsorción, hidrólisis, fotólisis y oxidación (Muller et al., 2007).

Los agroquímicos se han identificado como uno de los principales contaminantes de agua dulce a nivel mundial, alterando las comunidades que habitan dichos ecosistemas (Gunawardhana et al., 2016), disminuyendo la biodiversidad (Feng Wan et al., 2025) y afectando la salud humana (Panis et al., 2022). Llegan a los cauces de agua debido al uso directo en la agricultura y la esorrentía, pero también por otros motivos asociados, el lavado de los equipos utilizados en su aplicación, el inadecuado depósito final de los empaques, el procesamiento de los vegetales fumigados, empleo doméstico y fumigaciones en zonas urbanas (Babu et al., 2011). La esorrentía superficial, influenciada por las precipitaciones, es uno de los principales procesos de llegada a los cuerpos de agua de contaminantes por fuentes difusas (Jergentz et al., 2005), aunque otros procesos están en juego como infiltración y erosión de los suelos en lugares donde se han aplicado agroquímicos (Ongley, 1996). Las lluvias juegan un rol fundamental, tal es así que se ha registrado que la concentración de herbicidas aumentan en un curso de agua después de los eventos de lluvia produciendo efectos nocivos incluso a muy bajas concentraciones (Harman, 1996). A su vez, los agroquímicos pueden movilizarse por transporte atmosférico y llegar a acumularse en cuerpos de agua muy distantes de donde fueron aplicados (Gonçalves dos Santos et al., 2009) por lo que la liberación del compuesto a la atmósfera es una forma de transporte y propagación del plaguicida, generando un efecto en otros organismos distintos a su propósito (Hayo, 1996). Se detectó que el 80% de las muestras de agua de lluvia de zonas urbanas de la pampa argentina tenía concentraciones detectables de Glifosato y Atrazina, y en 34% ácido aminometilfosfónico (AMPA) (Alonso et al., 2018). También desde fuentes como vertederos o basurales, el proceso de lixiviación genera un riesgo de exposición a plaguicidas en especies no objetivo, tanto en los ecosistemas terrestres como acuáticos,

con pérdida de la biodiversidad, afectación en la formación y composición del suelo y el suministro de agua potable (Vasilachi et al., 2020).

La liberación de estas sustancias no es constante en el tiempo, ya que su uso es en muchos casos es estacional y la llegada a las fuentes de agua está determinada por condiciones climáticas y tipos de suelo (Acosta, 2013). Una vez emitido al ambiente (aire, agua, suelo y biota) el agroquímico tiene una dinámica y un destino propio, determinados no solo por sus propiedades físicas y químicas sino también por las características del medio con el que interactúa (Agnihotri et al., 1994), que también define los posibles destinos y efectos sobre la biota. La compartimentación ambiental entonces depende de las características del ambiente y de las propiedades del agroquímico como ser coeficiente de absorción del suelo (K_{oc}), solubilidad, constante de Henry (H), coeficiente de partición octanol/agua (K_{ow}) entre otras (Ogbeide et al., 2018). El tamaño molecular del químico también influye en la adsorción, en la solubilidad en agua y en la disposición de las moléculas orgánicas adsorbidas, especialmente por efectos estéricos (Olave, 2019). Estos parámetros son bien conocidos en el caso de los plaguicidas y se utilizan para prever su evolución ambiental (Covaci, 2014). Sin embargo, el transporte, acumulación y toxicidad dependen en gran medida de la formulación comercial ya que se le adicionan sustancias que pueden aumentar el transporte y la toxicidad del compuesto activo (Peillex y Pelletier, 2020).

Todos los agroquímicos con actividad biocida, fueron creados para interferir con los sistemas biológicos y carecen de selectividad real, afectan simultáneamente, y en mayor o menor grado, tanto a la “especie blanco” como a otras categorías de seres vivos, por lo que se pueden observar diferentes efectos concatenados a distintos niveles de

organización biológica (Hayo, 1996; Newman, 2019). Una muy pequeña proporción del agroquímico aplicado alcanza el organismo objetivo y un alto porcentaje se deriva sobre el suelo, agua y sedimentos, afectando a otros organismos (Ortiz et al., 2011; Climent et al., 2019).

En los ecosistemas acuáticos, las especies bentónicas son organismos que viven en su totalidad o en parte de su ciclo, en los sustratos del fondo, y debido a su baja dispersión, su posición en la interfase sedimento-agua y sus hábitos tróficos son especialmente adecuadas como indicadores de estrés ambiental (Sauco et al., 2010; Sumudumali y Jayawardana, 2021), y centinelas en la determinación de la salud de los ecosistemas acuáticos (Muniz et al., 2013).

El destino ambiental es clave para determinar qué comunidad biológica presenta riesgo por exposición (Ernst et al., 2018), por lo que para predecir la salud y resiliencia de los ecosistemas acuáticos, es necesario comprender los efectos indirectos de los agroquímicos, sobre las especies no objetivo (Narayanan et al., 2024). Con dichos fines se han desarrollado diversas herramientas como las Evaluaciones de Riesgo Ecotoxicológico (Maertens et al., 2022), éstas evalúan la probabilidad de que un determinado contaminante genere efectos ecológicamente adversos. Existen varias metodologías, como la del cociente de riesgo que compara las concentraciones ambientales y sus efectos ecotoxicológicos en especies centinela (Mac Loughlin et al., 2022) o la evaluación probabilística del riesgo que considera la variabilidad en la sensibilidad de las diferentes especies a un mismo contaminante para realizar una distribución de la sensibilidad de las especies (Bertrand y Iturburu, 2023).

El desarrollo de nuevas técnicas analíticas y/o métodos de extracción han permitido la evaluación simultánea de gran cantidad de agroquímicos en suelos y otras matrices en

concentraciones muy bajas, buscando reducir volúmenes de solventes y generar técnicas más sustentables (Kim et al., 2019). Algunos de los métodos más utilizados de extracción de agroquímicos en agua son la extracción líquido-líquido como el método de Luke o el de SweEt, extracción líquido-líquido asistido por membrana y extracción en fase sólida (SPE) (Rodríguez-Mozaz et al., 2007), mientras que para sedimento podemos mencionar extracción sólido líquido Soxhlet, QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rough and Safe) entre otros (Olave, 2019).

En Uruguay se utilizan plaguicidas desde el siglo pasado, pero en las últimas décadas se ha incrementado su uso en forma exponencial principalmente debido al aumento de los cultivos transgénicos de soja, lo que conlleva la adopción de un paquete tecnológico caracterizado principalmente por la siembra directa, el uso de cultivares transgénicos y la utilización de plaguicidas (Soutullo, 2013). El número de agroquímicos registrados de uso agrícola y veterinario creció significativamente en nuestro país, siendo más de 1100 para uso agrícola y más de 200 compuestos para uso veterinario (DGSA, 2023). De los plaguicidas registrados, 81 tienen ingredientes considerados altamente peligrosos, de los cuales 41 están prohibidos por la Unión Europea (Palladino et al., 2023).

En Uruguay, las intoxicaciones agudas por plaguicidas han sido reconocidas como un problema de salud pública (Taran et al., 2018). En 2020 se importaron más de 25 millones de ingredientes activos de agroquímicos, siendo los herbicidas y luego los insecticidas los principales agroquímicos comercializados (DGSA, 2023), por lo que es fundamental realizar estudios de agroquímicos a nivel de cuencas hidrográficas (DINAMA, 2020).

La cuenca del Arroyo Maldonado está situada en la región Sud Este de nuestro país, presenta una extensión de 1486 km², pasando por los principales centros poblados del departamento. Presenta dos áreas declaradas por Decreto N° 3931/2015 como eco parque, y brinda servicios

ecosistémicos fundamentales para la población, entre las que se destaca el turismo. A pesar de su importancia nunca se ha realizado un monitoreo ambiental que abarque toda la cuenca y no hay datos sobre plaguicidas que puedan estar llegando a sus cauces de agua en ninguna zona de la cuenca.

Objetivo general:

Identificar agroquímicos presentes en la cuenca del Arroyo Maldonado en agua y sedimento, y determinar que organismos de las comunidades macrobentónicas locales podrían potencialmente usarse como bioindicadores de la contaminación con dichos químicos.

Capítulo 1 Validación de métodos de extracción para la determinación de agroquímicos en muestras ambientales de la cuenca del arroyo Maldonado

Introducción

El análisis de agroquímicos en distintas matrices del ambiente consiste en detectar y cuantificar el químico a concentraciones traza, es decir en el orden de partes por millón o menor. Esto conlleva varias etapas como son la toma de muestras, transporte, almacenamiento, extracción, purificación y determinación. Para cumplir esos objetivos los procedimientos están en continua evolución para mejorar la determinación de compuestos en matrices ambientales (Kock, 2014).

Una vez colectada la muestra de manera homogénea y representativa se procede a extraer los analitos de interés. La extracción es la primera etapa, el objetivo de esta parte del método es separar el analito de la matriz de la forma más completa posible, buscando evitar la presencia de interferencias. Por tanto, hay que evaluar no sólo la naturaleza del analito sino también de la matriz, para que esta etapa sea lo más eficiente posible.

Las cuencas hidrográficas presentan propiedades físico químicas particulares y un aumento de las concentraciones de sales hacia la desembocadura cuando confluyen en el Océano debido a la entrada de agua marina generando un sistema estuarino. Los sedimentos de las cuencas varían según la geología de la zona, presentando variaciones por ejemplo en el tamaño del grano y porcentaje de materia orgánica, lo que puede alterar los procesos de extracción. Por ello es necesario validar la extracción de agroquímicos con matrices que reflejen las características típicas de la cuenca, evaluar el efecto de la matriz en estudio sobre los contaminantes y poder cuantificar los químicos identificados. La técnica de extracción usada para sedimento en esta tesis fue el QuEChERS, mientras que, para la extracción de agroquímicos en agua, se utilizó la extracción en fase sólida

(SPE). Es de relevancia este estudio ya que no existen antecedentes en matrices ambientales de cuencas costeras del Uruguay. Ambas matrices se analizaron por cromatografía líquida con masas en tándem ya que esta técnica analítica para agroquímicos orgánicos es actualmente la más recomendada (Collins et al., 2006).

Extracción de agroquímicos orgánicos en sedimento

Las técnicas convencionales, de extracción de agroquímicos en sedimento, por ejemplo, Soxhlet, requieren grandes volúmenes de solventes y procesos de limpieza de extracto que consumen mucho tiempo (Cassoli et al., 2019).

El método QuEChERS se introdujo como un método verde, fácil de usar y que satisface las necesidades cambiantes de análisis multiresiduos derivados de la introducción de agroquímicos relativamente polares, cuya recuperación era relativamente pobre con otros métodos previamente desarrollados (Bruzzoniti et al., 2014). Se ha utilizado en innumerables aplicaciones sobre suelos, sedimentos y lodos, por ser uno de los más convenientes debido a los altos rendimientos de extracción que se logran (Tsiantas et al., 2023). QuEChERS fue desarrollado originalmente por Anastassiades et al (2003), y posteriormente validado para la recuperación de más de 200 residuos de agroquímicos en frutas y verduras (Bruzzoniti et al., 2014). El método consta de dos etapas: extracción con solvente y sales (salting-out), y un paso de limpieza (clean-up). La etapa de extracción en el método original utiliza como solvente el acetonitrilo (ACN) y una mezcla de sales, cloruro de sodio (NaCl) y sulfato de magnesio anhidro (MgSO₄, alúmina), y una segunda etapa de clean-up, mediante dispersión en fase sólida (dSPE) que permite la eliminación de restos de agua presente en la muestra y una limpieza para reducir ciertos co-extractivos. El salting-out utilizando grandes cantidades de sales, tales como Sulfato de sodio (Na₂SO₄), cloruro de sodio (NaCl) y sulfato de magnesio (MgSO₄) se realiza para que las sales compitan con los analitos de interés por la solvatación con el agua,

disminuyendo su afinidad por la fase acuosa y migrando hacia la fase orgánica ((Kim et al., 2019). Esto facilita la partición de los agroquímicos en la capa orgánica lo cual mejora las recuperaciones. La reacción de hidratación del sulfato de magnesio es exotérmica, aumenta la temperatura del medio (aprox. 40-45 °C), aumentando la eficiencia en la extracción de agroquímicos apolares (Kim et al., 2019). El cloruro de sodio por su parte, mejora la recuperación de compuestos polares al ayudar al movimiento del solvente orgánico hacia la capa orgánica además de reducir la cantidad de coextractivos en el extracto debido al efecto “salting out” (Kim et al., 2019). Del método original se han realizado innumerables modificaciones como cambios en volúmenes de agua agregada, para mejorar la extracción, o de matriz para mejorar la recuperación, usos de otros solventes como acetato de etilo en vez de ACN, utilización de instrumentos como sonicador, etc. También hay variantes con buffers de citrato y acetato para la extracción de agroquímicos sensibles al pH de la matriz (Anastassiades et al, 2007). En el método de QuEChERS citrato se utiliza un tampón de citrato con la adición de 1 g de citrato trisódico dihidrato y 0,5 g de hidrogenocitrato sesquihidrato de sodio además de las sales antes mencionadas. En el método QuEChERS acetato se utiliza un tampón de acetato con la adición de ACN acidificado con ácido acético y 1,5 g de acetato de sodio (en vez del cloruro de sodio) junto al sulfato de magnesio (Pereira, 2019).

Las muestras basadas en ACN preparadas utilizando el método QuEChERS se pueden inyectar simultáneamente tanto en cromatógrafo de gases (GC) como en el de líquidos (LC) y dado que el ACN es miscible con agua puede penetrar matrices a base de agua para la extracción de los analitos de interés (Kim et al., 2019).

Aunque hay infinidad de estudios que evalúan el método QuEChERS, aún existe la necesidad de optimizar metodologías para sedimentos considerando las capacidades propias de cada agroquímico (Cassoli et al., 2019), evaluar el efecto de matriz en cada

caso particular, y poder así cuantificar con precisión los químicos buscados. Al emplearse esta metodología de extracción multiresiduos en matrices para la cuales no existen normas estandarizadas, surgen variaciones analíticas en cuanto a cantidad de muestra empleada, así como su pretratamiento, al solvente o mezcla de solventes que se usa, las relaciones sólido/solvente, y al tipo de sales que se emplean (Masiá et al., 2015).

Extracción de agroquímicos orgánicos en agua

La extracción en fase sólida es un proceso en el cual cantidades trazas de un compuesto son separadas, retenidas y concentradas a partir de un volumen pre establecido de líquido (Kock, 2014). Se hace un pasaje del analito desde la fase líquida a un adsorbente sólido que generalmente se encuentra en un cartucho, luego el compuesto de interés es eluido del adsorbente para su posterior cuantificación.

Existen diversos tipos de cartuchos. Los de materiales poliméricos, mostraron los mejores resultados para la extracción de plaguicidas órgano fosforados polares. En general la calidad de la recuperación de los agroquímicos con un material u otro tiene cierta correlación con el coeficiente octanol agua (K_{ow}) de cada químico (Geis y Gebert, 2006). Carabias-Martínez et al (2004) compararon la eficiencia de 3 cartuchos de extracción con diferente fase sólida para la determinación simultánea de 10 sulfonil y fenilureas y un producto de transformación (3-cloro-4-metil-fenilurea), las muestras fueron concentradas 1000 veces utilizando cartuchos de C-18, OASIS HLB y Lichrolut EN, obteniendo mejores resultados con los OASIS HLB. También para la determinación simultánea de 30 triazinas, fenilureas y herbicidas tipo cloroacetanilidas en agua dulce y de estuarios se desarrolló un método que pre-concentra las muestras en cartuchos OASIS HLB con recuperaciones entre 73 a 122 % (Mazzella et al., 2009). Por otro lado, se evaluó la eficiencia de C-18, OASIS HLB y Cleanert HXN (cartucho polimérico de poliestireno y divinilbenceno) para el análisis de 10 sulfonilureas y las tasas de recuperación fueron

mayores para los cartuchos HLB, en el entorno 77 hasta 109 % (Ouyang et al., 2009). Los cartuchos OASIS HLB están preparados en base a un adsorbente de fase inversa polimérica universal y han demostrado ser eficientes para extraer del agua cientos de agroquímicos de diferentes propiedades fisicoquímicas (Ouyang et al., 2009), de aguas neutras, ácidas o básicas, lo que lo hace adecuado para un monitoreo donde se pretendan buscar muchos analitos a la vez (Lacorte et al., 2000) en cuencas donde varían mucho las propiedades fisicoquímicas del agua.

El proceso de extracción en fase sólida se realiza en cuatro etapas. En la primera, la fase estacionaria, debe acondicionarse el cartucho con un solvente para activarlo y mejorar la reproducibilidad de la retención de los analitos, así como para eliminar las posibles impurezas que pueda contener. Posteriormente se realiza el pasaje de la muestra a través del cartucho con el objetivo de retener al máximo los analitos. A continuación, se realiza una etapa de limpieza con el fin de eliminar los componentes de la matriz que pudieran interferir en la determinación. Finalmente se realiza la elución del analito para su posterior análisis.

Detección y cuantificación de agroquímicos

El análisis de agroquímicos se ha convertido en un gran desafío debido a que existen infinidad de compuestos, sumado a los bajos niveles de concentración y acumulación en las diferentes matrices abióticas y bióticas.

Como consecuencia de las características particulares de los plaguicidas y la necesidad de contar con métodos cada vez más precisos, específicos, exactos, rápidos y robustos, se desarrollaron las técnicas cromatográficas que resultan adecuadas para este tipo de determinaciones cualitativas y/o cuantitativas, siendo la cromatografía de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas una de las técnicas más empleadas en la determinación de contaminantes orgánicos (Collins et al., 2006).

Se han creado métodos para determinar estos compuestos utilizando técnicas como la cromatografía de gases (GC) y la cromatografía líquida (LC) acopladas a diversos detectores. Uno de los más utilizados es la espectrometría de masas (MS) y la espectrometría de masas en tándem (MS/MS), que nos permiten medir compuestos en el orden de ng. mL o incluso pg. mL y diferenciar moléculas con diferentes masas y patrones de fragmentación (Alder et al., 2006). La elección entre cromatografía gaseosa (CG) o líquida depende de las características fisicoquímicas de los plaguicidas a buscar.

Mediante la cromatografía de gases (GC), la muestra es vaporizada y transportada por la fase móvil gaseosa, y sus componentes se separan mediante su interacción con una fase estacionaria (que puede ser líquida o sólida) contenida en una columna capilar. Esta técnica se aplica al análisis de compuestos volátiles o volatilizables (e.g. mediante derivatización), que además son térmicamente estables (Collins et al., 2006). Aunque GC ha sido muy utilizada para la detección de agroquímicos, la LC especialmente cuando está acoplada a masa masa ha permitido la detección de compuestos más polares, de mayor tamaño, y sobre todo a sus metabolitos y por lo que es más sensible que GC-MS y GC-MS/MS (Alder et al., 2006; Lambropoulou et al., 2007). El principio general de la cromatografía líquida se basa en que una determinada sustancia, al pasar por una columna con una determinada fase estacionaria, es arrastrada por una fase móvil (eluyente), según la afinidad que tenga dicha sustancia por la fase móvil y la estacionaria será el tiempo que demore en atravesar la columna, obteniéndose un tiempo de retención que depende, entre otras cosas del caudal, la longitud y el diámetro de la columna. La instrumentación de un LC, generalmente consta de un reservorio de fase móvil, una bomba, un inyector, una columna, un detector y un sistema de procesamiento de datos. En la columna de cromatografía tiene lugar la separación. El proceso cromatográfico comienza con la inyección de la muestra al inicio de la columna y la separación de los componentes ocurre

cuando los analitos y la fase móvil son bombeados, a alta presión, a través de la columna. El detector puede ser de distintos tipos (UV, Fluorescencia, MS). Según el tipo de detector se pueden identificar diferentes tipos de compuestos. Esta respuesta es posteriormente analizada y procesada con herramientas informáticas específicas encargadas también de controlar todo el sistema.

La espectrometría de masas puede acoplarse a ambas técnicas cromatográficas (GC y LC). Un espectrómetro de masas es un instrumento que convierte los compuestos de una muestra en iones gaseosos y los separa en función de la relación masa/carga. El espectrómetro de masas trabaja variando los voltajes de manera sistemática para llevar iones con masa/carga crecientes o decrecientes hacia el detector (Barcelo, 2005). Estos se pueden clasificar según como se separan los iones, dentro de los que tenemos el cudrupolo (utilizado en esta tesis), sector magnético, y resonancia de ion-ciclotron (Alder et al., 2006).

Respecto a la cuantificación, las áreas de los picos presentes en el cromatograma serán proporcionales a la concentración del compuesto correspondiente y la determinación se puede realizar empleando un estándar externo y/o elaborando curvas de calibración.

Validación de los métodos de extracción

Validar es evaluar el desempeño de un método, y determinar si cumplen las exigencias analíticas pre-establecidas, teniendo como objetivo presentar evidencia de que es adecuado para un propósito específico (INMETRO, 2016). La validación es imprescindible para el caso de métodos no normalizados, es decir aquellos que fueron desarrollados por el laboratorio o métodos nuevos, así como también para métodos normalizados cuando se genera una modificación significativa (Duffau et al., 2010).

Para validar los métodos analíticos de extracción e identificación, se consideran los siguientes parámetros: i) linealidad, ii) efecto matriz, iii) precisión, iv) veracidad y v)

especificidad, según lo establece la guía SANTE/11312/2021. Esta guía contiene directrices específicas sobre control de calidad y procedimientos de validación para métodos analíticos de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos.

- i) La linealidad es la capacidad de producir resultados proporcionales a la concentración del analito en la muestra, determinando que la relación señal en función de la concentración nominal del analito se ajuste a una recta. Se determina por medio de curvas de calibración realizadas en matriz y en solvente para cada agroquímico
- ii) Efecto matriz es el resultado de la modificación de la señal de analito por interferencia de los componentes de la matriz. La forma más precisa de evaluar el efecto matriz sería con la adición de estándares, pero el número de inyecciones por análisis aumentaría tornándolo prohibitivo. Además, el uso de estándares internos en análisis multi-residuo no es aconsejado ya que el efecto matriz depende en gran parte del analito (Kruve et al., 2008). En la práctica el efecto matriz se evalúa mediante la comparación de la pendiente de la curva de calibración de un analito en solvente y en matriz. Si el resultado es menor que cero (valor negativo), la respuesta del analito está siendo suprimida por la matriz. Si es mayor que cero (valor positivo), la respuesta del analito está siendo potenciada por la matriz. Como regla general, las directrices de las mejores prácticas recomiendan que se tomen medidas para compensar si los efectos son superiores al 20 %, minimizando así el error de notificación de concentraciones exactas. Si el efecto matriz es mayor a 20 % o menor a -20 %, se debe realizar la cuantificación utilizando la curva matriz obligatoriamente.

- iii) La precisión, es entendida como el grado de concordancia entre múltiples resultados obtenidos al aplicar repetidamente el mismo método analítico a alícuotas distintas de la misma muestra. Este parámetro se expresa en términos de desviación estándar relativa (RSD). La desviación estándar relativa permite identificar si existen diferencias significativas entre las distintas réplicas. Para esto se hacen recuperaciones, donde se agregan cantidades conocidas del plaguicida a una matriz blanco, se realiza el proceso de extracción y se compara el dato de concentración obtenido contra el esperado según el agregado.
- iv) La veracidad, es la proximidad entre un valor medio obtenido de una serie de resultados y un valor de referencia o valor verdadero. La veracidad se evalúa midiendo las recuperaciones para cada analito con el porcentaje de recuperación.
- v) La Especificidad es la respuesta del blanco de reactivo y en la muestra blanco libre de agroquímicos.

Cuando la linealidad representada como R^2 es mayor a 0,99, la DSR es menor a 20 %, y el porcentaje de recuperación esté entre 70 y 120 % para al menos dos niveles de concentración al mismo tiempo, se considera validado un compuesto según la guía SANTE.

La validación también nos determina el límite de cuantificación, valor a partir del cual podemos cuantificar un agroquímico. Este se define como la concentración más baja de analito que ha sido validada aplicando el método analítico completo, y el límite de detección entendido como la menor concentración a la que se observan en el

cromatograma los picos de cuantificación y confirmación, ambos a un mismo tiempo y con una relación señal/ruido mayor a 3.

Objetivos:

1. Validar QuEChERS como método de extracción para agroquímicos en sedimentos de la cuenca del Arroyo Maldonado.
2. Validar la extracción mediante SPE para agroquímicos en agua.
3. Estudiar la incidencia de algunas propiedades de los agroquímicos en la validación de los métodos de extracción seleccionados.

Pregunta:

¿Existen propiedades fisicoquímicas de los plaguicidas influyentes en el resultado de la validación? Si existen, ¿cuáles son?

Materiales y métodos

Selección de agroquímicos a validar

Para este estudio se analizaron 59 agroquímicos utilizados en nuestro país (tabla 1), 30 son herbicidas, 14 fungicidas y los restantes insecticidas y/o acaricidas. De ellos 35 compuestos tienen un Kow menor a 3 (más hidrofílico), los restantes mayor a 3 (hidrofóbicos), por otra parte 34 agroquímicos seleccionados tienen una masa molecular mayor a 300 g/mol.

Tabla 1. Clasificación y propiedades fisicoquímicas de agroquímicos tomados en cuenta para la validación. Nombre del plaguicida, grupo químico, usos comunes, masa molecular (MM) g/mol, Kow a pH 7, 20 °C, índice de potencial de lixiviación GUS, constante de la ley de Henry a 25 °C (Pa m³ mol⁻¹) (H), degradación aeróbica en suelo en días (DEG), Constante de adsorción en carbono orgánico (Koc) (Universidad de Hertfordshire, Inglaterra).

Compuesto	Grupo	Uso	MM	Kow	Gus	H	DEG	Koc
2.4D	Fenoxiacético	Herbicida	221	0,82	3.82	4.0 x 10 ⁻⁰⁶	4.4	39.3
Acefato	Organofosforado	Insecticida	183.2	0.14	1.14	5,15 x 10 ⁻⁰⁸	3	374
Acetoclor	Cloroacetanilida	Herbicida	269.8	4.14	1.67	2.1 X 10 ⁻⁰³	14	156
Alaclor	Cloroacetanilida	Herbicida	269,77	3.09	0.8	3.20 X 10 ⁻⁰³	14	335
Ametrina	Triazina	Herbicida	227.1	2.63	0,46	4.10 X 10 ⁻⁰⁴	37	316
Atrazina	Triazina	Herbicida	215,68	2.7	2.57	1,50 x 10 ⁻⁰⁴	75	100
Azoxistrobin	Estrobilurina	Fungicida	403.4	2.5	3.1	7,40 x 10 ⁻⁰⁹	78	589
Bentazone	Diazinona	Herbicida	240.3	0,34	1,95	7,20 x 10 ⁻⁰⁵	20	55.3
Bifentrin	Piretroide	Insecticida y acaricida	422,88	6.6	- 2,66	7,74 x 10 ⁻⁰⁵	26	236610
Bispirivac	Carboxipirimidinilo	Herbicida	430.4	1.09	--	--	--	--
Carbaril	Carbamato	Insecticida	201.2	2.36	2.02	9,20 x 10 ⁻⁰⁵	16	300
Carbendazim	Carbamato	Fungicida	191.2	1.48	2.21	3,60 x 10 ⁻⁰³	40	--
Chorimuron	Sulfonilurea	Herbicida	386,77	0.11	--	--	--	--
Cianazina	Triazina	Herbicida	240,69	2.1	2.07	6,60 x 10 ⁻⁰⁶	16	--
Ciproconazol	Triazol	Fungicida	291.8	3.09	3.04	5.00 X 10 ⁻⁰⁵	142	--
Clodinafop propargil	Ariloxifenoxipropionato	Herbicida	349,8	3.9	- 0,08	2,79 x 10 ⁻⁰⁴	0.8	300
Clomazone	Isoxazolidinona	Herbicida	239,7	2.58	2.72	5,9 x 10 ⁻⁰³	22.6	--
Clorantraniliprole	Diamida	Insecticida	483,15	2.86	3.51	3,2 x 10 ⁻⁰⁹	597	4645
Clorpirifós metil	Organofosforado	Insecticida y acaricida	350,58	4.7	0,58	0,478	386	--
Clorsulfuran	Sulfonilurea	Herbicida	357,77	0.99	3.8	3,50 x 10 ⁻¹¹	160	190
Diazinón	Organofosforado	Insecticida	304.4	3.69	1.51	6.09 X 10 ⁻⁰²	9.1	609
Diclosulam	Sulfonanilida	Herbicida	406.2	0,85	2.66	--	49	90
Epoxiconazol	Triazol	Fungicida	329,76	3.3	2.09	1,649 X 10 ⁻⁰⁵	353,5	--
Ethion	Organofosforado	Insecticida	384,48	5.07	0	3,85 x 10 ⁻⁰²	90	10000
Fipronil	Fenilpirazol	Insecticida	437,15	3,75	2.06	2,31 x 10 ⁻⁰⁴	142	--
Flumioxacin	Dicarboximida	Herbicida	354.3	2,55	1.31	0,145	21.9	--
Imazamox	Imidazolinona	Herbicida	305.3	-2.9	3.59	4,9 x 10 ⁻¹²	200.2	--
Imazapic	Imidazolinona	Herbicida	275,30	0,393	4.41	--	120	137

Imazapir	Imidazolinona	Herbicida	261.3	0.11	1,98	$3,00 \times 10^{-07}$	11	--
Imazaquin	Imidazolinona	Herbicida	311.3	0,08	1,74	$3,74 \times 10^{-12}$	60	--
Imazetapir	Imidazolinona	Herbicida	289.3	1.49	3,90	$1,30 \times 10^{-02}$	90	52
Imidacloprid	Neonicotinoide	Insecticida	255,66	0,57	3,69	$1,7 \times 10^{-10}$	191	--
Iprodione	Dicarboximida	Fungicida	330.2	2.99	0.43	$7,00 \times 10^{-06}$	36.2	700
Linuron	Fenilurea	Herbicida	249.1	3	2.11	$2,00 \times 10^{-04}$	57.6	843
Malathion	Organofosforado	Insecticida y acaricida	330.4	2,75	0	$1,00 \times 10^{-03}$	0,17	1800
Metconazol	Triazol	Fungicida	319,83	3,85	2.03	$2,21 \times 10^{-07}$	142.2	--
Metidation	Organofosforado	Insecticida y acaricida	302.3	2.57	1.18	$3,30 \times 10^{-04}$	10	400
Metolaclor	Cloroacetanilida	Herbicida	283,79	3.4	2.36	$2,40 \times 10^{-03}$	90	--
Metribuzin	Triazinona	Herbicida	214.3	1.7	--	$1,71 \times 10^{+05}$	7.03	--
Metsulfuron	Sulfonilurea	Herbicida	367,34	1.7	--	$2,38 \times 10^{-11}$	--	--
Oxifluorfen	Éter de nitrofenol	Herbicida	361.7	4.86	0,23	0,02382	35	--
Pendimethalin	Dinitroanilina	Herbicida	281.3	5.4	0,28	1,27	182.3	--
Penoxulam	Sulfonamida	Herbicida	483.4	0,25	1.56	$2,95 \times 10^{-14}$	21.7	17491
Piraclostrobin	Estrobilurina	Fungicida	387,82	3,99	0,05	$5,31 \times 10^{-06}$	41.9	73.2
Pirazosulfuron	Sulfonilurea	Herbicida	386.3	3.16	--	--	15	154
Pirimetaniil	Anilida	Fungicida	199.3	2.84	2.17	$2,2 \times 10^{-03}$	50.9	300
Pirimifos metil	Organofosforado	Insecticida	305.3	4.2	1.53	0.06	39	500
Procloraz	Amida	Fungicida	376,7	3.5	1,55	$1,64 \times 10^{-03}$	120	149
Propanil	Anilida	Herbicida	218.1	2.29	0,51	$4,4 \times 10^{-04}$	0.4	1086
Propiconazol	Triazol	Fungicida	342.2	3.72	1.58	$9,20 \times 10^{-05}$	71.8	--
Saflufenacil	Uracilo	Herbicida	500,92	2.6	--	--	20	--
Sulfentrazone	Anilida	Herbicida	387,19	0.99	6.16	--	541	--
Tetraconazol	Triazol	Fungicida	372,15	3.56	2.47	$3,60 \times 10^{-04}$	61	43
Thiram	Carbamato	Fungicida	240,43	1.84	0,02	$1,39 \times 10^{-04}$	4.89	--
Tiacloprid	Neonicotinoide	Insecticida	252,72	1.26	1.1	$4,8 \times 10^{-10}$	0,88	--
Tiametoxam	Neonicotinoide	Insecticida	291,71	0.13	3.58	$4,70 \times 10^{-10}$	50	56.2
Trifloxistrobin	Estrobilurina	Fungicida	408.4	4.5	0,15	$2,30 \times 10^{-03}$	0,34	--
Triflumuron	Benzoilureas	Insecticida	358,7	4.9	0,11	$1,79 \times 10^{-03}$	22	--
Triticonazole	Triazol	Fungicida	317,82	3.29	2,70	$1,2 \times 10^{-06}$	237	374

Validación de la extracción QuEChERS para agroquímicos en sedimentos de la cuenca del Arroyo Maldonado

El método QuEChERS empleado había sido previamente validado por otro grupo de trabajo en el laboratorio del Departamento de Química del Litoral en Paysandú para suelo (Alonzo et al., 2018), el mismo se adaptó a las instalaciones del laboratorio del CURE y se procedió a validarlo usando como matriz el sedimento de las nacientes de la cuenca del Arroyo Maldonado.

Para validar los métodos de extracción se tomó como base los parámetros y criterios establecidos en el documento SANTE/11312/2021 por lo que se hizo el cálculo de linealidad, veracidad, efecto matriz, precisión y especificidad.

Se utilizaron muestras de sedimento de las nacientes del Arroyo Maldonado y San Carlos como blancos (previamente analizadas para constatar que no tenían plaguicidas ni sus residuos) para las diferentes pruebas. Se trasladaron al laboratorio refrigeradas para posteriormente ser homogeneizadas y tamizadas con malla de 2 mm.

Secado de las muestras

Para realizar el secado se liofilizaron las muestras de sedimento en tubos de centrifugación de 15 ml, tapados con parafilm al cual se le hacen pequeñas perforaciones. Permanecieron 72 horas en el liofilizador (TelstarLyoQuest) a -58°C y 0.2 mBar (figura 2, A), a las 48 horas se pesó, luego se colocaron nuevamente las muestras 24 horas más, y se volvió a pesar para constatar que no hubo variación y que el agua se eliminó por sublimación. Posteriormente se retiraron las muestras, se taparon y almacenaron en el congelador hasta ser utilizadas. Este proceso se realizó para todas las muestras de sedimentos con las que trabajamos en la validación y posteriormente en el monitoreo de agroquímicos en la cuenca.

Extracción con QuEChERS

El método QuEChERS diseñado en el laboratorio del Departamento de Química del Litoral en Paysandú para suelo utiliza un paso de agitación por ultrasonido durante 5 minutos, en esta tesis en los laboratorios de CURE Maldonado se modificó este paso y se utilizó el agitador Orbital Kline durante 20 minutos (Figura 1). Se pesaron 10 g de sedimento (Balanza Scout pro Ohaus) tamizado de 2 mm y se colocaron en un tubo de centrifugación de 50 ml, se agregaron 10 ml de agua ultrapura (Nanopure Thermoscientific) a cada muestra. Se agitó por 1 min en vortex (FANEM), se dejó reposar por 10 minutos y se adicionaron 10 ml de acetonitrilo (ppa ACS Dorwil). Se agitó nuevamente 1 min en vortex, y posteriormente se le agregaron las sales para salting-out (1 g de cloruro de sodio (NaCl), Mallinck Rodt) y 4 g de sulfato de magnesio anhidro (MgSO₄, J.T. Baker) pesados con balanza Sartorius Cpa 225D.

Posteriormente se agitó manualmente 3 minutos y se colocó en Agitador orbital por 20 minutos. Luego se centrifugó por 5 minutos a 3500 RPM (Sorval) se tomaron 5 ml de sobrenadante (figura 2, B) en tubos de centrifugación de 15 mL conteniendo las sales de limpieza (clean-up) (0,625 g MgSO₄ y 0,125 g óxido de aluminio (Al₂O₃) Fisher Chemical). Se llevó nuevamente a vortex por 1 minuto y se centrifugó por 5 minutos a 3500 rpm. Finalmente, el extracto así obtenido se filtró con por filtro de jeringa con membrana de PVDF de 25 mm de diámetro y tamaño de poro de 0.45 µm. Se colectó el sobrenadante en un nuevo tubo de centrífuga de 15 ml y se almacenó a -20 °C hasta realizar el análisis.

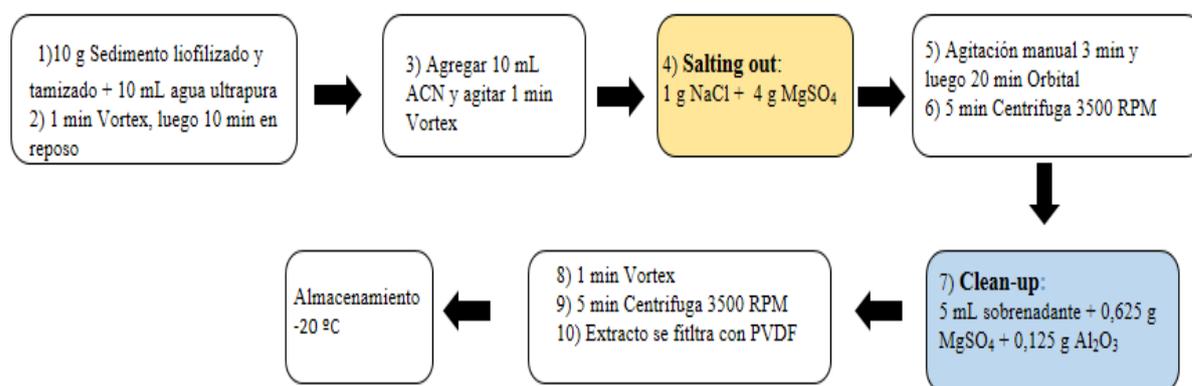


Figura 1. Pasos del método QuEChERS utilizado en esta investigación.

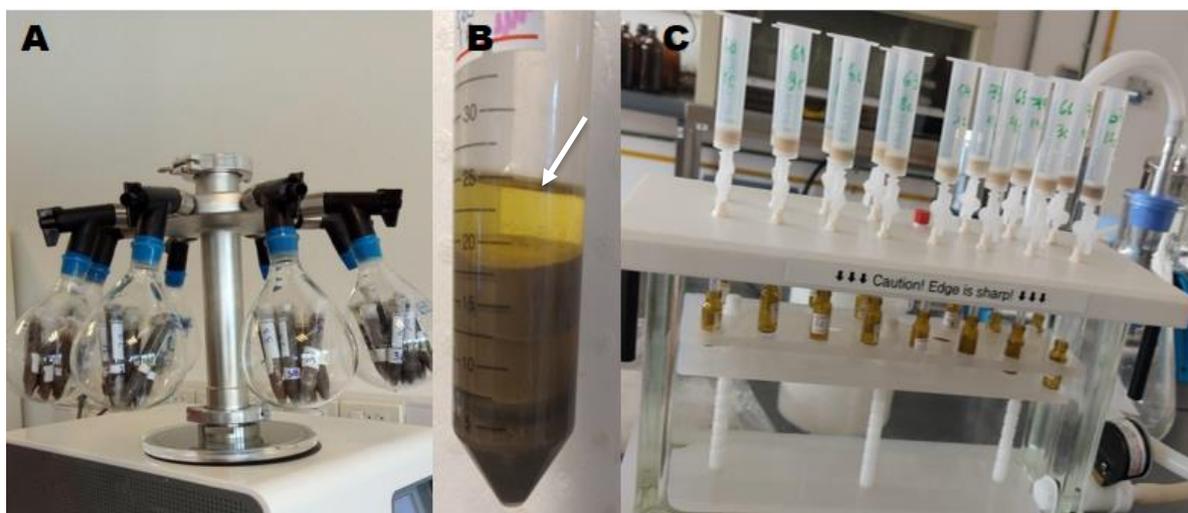


Figura 2. A, Muestras de sedimento siendo liofilizadas; B, Tubo Fálcon donde se realizó el QuEChERS luego de ser centrifugado, flecha indica el sobrenadante; C, Extracciones con cartuchos OASIS en un Manifold acoplado a una bomba de vacío en CURE Maldonado.

Recuperaciones

Los agroquímicos utilizados fueron obtenidos a partir de estándares sólidos (Dr. Ehrenstorfer) con purzas mayores a 95 %. Para cada compuesto se realizó una solución madre a 2000 mg L⁻¹ en solventes adecuados, y luego guardados en viales de vidrio en

freezer a -40 °C. A partir de los mismos se realizó un mix de trabajo a 10 ppm en ACN y se realizaron diluciones posteriores según necesidad.

A partir de los blancos de sedimento mencionados previamente se realizaron recuperaciones a 10, 25, 50 y 100 µg/kg (n=5).

Para la cuantificación se utilizaron curvas de calibración en matriz y en solvente con 7 puntos cada una (5, 10, 25, 50, 100, 150 y 200 µg/kg). En el caso de la curva en matriz se utilizó extracto de sedimento blanco en lugar de solvente.

En cada tanda de extracción se realizaron blanco de muestra y de reactivos. Para este último no se utiliza muestra, ya que su función es demostrar que tanto los materiales como los reactivos utilizados no tienen influencias en el método.

Validación de extracción de agroquímicos en agua mediante SPE

Para realizar la validación de extracción de agroquímicos en agua mediante SPE con cartuchos OASIS se tomó como matriz blanco agua ultrapura (Nanopure Thermoscientific).

Las extracciones se realizaron con ayuda de un Manifold (Thermo scientific 16 Port glass Block Vacuum manifold) que, ayudado por una bomba de vacío (Diaphragm vacuum pump model gm 1.0 200 mbar Motor power 160 w, 60 l/min), permitió el pasaje de la muestra por los cartuchos de SPE a flujo constante (figura 2, C).

Para activar los cartuchos se pasaron por los mismos 6 ml de metanol PPA y 6 ml de agua purificada, ambos a flujo constante de aproximadamente 1 gota por segundo. Luego se pasaron 500 ml de muestra, finalizando con una elución con 4 ml de ACN ppa.

Posteriormente de los 4 ml se tomaron 3 ml y se llevaron a sequedad bajo corriente de nitrógeno, se retomaron en 0.5 ml de ACN para tener un factor de concentración de 750.

De esta forma se logra aumentar la concentración de la muestra para adecuarse a los límites propios del equipo y lograr analizar a niveles de analito menores.

Recuperaciones

Se hicieron recuperaciones a 3 niveles (0,01; 0,05; 0,1 µg/l) que al momento de realizar la inyección teniendo en cuenta el factor de concentración correspondieron a 7,5, 37,5 y 75 µg/l. Se utilizaron las mismas soluciones madres almacenadas en idénticas condiciones que para sedimento. Se utilizaron curvas de calibración en solvente y en matriz.

Detección y cuantificación de los agroquímicos

Se usó un espectrómetro de masas en tandem tipo triple cuadrupolo para realizar los análisis. El equipo utilizado fue un HPLC Agilent 1200 series acoplado a un espectrómetro de masas 4000 QTrap de AbSciex. Este se utiliza en modo MRM (monitoreo de reacciones múltiples) en modo positivo y negativo (anexo, tablas 17 y 18). La columna utilizada fue una ZORBAX Eclipse XDB-RP-C18 (0,5 µm de tamaño de partícula, 150 mm × 4.6 mm) de Agilent. Para el método positivo, las fases móviles empleadas fueron A: Agua con 2 % metanol, 0.1 % ácido fórmico y 5 mM de formiato de amonio, B: metanol con 2 % agua, 0.1 % ácido fórmico y 5mM de formiato de amonio. El gradiente utilizado comienza con 10 % de A mantenido por 3 minutos, luego se va incrementando hasta 100 % en 17 minutos y se mantiene por 5 minutos, a continuación, se disminuye nuevamente a 10 % donde se mantiene por 5 minutos para completar la corrida de 33 minutos. El flujo se mantiene a 0,6 ml/min durante toda la corrida. El método en modo negativo emplea fase móvil A: ácido fórmico al 0.1% y B: acetonitrilo. Nuevamente se mantiene un flujo de 0.6 ml/min, la corrida comienza 30 % en B, y se mantiene por 10 min, luego queda a 100 % en B por 13 min, para terminar por 7 min a 30 % en B.

Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa R con la interfaz de RStudio. En primera instancia se evaluó con test de Shapiro la normalidad de los residuos y se realizó el test de F para evaluar la significancia de las variables.

Se realizaron regresiones simples entre las concentraciones utilizadas para generar la curva en matriz, y el área de los cromatogramas de las recuperaciones. Se calcularon las pendientes y los R^2 con sus respectivos desvíos.

Luego se realizó la prueba de razones de verosimilitud para evaluar si las propiedades fisicoquímicas de los plaguicidas tienen influencia en el resultado de la validación.

Se ajustó utilizando modelos de máxima verosimilitud con una estructura diferente al siguiente modelo general:

$$y = a + b_i x + \varepsilon$$

Fórmula $\varepsilon \approx N(0, e_i \sigma^2)$

Donde a es una intersección común, b_i es el coeficiente de la media de los grupos (i), ε son los residuos que siguen una distribución Normal (N) con media 0 y varianza s^2 , y e_i es un coeficiente para los cambios en la varianza de los grupos. Los tres modelos se instalaron utilizando la función "gls" del paquete {nlme}:

- i) media variable para cada grupo e igual varianza ($b_i, e_i=1$),
- ii) media igual y varianzas diferentes para cada grupo ($b_i, =0, e_i$),
- iii) media y varianzas diferentes para cada grupo (b_i, e_i).

Posteriormente para corroborar si existían diferencias significativas entre las variables consideradas de compuestos validados y no validados, las pendientes y los R^2 de las curvas, se buscó la relación de probabilidad logarítmica entre los modelos i y iii para evaluar las diferencias de varianza entre los grupos y ii y iii para evaluar las diferencias en los valores medios entre los grupos. La hipótesis nula fue que la razón de probabilidad logarítmica sigue una distribución de Chi cuadrado.

Se verificó si había problemas de multicolinealidad entre las variables explicativas consideradas (Kow, Koc, índice de lixiviación GUS, constante de Henry, masa molecular), utilizando la función VIF considerando que hay colinealidad si el resultado obtenido es mayor a 5.

Para analizar los resultados de validación y poder hacer inferencias y predicciones con los mismos, se utilizaron métodos de aprendizaje automático supervisado, más precisamente árboles de clasificación (CART), usando las funciones `r part` y `rpart plot`. Los árboles de clasificación CART son uno de los más utilizados, entre otras cosas debido a la sencillez de los modelos obtenidos (Roche, 2009). Permiten visualizar claramente la importancia de cada una de las variables consideradas en el resultado final. También es útil para predecir en función de las variables explicativas, el resultado validado si o no (categoría binomial).

Se crearon diversos árboles visualizando los resultados en función del `minsplit` (mínimo de observación para dividir un nodo), del `cp` (parámetros de complejidad), hasta quedar con nodos terminales lo más puros posibles. Luego mediante el criterio de poda se llegó al árbol óptimo que hiciera más eficiente el complejo sesgo/varianza y que maximizó la bondad de la partición. Para eso se optó por el árbol más chico de los que tienen la menor suma de error de validación cruzada más error estándar (Breiman et al., 1984). Para el cálculo del error se usó la función `Loop For` en R, donde se parte en forma aleatoria múltiples veces la base de datos en tercios.

Para ello se tomaron como variables explicativas las propiedades fisicoquímicas de los diferentes compuestos usados para la validación como son coeficiente octanol/agua, coeficiente de lixiviación GUS, constante de volatilización de Henry, masa molecular y se le agregó el efecto matriz calculado en la validación. Algunos compuestos quedaron afuera del análisis de CART por no conocerse algunos datos de sus propiedades

fisicoquímica, por lo que se trabajó con 47 compuestos. El Koc no fue tomado en cuenta porque esta propiedad no está determinada para muchos de los compuestos evaluados lo que bajaba considerablemente en número de datos a trabajar y la solubilidad no se considero por el hecho de que indirectamente está reflejada en el Kow.

Se obtuvo un acierto del 83% a partir de la tabla de confusión. Cuando se realizó el árbol con la muestra de entrenamiento hubo un acierto de $77\% \pm 13$, y con la muestra test fue del $53\% \pm 11$.

Luego en una segunda etapa en función de esas mismas variables explicativas se buscó la posibilidad de predecir el resultado de una validación, comparando diferentes modelos con variable de respuesta binomial (validado sí o no) como GLM, Random Forest (RF), CART y Boosting. Para GLM la función `dnorm`, CART se usaron las funciones `rpart` y `rpart.plot`, Random Forest y `adabag` para RF y Boosting, todos en R

Resultados

De los cromatogramas obtenidos por ambos métodos (positivo y negativo) se obtuvieron tiempos de retención (figura 3) para los compuestos analizados y se pudieron observar al menos dos transiciones por cada agroquímico. Una llamada de cuantificación porque es la que se utilizó para realizar la cuantificación de los resultados y la de confirmación que permite, como su nombre indica, confirmar la identificación del compuesto (Anexo, tablas 19 y 20).

Estos resultados cromatográficos indicaron que la separación e identificación de agroquímicos analizados fue la necesaria.

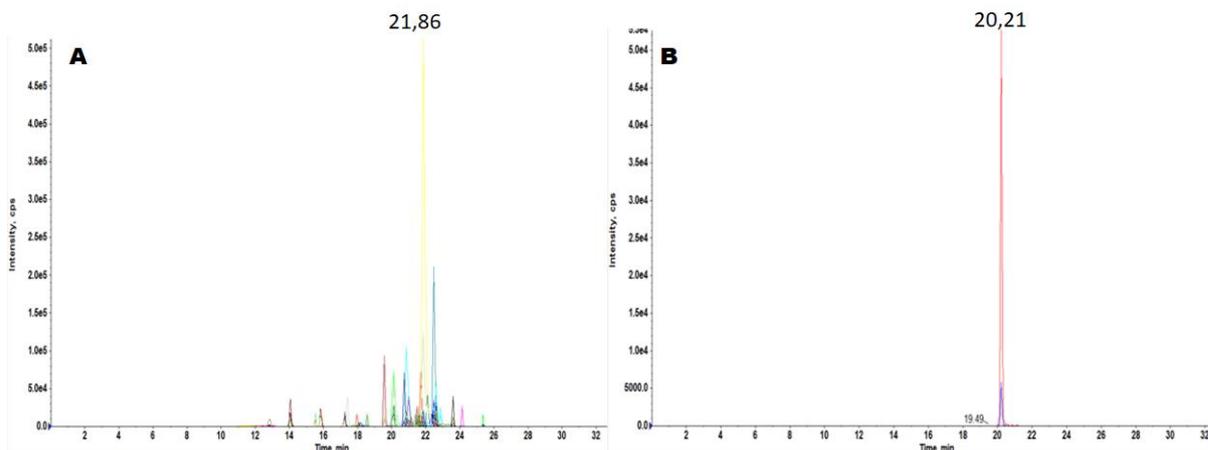


Figura 3. Cromatogramas de cuantificación de extracción en sedimento. A, Cromatograma de extracción de Metolaclor; B, Cromatograma de extracción de Azoxistrobín.

Validación de QuEChERS como método de extracción de agroquímicos en sedimento

Se logró la validación de 28 agroquímicos (tabla 2) para extraer del sedimento con el método QuEChERS adaptado en CURE. De estos compuestos un 46 % fueron herbicidas, 29 % fungicidas y el restante 25 % insecticidas.

Tabla 2. Lista de agroquímicos validados en sedimento, linealidad (Lin) para curva solvente (CS), linealidad para curva matriz (CM), efecto matriz, porcentaje de recuperación (REC) y desviación estándar relativa a 10, 25, 50 y 100 µg/kg respectivamente. Se marca en negrita los resultados que cumplieron las exigencias establecidas para la metodología.

Agroquímico	CS	CM	Efecto Matriz %	REC 10 µg/kg		REC 25 µg/kg		REC 50 µg/kg		REC 100 µg/kg	
	Lin µg/kg	Lin µg/kg		DSR	%Rec	DSR	%Rec	DSR	%Rec	DSR	%Rec
Acetoclor	10-200	10-200	-13	2,5	118	1,9	123	2,3	100	1,1	124
Ametrina	25-200	10-200	-18	---	---	1,1	132	3,5	109	1,0	133
Atrazina	25-200	10-200	-15	2,2	115,3	2,3	129,5	3,5	107,1	3,7	132,4
Ciproconazol	25-150	10-150	-44	---	---	5,2	118	11,3	98	2,5	120,8
Diazinon	25-150	5-200	-3,2	5,1	122,7	5,7	124,3	8,9	118,7	1,4	86,8
Epoxiconazol	10-200	10-200	357,76	11,58	123,51	7,44	113,85	6,10	84,60	11,61	107,01
Imidacloprid	5—50	10—100	41,9	18,05	104	0,39	109	13,2	88,4		
Metsulfuron	10-200	10-200	-38.026	3.622	112.865	5.832	119.761	3.903	95.658	3.378	127.306
Pendimethalin	25-200	5-200	-21.499	9.262	112.946	2.175	124.393	6.554	98.486	3.486	128.336
Pirimifos	25-200	10-200	188.278	11.371	117.886	4.395	130.258	2.624	95.607	3.855	125.942
Propanil	25—100	5—100	366	13,76	70,36	17,2	96,1	11	28,8		
Tetraconazol	25-200	25-200	-54,56	---	---	3,07	131,75	14,42	111,69	4,69	119,10
Trifloxistrobin	10—100	5—100	74,8	4,9	106	9,3	16,6	18,7	112		
Chorimuron	5-200	10-200	-44	6,3	105	9,2	118	7,9	85	16,8	116
Carbendazim	5—100	5—100	5,1	6,42	62,5	8,98	78	10,14	99,7		
Metolaclor	5-150	5-200	13	18,1	113	4,2	133	19,1	109	0,8	137
Clodinafop propargil	5-200	10-200	-2	4,3	107	7,6	120	10,1	92	16,2	100
Ethion	10-200	5-200	78,08	7,08	116,07	0,32	121	10,33	109,79	5,59	139,40
Flumioxacin	5-150	5-150	69,58	3,24	117,16	6,96	120	4,68	107,24	6,12	141,89
Linuron	10-200	5-200	-38,44	5,32	108,21	3,34	129,89	14,18	89,37	3,65	113,50
Metconazol	10-150	10-200	-49,91	8,49	121,11	8,44	119,96	1,33	83,59	9,44	113,29
Methidation	10-200	10-200	-57	5,9	73	10,2	128	1,2	119	1,1	174
Triticonazole	50-150	50-200	352	---	---	---	---	63,4	99	9,6	98
Bentazone	10-150	25-200	-17	---	---	8,9	79	13,0	25	2,0	73
Diclosulam	25-200	10-200	-10	---	---	20,7	99	4,2	82	3,7	104
Fipronil	5—100	5—50	35,4	14,4	83,6	10,3	90	5,6	98		

Triflumuron	5—100	5—100	-2,8	4,6	83	1,3	100	1,3	103,6		
Iprodione	10-200	5-150	46	19,7	112	3,9	131	18,2	106	8,5	120

Dentro de los agroquímicos que no se pudieron validar, hay 18 (tabla 3) que cumplen todas las exigencias que marca la guía SANTE solo a un nivel de recuperación. Estos compuestos si tienen un porcentaje de recuperación superior al 120 % recomendado pero inferior a 140 % o menor al 70 % pero mayor que 30% y con un DSR menor o igual a 20, se puede hacer una corrección para cuantificarlos como establece la guía SANTE sección G6. De estos tenemos que la mitad son herbicidas, y los restantes insecticidas y fungicidas en partes casi iguales.

Tabla 3. Agroquímicos que cumplen exigencias a un nivel, y están al límite de cumplirlo para quedar validados en otro, linealidad (Lin) para curva solvente (CS), linealidad para curva matriz (CM), efecto matriz, porcentaje de recuperación (REC) y desviación estándar relativa a 10, 25, 50 y 100 µg/kg respectivamente. Se marca en negrita los resultados que cumplieron las exigencias establecidas para la metodología.

Agroquímico	C S		C M		REC 10 µg/kg		REC 25 µg/kg		REC 50 µg/kg		REC 100 µg/kg	
	Lin µg/kg	Lin µg/kg	Efecto Matriz %	DSR	%Rec	DSR	%Rec	DS	%Rec	DSR%	%Rec	
Alaclor	5—50	5—100	-24	8,9	80,8	10,4	123,6	99,2	8,4	---	---	
Azoxistrobin	5-200	10-200	453	0,4	131	0,7	145	4,6	115	2,2	147	
Clorpirifós	10-200	10-200	206	1,3	139	2,6	138	5,4	109	1,3	137	
Clomazone	10-200	25-200	-16	---	---	3,2	154	3,9	116	2,8	143	
Propiconazol	25-200	25-200	-35	---	---	6,1	147	6,0	115	0,7	136	
Piraclostrobin	5-200	10-200	-43	3,1	134	3,9	146	11,7	121	10,5	153	
Bifentrin	25-200	5-200	-36	---	---	1,4	138	6,5	117	1,3	156	
Bispirivac	50-150	10-200	270	---	---	---	---	0,6	50	12,1	71	
Clorantraniliprole	5-200	5-200	-18	0,8	135	0,5	162	2,5	135	0,2	166	
Metribuzin	25-150	10-200	-37	---	---	0,3	133	3,6	120	2,1	147	
Pirazosulfuron	5-200	25-200	12	---	---	7,1	146	14,5	110	7,0	129	
Procloraz	50-200	25-200	-53	---	---	---	---	6,7	107	3,8	140	
Imazaquin	10—100	25—100	369	---	---	0,95	86	29	46,6			

Imazetapir	25-200	25-200	-32	---	---	13,4	46	11,5	30	6,0	31
Sulfentrazone	10-100	25-200	32	---	---	---	---	7,8	100	0,4	127
Thiram	25-150	50-200	-20	---	---	21,5	266	21,2	133	10,1	72
Cianazina	25-200	10-200	-28	---	---	5,3	133	2,8	107	3,4	138
Clorpirifós metil	25-200	10-200	-21	---	---	13,8	137	12,3	104	2,1	131

En última instancia, 12 compuestos no pudieron validarse a ningún nivel (tabla 4).

Tabla 4. Agroquímicos no validados a ningún nivel, linealidad (Lin) para curva solvente (CS), linealidad para curva matriz (CM), efecto matriz, porcentaje de recuperación (REC) y desviación estándar relativa a 10, 25, 50 y 100 µg/kg respectivamente. Se marca en negrita los resultados que cumplieron las exigencias establecidas para la metodología.

Agroquímico	C S		Efecto Matriz %	REC 10 µg/kg		REC 25 µg/kg		REC 50 µg/kg		REC 100 µg/kg	
	Lin µg/kg	Lin µg/kg		DSR	%Rec	DSR	%Rec	DS	%Rec	DSR%	%Rec
24D	25-200	10-200	-5	---	---	11,5	17	16,6	11	12,1	10
Tiametoxam	25-200	10-200	-77	---	---	0,8	149	9,4	127	3,4	168
Tiacloprid	25-200	25-200	-4	---	---	1,7	166	2,5	125	1,1	164
Imazapic	10-200	10-200	-16	12,4	39	13,4	20	16,6	15	6,6	16
Clorsulfuron	5-100	25-200	6,3	157	1,5	138	6,3	116	1,4	144	157
Carbaril	5-150	10-100	-65	0,8	135	1,5	182	4,1	182	5,0	241
Imazapir	10-200	10-200	-15	23,8	38	2,9	16	9,8	9	8,4	7
Saflufenacil	10-200	25-200	126	8,0	175	1,7	153	5,5	117	2,4	163
Pirimetamil	5-200	25-200	-19	8,8	158	1,4	141	9,5	119	4,9	148
Penoxulam	5-200	25-200	278	0,8	148	1,0	142	4,0	111	3,6	148
Oxifluorfen	100-200	100-200	874	---	---	---	---	---	---	10,1	121
Malathion	25-200	50-150	96	---	---	1,3	621	1,1	463	0,9	304

Validación de extracción de agroquímicos en agua con cartuchos Oasis

La extracción mediante SPE con cartuchos Oasis no permitió validar ninguno de los compuestos seleccionados en esta tesis (tabla 5).

Tabla 5. Agroquímicos que se intentaron validar en agua, linealidad (Lin) para curva solvente (CS), linealidad (Lin) para curva matriz (CM), efecto matriz y porcentaje de recuperación (REC) a 0,01, 0,05 y 0,1 µg/L respectivamente. En negrita lo que cumple requisitos de SANTE.

Agroquímico	C S		C M		REC 0.01 µg/L		REC 0.05 µg/L		REC 0.1 µg/L	
	Lin µg/L	Lin µg/L	Efecto Matriz %	DSR%	%Rec	DSR%	%Rec	DSR%	%Rec	
Imidacloprid	25-150	5-150	-52	10,8	19,57	11,69	45,99	3,72	46,1	
Alaclor	25-150	25-150	-43	10,2	-23	21,1	24,8	18,2	29,3	
Azoxistrobin	25-150	25-150	-39	6,5	-73	8,3	26,6	4	33,6	
Ametrina	25-150	25-150	-38	5,2	-48	12,7	28	10,1	36	
Atrazina	25-150	5-150	-34	8,5	-49	14,4	27	12,1	34,5	
Bispirivac	5-100	25-150	-28,7	15,8	-110	7,5	27	7,6	38,7	
Carbaryl	25-150	25-150	-43	35,7	-115	34	2,7	22,2	15,2	
Carbendazim	5-100	5-150	-49,7	7,3	24,6	8,3	38,8	3,2	40,7	
Chorimuron	25-150	10-150	-49	8,3	16	7,7	42	2,9	44	
Chlorpirifos	25-150	25-150	-45	28,4	-71	18,3	0,6	31,9	4,2	
Clorpirifós metil	50-150	25-150	-39,3	15,9	-98	7,8	-10,3	14	0,8	
Clorsulfuran	25-150	10-150	-51	9,2	20	7,3	41	10,7	43	
Cyanazine	25-150	10-150	-44	4,7	23	7,8	44	6	47	
Diazinon	25-150	25-150	-42	20,9	-75	14,2	8,9	12,3	11,6	
Epoxiconazol	25-150	5-150	-49,8	11,31	72	2,1	50,3	11,8	44,4	
Ciproconazol	25-150	25-150	-41	20,4	-34	19,5	31,2	13,3	38,8	
Imazapyr	25-150	10-150	-37	25,1	24,2	21,8	5,7	20	3,6	
Malathion		25-150	-60	8,5	-12,5	18,8	37,4	12,7	34,5	
Penoxsulam	25-150	25-150	-55	10,8	4,6	9	42	6,7	45	
Pirimifos	25-150	25-150	-35,8	18,6	-96	18,2	9,3	12,2	17	
Propanil	25-150	25-150	-33	10,5	-54	8,2	28	6,9	39	
Pendimethalin	25-150	25-150	-48	9,9	-52	18	9,9	17,7	8,6	
Tebuconazol	25-150	5-150	-45,6	18	24,5	15,7	50	19	45	
Tetraconzaol	25-150	50-150	-48	18,6	-14	6,6	39	13	38	
Thiamethoxan	25-150	50-150	-25	10,5	-466	9,9	-32	9,8	19	
Bifentrin	25-150	25-150	-45,8	14,4	-61	13,7	1	11,6	4,2	
Clodinafop propargul	25-150	25-150	-40	55,3	-78	28,3	0,5	27,8	8,8	
Clorantraniliprole	25-150	10-150	-50,7	18	37	17,5	49	3,6	47	

Ethion	25-150	25-150	-41,7	8,4	-65	7,5	12	6,8	13,6
Flumioxacin	25-150	25-150	-28	46	-144	20,9	-	14,9	-0,44
Imazamox	25-150	5-150	-38	25	23	16	7,4	17,5	7,3
Imazapic	25-150	5-150	-33	47,7	10,3	15,9	4,1	15,5	4,5
Imazaquin	50-150	10-150	-25,7	22,7	42	15,3	27	15,3	24,9
Imazethapyr	25-150	10-150	-36,3	20,1	37	14,4	12,9	16,6	10,9
Iprodione	25-150	25-150	-35	56,7	-200,1	8,3	-38	22,7	-18
Linuron	25-150	25-150	-40	7,7	-63	12,3	25,5	7,2	34,5
Metconazol	25-150	5-150	-44	11	36	8,1	47,4	7,8	42,6
Metribuzin	25-150	25-150	-33,5	3,2	-7,5	6,7	34	8,7	39
Oxyfluorfen	50-150	50-150	7,9	40,8	-460	20,9	-70	16,5	-28
Picloram	100-150	150							
Pirazosulfuron	50-150	25-150	-36	32,8	-117	3	6,8	20,9	24
Procloraz	25-150	25-150	-37	28,5	-20	8,2	25,4	6,4	29,3
Pyrimetanil	25-150	10-150	-39,9	11,9	10	26	30	16	28
Saflufenacil	25-150	25-150	-51	19	-22	12,9	30,5	9,2	38
Sulfentrazone	25-150	25-150	-49,5	27	-48,7	10,8	29,3	8,6	36,6
Thiacloprid	25-150	25-150	-33	5	-61	10,8	30,5	5,3	43
Thiram	25-150	50-150	113	25	429	15	90	47	43
Triticonazole	25-150	25-150	-41	9	-37	3,8	35	4,8	38,7
Tropamezona	50-150	25-150	-37	17	19	14,8	24,7	18,6	24
Bentazone	25-150	50-150	-18,6	7,5	-450	12,4	-	5,7	29,5
Dicamba	25-150	10-150	-15,6	111	-41	32	-	46	1,21
Diclosulam	25-150	25-150	-36,5	6,4	-91	13,9	17,7	6,9	36,6
Imaxamox	25-150	10-150	-38	21,3	18,1	5,5	7	7,9	6,8
Imazapic	25-150	10-150	-35	71	38,6	42,4	9,5	23,8	6,7
Imazethapir	25-150	10-150	-29	21	28,8	10	10,9	15,8	9,8

Análisis estadísticos de los resultados de la validación

Las regresiones que se realizaron (anexo, figura 25) entre la concentración y el área de las recuperaciones arrojan que el R^2 de los compuestos validado es de $0,88 \pm 0,17$ mientras que los no validados (incluyendo los validados solo a un nivel) su R^2 es de $0,94 \pm 0,11$ (figura 5). Por otra parte, la media de las pendientes de los compuestos validados es de 8645 ± 10533 mientras que la de los no validados es de 5061 ± 8791 (figura 4).

Las medias y las varianzas de las pendientes no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$) para los productos validados y no validados según la prueba de razones de

verosimilitud, pero sí se registró una varianza significativamente diferente para el R^2 de los dos grupos aunque no para la media del mismo.

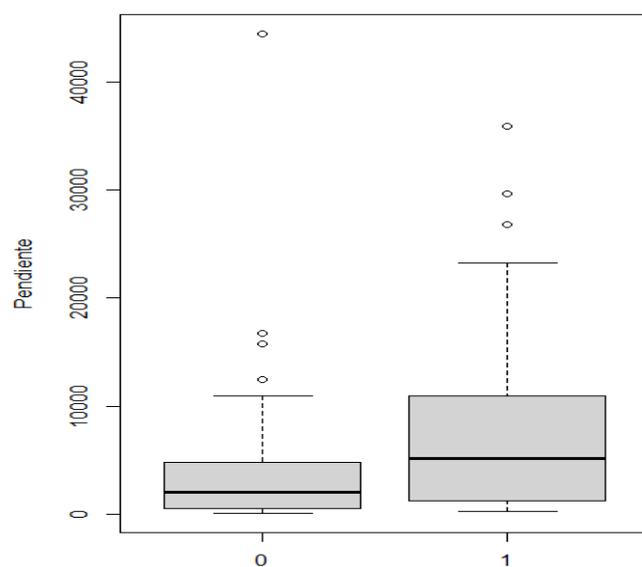


Figura 4. Boxplot de la pendiente de validación para los compuestos no validados (0) y los validados (1). La caja gris representa el rango intercuartil (RIC= 25 y 75%) y la línea negra la mediana de cada grupo. Los segmentos verticales punteados representan 1.5 x RIC y los datos que exceden esos valores son considerados extremos y se muestran como círculos.

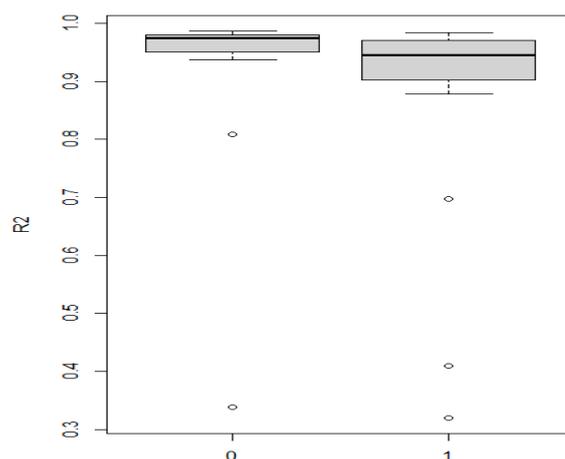


Figura 5. Boxplot de los coeficientes de determinación (R^2) para los compuestos no validados (0) y los validados (1). La caja gris representa el rango intercuartil (RIC= 25 y 75%) y la línea negra la mediana de cada grupo. Los segmentos verticales punteados representan $1.5 \times$ RIC y los datos que son considerados extremos se muestran como círculos.

Para explicar los resultados de la validación se tomó en cuenta las propiedades fisicoquímicas de los compuestos y el efecto matriz calculado.

Los resultados de función VIF para ver colinealidad entre las diversas variables explicativas consideradas: Efecto matriz (EM), Coeficiente octanol agua (K_{ow}), Masa molecular, Coeficiente de lixiviación GUS, Contante de Henry y Koc indicaron ausencia de colinealidad entre las variables, siendo 1,2 para efecto matriz, 1,5 para K_{ow} , 1,1 masa molecular, 1,2 GUS, 1,1 para constante de Henry y 1,3 para Koc.

Se generaron diferentes modelos lineales generalizados (GLM) con las variables explicativas consideradas en esta tesis (tabla 6), y ninguna resultó significativa para explicar el resultado de la validación (variable binomial) lo que nos indica que la variable

respuesta no es lineal por lo que ninguna mejora la capacidad de saber si un compuesto será validado o no.

Tabla 6. Modelos lineales generalizados (GLM) con la variable de respuesta binomial validado si o no y las variables explicativas coeficiente octanol agua (Kow), índice de lixiviación GUS, Masa molecular, Constante de Henry (H), Efecto matriz (EM) y coeficiente de absorción carbono orgánico (Koc), con su respectivo p valor para el modelo.

Variable	P valor
Kow	0,13
GUS	0,53
Masa Molecular	0,06
H	0,46
EM	0,12
Koc	0,42

La prueba de razones de verosimilitud evidenció que las medias y las varianzas de las propiedades fisicoquímicas no fue significativamente diferentes ($p > 0.05$) para los productos validados y no validados (figura 6).

El árbol de clasificación (figura 7) evidencia que los compuestos con masa molecular menor o igual a 356 g/mol y con un coeficiente Kow mayor a 2,5 (hidrófobos) fueron clasificados como validados (21 en 47 agroquímicos). Del restante no validados, el 23% (11 compuestos) presentaron una masa molecular mayor a 356 g/mol. Los otros compuestos no validados tuvieron un Kow menor a 2,5 (hidrofilicos), dentro de los que un 23% tuvieron una supresión de la señal cromatográfica (EM menor a -3.3%) mientras que un 9% presentó una sobre estimación (EM mayor a -3.3%).

Los resultados del CART con los datos de la validación muestran que compuestos con una masa molecular mayor a 356 g/mol no fueron validados, este es el caso de

Tetraconazol, Sulfentrazone, Saflufenacil, Piraclostrobin, Procloraz, Pirazosulfuron, Penoxulam, Oxifluorfen, Etión, Clorantraniliprole, Bispiribac, Bifentrin, Clorsulfuron y Azoxistrobin, lo que representa el 26% de los compuestos analizados. Sin embargo el Diclosulam, Iprodione, Clorimuron y Trifloxistrobin que si bien tienen una masa molecular alta, se validaron.

Con respecto a coeficiente octanol/agua la validación arrojó que los plaguicidas validados tienen un promedio de $2,9 \pm 1,4$, frente a los parcialmente validados $2,7 \pm 1,6$ y no validados de $1,8 \pm 1,4$ lo que coincide con el análisis del CART.

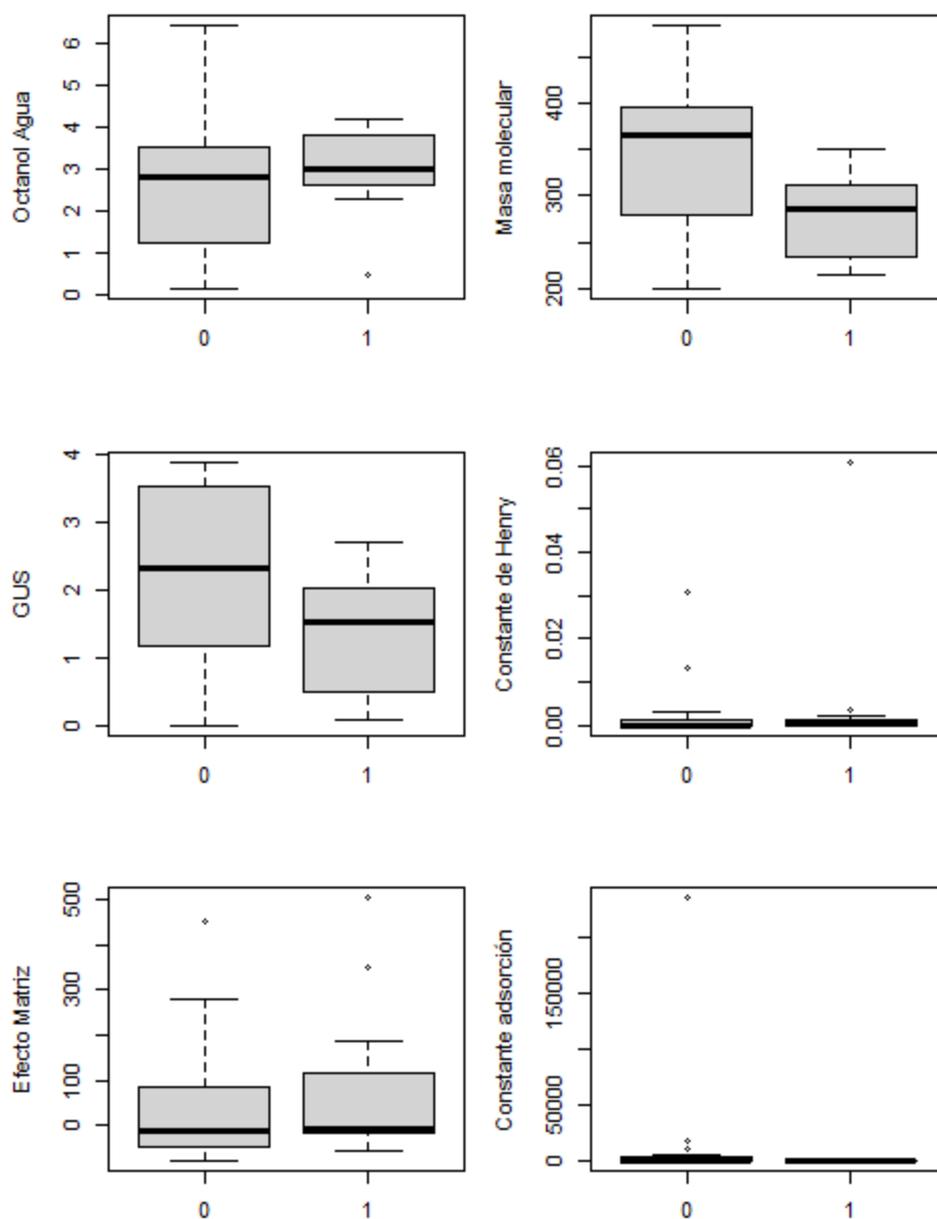


Figura 6. Boxplot de los valores de las propiedades fisicoquímicas de los compuestos no validados (0) y los compuestos validados (1). Se compara la distribución entre ambos grupos del coeficiente octanol agua (Octanol Agua), la Masa molecular, el coeficiente de lixiviación (GUS), la constante de volatilización de Henry, el Efecto Matriz calculado en la validación y la constante de adsorción (K_{oc}). Los segmentos verticales punteados representan $1.5 \times \text{RIC}$ y los datos que son considerados extremos se muestran como círculos.

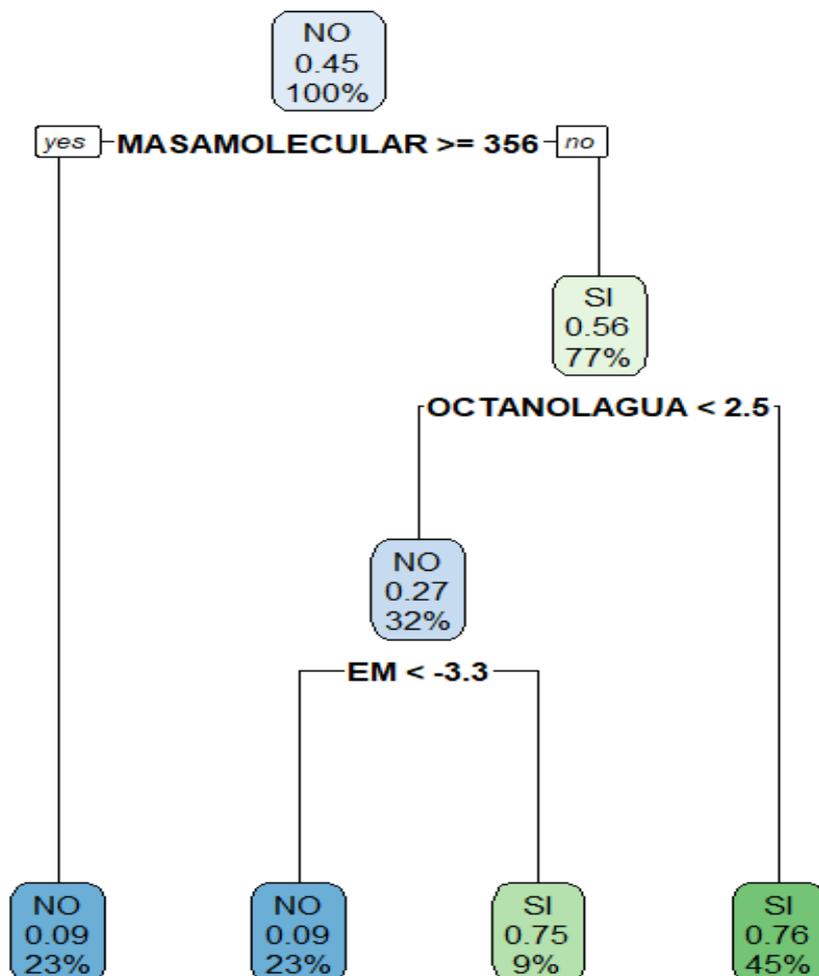


Figura 7. Árbol de clasificación CART para los agroquímicos evaluados ($n = 47$) generado a partir de los parámetros físico-químicos evaluados en esta tesis. Masa molecular de los plaguicidas, coeficiente octanol agua, efecto matriz (EM). Validados (SI), no validados (NO). La fracción indica el número de casos validados (SI) y porcentaje del total de datos que incluye cada nodo u hoja terminal, el valor en porcentaje (%) indica la fracción de número total que tiene el nodo. Por ejemplo, luego del nodo raíz, a la izquierda los casos con masa molecular mayor o igual a 356 generan una hoja con el 23%

de los casos totales donde predominan casos los NO validados (91%) y el restante 9% son casos si validados mal clasificados.

En última instancia se probaron modelos (tabla 7) con la finalidad de predecir el posible resultado de una validación tomando en cuenta las mismas variables explicativas. Cuando se trabajó con Random Forest lo primero que se evaluó fue la importancia de las variables, y se denota que masa molecular y el Kow son las más importantes de las que se consideraron para determinar si un compuesto queda validado o no (figura 8). Esto coincide con los resultados del CART ya que son las primeras variables que considera en el árbol.

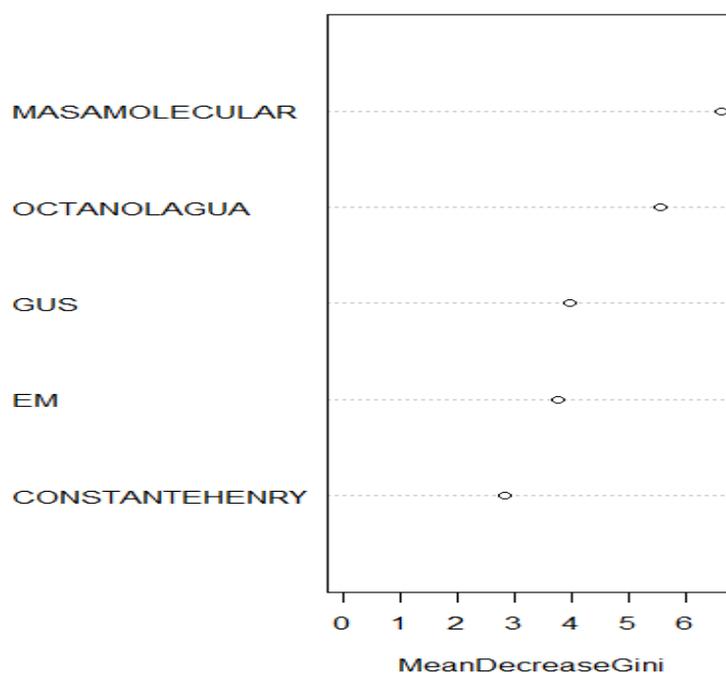


Figura 8. Importancia de las variables consideradas (masa molecular, coeficiente octanol/agua, GUS, efecto matriz, y constante de Henry) en la partición de árboles de clasificación con el método de Random Forest, para predecir si un compuesto será validado o no.

Todos los modelos estadísticos realizados en esta tesis para predecir el resultado de la validación arrojan un alto error (tabla 7). Podemos suponer que GLM tiene alto error porque no se ajusta a un modelo lineal, y que en las restantes el bajo número de casos incide, ya que los modelos de aprendizaje automático fueron creados para trabajar con miles de datos.

Tabla 7. Modelos estadísticos realizados en esta tesis para predecir el resultado de una validación, media del error de clasificación con su respectivo desvío.

	Media
CART	0,49±0,13
RF	0,44±0,12
Boosting	0,46±0,04
GLM	0.49±0,13

Discusión

Validación QuEChERS

Se pudieron extraer compuestos de diversas familias de plaguicidas con propiedades fisicoquímicas diversas. El método puesto a punto permitió extraer de forma eficiente a más de la mitad de los agroquímicos considerados (28 de 58) (tabla 2) y en forma adecuada para otros 18 (tabla 3). De los restantes compuestos, 4 no aparecieron en ningún cromatograma y los otros 8 se recuperaron pero no cumplen las exigencias de la guía SANTE necesarias para poder validarse (tabla 4).

Entre los factores que influyen el rendimiento de la extracción están el tiempo de extracción, el procedimiento y la agitación, así como el tipo de solvente de extracción (Tsiantas et al., 2023). En esta investigación se realizó agitación manual combinada con

Shaker durante el proceso de dSPE, incorporar agitación ultrasónica podría mejorar la extracción (Salem et al., 2016), que es la utilizada en el método que se basó el trabajo. Esto seguramente influyó en el porcentaje de recuperación de algunos compuestos, por el análisis del CART (figura 7) los de mayor masa molecular como Bispirivac, Bifentrín, Clorantraniliprole y Azoxistrobín, que son compuestos que quedaron en el límite para estar validados completamente. Si bien cuando se hace el test de razones de verosimilitud ninguna propiedad fisicoquímica es relevante para explicar si el compuesto queda validado o no, la masa molecular está en el límite ($p=0,056$), similar a lo que nos arroja el resultado de GLM donde ninguna variable da significativa pero la masa molecular esta muy cerca de serlo ($p=0,06$) (tabla 6). La relativa menor masa molecular de los compuestos validados pudo haber influido también en el masa masa, dato que no podemos concluir en esta tesis.

Uno de los factores que puede crear dificultades en el análisis es el grado de complejidad de la matriz, que puede generar interferencias cromatográficas. Si estas interferencias no se anulan, los resultados obtenidos mediante técnicas cromatográficas pueden ser falsos negativos o positivos. En el sistema LC-MS/MS, esta influencia se produce principalmente en la etapa de ionización, donde el co-extractivo compite por la ionización con el analito, como consecuencia la señal cromatográfica del analito puede suprimirse o aumentarse, interfiriendo en consecuencia con la precisión (Pereira, 2019). Por este motivo es importante tener en cuenta el EM. En 13 compuestos validados el EM fue mayor a 20 % o menor a -20 %, y en 21 de los no validados o parcialmente validados, un total de 34 compuestos tuvieron un efecto matriz fuera de lo que establece la SANTE como apto para ser cuantificado por curva en solvente, datos similares surgieron de Cassoli et al (2019) para sedimentos del Rio San Lourenco.

Otra de las causas reportadas que limitan la recuperación de algunos plaguicidas es el pH de la matriz debido a fenómenos de degradación o ionización. Esto es válido para agroquímicos con propiedades ácido base muy variadas que posteriormente influyen en la partición agua/acetonitrilo. Es de destacar que algunas moléculas de agroquímicos tienen más de una fracción ácido base, como compuestos nitrogenados y grupos carboxílicos, que dan lugar a compuestos cargados con valores de pH diversos. Esto hace muy desafiante identificar cuál es el pH óptimo para su recuperación. Además las propiedades intrínsecas de las matrices afectan la recuperación, por lo que se recomienda en muchos casos agregar sustancias buffer, como citrato o acetato, para mejorar la recuperación en ciertas matrices (Bruzzoniti et al., 2014).

Validación de extracción de agroquímicos en agua con SPE Oasis

No se pudieron validar compuestos con este método. La elución de la extracción se puede hacer con acetonitrilo y con metanol. En este caso fue con el primero lo que pudo haber influido en la recuperación de los compuestos. También pudo haber un error de flujo no detectado en la bomba que haya generado canales preferenciales en los cartuchos y no hayan retenido los plaguicidas.

Conclusiones y perspectivas

Los análisis confirmaron que la metodología fue extremadamente selectiva.

Se pudieron validar 28 agroquímicos frecuentemente usados en Uruguay para extraer mediante QuEChERS en sedimento de una cuenca costera. Además hay 18 compuestos que se recuperan según las exigencias a un nivel y están al límite en otro, por lo que igualmente se puede usar esta metodología de extracción para cuantificarlos haciendo una corrección como lo establece la guía Sante en la sección G6.

Se evidenció que las variables masa molecular y coeficiente octanol agua son importantes en el resultado de una validación.

Se visualizaron diferencias estadísticamente significativas entre las varianzas de los R^2 de los compuestos validados y los no validados.

Capítulo 2. Cuenca del Arroyo Maldonado: Identificación de Plaguicidas en Agua y Sedimento y Evaluación de Riesgos para la Comunidad Macrobentónica

Introducción

Cuencas y usos de suelo

Las cuencas deben estudiarse, gestionarse y monitorearse como una unidad integrada (Aguirre Núñez, 2011). Esto es fundamental para el cálculo de los balances hídricos, evaluar procesos de sedimentación, transporte y acumulación de contaminantes. Las cuencas actúan como un sistema por el cual, cualquier alteración incidirá tanto en el funcionamiento global como en el de sus componentes (Achkar et al., 2016). Por esto, un correcto manejo y una adecuada gestión ambiental de los cuerpos de agua, debe integrar la información a nivel de cuenca, de manera de caracterizar desde el punto de vista físico, biológico y socioeconómico el uso de recursos y los impactos antrópicos (Acosta, 2013; Korytny, 2017).

Los patrones de uso de la tierra influyen fuertemente en el aporte de nutrientes y sedimentos a los cursos de agua. Las mayores cargas de nutrientes se asocian a los altos niveles de uso de la tierra agrícola y urbana (Daramola et al., 2022), lo que aumenta la materia orgánica, la contaminación por agroquímicos y la sedimentación (Suga y Tanaka, 2013). La expansión del uso de tierra agrícola, ha alterado la dinámica de los nutrientes dentro de las cuencas debido al uso de fertilizantes y plaguicidas (Cornejo et al., 2019). En estudios de la cuenca del Rio Negro, la agricultura fue señalada como la principal forzante estructuradora, de la composición fisicoquímica del agua y la calidad del ambiente, por encima de los factores naturales. Las consecuencias constatadas fueron todas negativas e incluyeron la pérdida de la zona ribereña, la degradación del canal, el aumento de la eutrofización, la pérdida de biodiversidad y el aumento relativo de las especies más tolerantes (Arocena et al., 2018).

La relación entre el uso de la tierra y los ecosistemas fluviales también varía con el tamaño de la cuenca ya que el impacto del uso en la calidad del agua de los arroyos y los organismos acuáticos varía en diferentes escalas espaciales (Lee et al., 2023). En áreas urbanas, el exceso de nutrientes, metales pesados y compuestos orgánicos, fluyen hacia los ecosistemas fluviales debido al aumento de superficies impermeables, como pavimentos y techos (Wicke et al., 2021). Esto puede generar el llamado síndrome de los arroyos urbanos (Booth et al., 2016) es decir cauces de agua que son altamente impactados por contaminación antrópica al pasar por una ciudad.

Los impactos ambientales debidos a cambios en el uso de la tierra también se han relacionado estrechamente con los niveles de contaminantes de los sedimentos de los ríos, afectando principalmente la estructura de las comunidades de agua dulce (Mo et al., 2023) en especial a las comunidades bentónicas (Brontowiyono et al., 2022). Pero el desconocimiento de las condiciones bióticas y abióticas imperantes previo de la alteración es una de las principales dificultades para evaluar impactos ecológicos causados por la acción humana sobre los sistemas fluviales (Bain et al., 2000).

Plaguicidas en los cauces de agua

El movimiento de los plaguicidas por el medio acuático, desde su ingreso al sistema, su permanencia y finalmente su salida, depende del área de la cuenca, del caudal del cuerpo de agua y de la fuente de contaminación tanto en el espacio como en el tiempo (Topaz et al., 2018). La introducción de agroquímicos en los cuerpos de agua representa una amenaza para los organismos (Ernst et al., 2018), pone en riesgo los ecosistemas y sus efectos pueden extenderse a los ambientes terrestres a lo largo de las redes tróficas (Escobedo et al., 2024). Dicha contaminación puede proceder de fuentes difusas, o de fuentes localizadas. La difusa implica la presencia de contaminantes a baja concentración en un área extensa y por períodos prolongados. Las consecuencias de la contaminación

difusa dependerán de la magnitud de los procesos de adsorción, movilidad y degradación que experimentan los agroquímicos. Cuando los plaguicidas ya se encuentran en la corriente de agua, pueden ser transportados de dos formas. Una es por dilución en el agua (hidrofílico) y la otra es adherida a partículas que viajan con la corriente (hidrofóbico), esto implica que los plaguicidas pueden viajar grandes distancias antes de descomponerse (Walker et al., 2001).

Los plaguicidas no se comercializan como un principio activo puro, sino que lo hacen en formulaciones que incluyen sustancias que actúan como vehículo para incrementar la efectividad de aplicación y facilitar la manipulación y almacenamiento. Estos pueden ser coadyuvantes que incrementan y potencian la actividad biocida (Yi et al., 2022), surfactantes o tensioactivos para reducir la tensión superficial de las gotas, aceites para que penetren más fácilmente las membranas biológicas, adherentes para que se adhieran mejor a la planta, y también aditivos, como colorantes, esencias, espesantes y anticongelantes.

La existencia de plaguicidas o sus metabolitos en sedimentos, suelos y agua dependen de sus propiedades fisicoquímicas, del número de aplicaciones, de las características de la cuenca (pendiente, suelos, salinidad, caudal, etc.) y del régimen pluviométrico (Muller et al., 2007; Núñez et al., 2007). Las propiedades químicas de los plaguicidas como la estructura molecular o su pH, varían su comportamiento al ingresar a las matrices. Hay que destacar que una de las propiedades más importantes implicadas en la adsorción y transporte es la constante de partición Octanol/Agua (K_{ow}) que nos indica que a valores de $\log K_{ow}$ mayores a 3, el compuesto tendrá una mayor afinidad por matrices lipofílicas (Olave, 2019) por lo que afecta el potencial de bioacumulación en tejidos (Narayanan et al., 2024). Además compuestos con alto K_{ow} tienden a unirse a partículas suspendidas en el agua, y depositarse en el sedimento (Pérez Parada et al., 2018). También influye en

la partición preferencial en el ambiente como agua/sedimento, por lo que juega un rol fundamental en el destino ambiental del compuesto (Rathore y Nollet, 2012). Hay que considerar que la concentración iónica del agua puede aumentar el coeficiente de partición octanol-agua, lo que provoca que muchos compuestos presenten mayor $\log K_{ow}$ y menor solubilidad en agua salina en comparación con agua dulce (Saranjampour et al., 2017; Hutton et al., 2021). Esto complejiza el análisis del comportamiento de dichos químicos en sistemas estuarinos.

El índice de lixiviación (GUS) es la capacidad del químico de ingresar y movilizarse por aguas subterráneas. Los plaguicidas son clasificados como lixivadores cuando el valor es > 2.8 , no lixivadores si el índice es < 1.8 y de transición cuando presenta valores entre 1,8 y 2,8. Otra característica de los agroquímicos a considerar es el coeficiente de adsorción de carbono orgánico (koc), una medida de las tendencias de un compuesto orgánico a ser retenido por los suelos o sedimentos. Si tiene un koc elevado el plaguicida tiende a fijarse fuertemente a la materia orgánica del suelo (Chiou et al., 1983). Por otro lado la vida media del químico es el tiempo requerido para que un plaguicida se degrade a la mitad de la concentración original. La vida media puede también determinar el grado en que un agroquímico se acumula en el sedimento, suelo y el agua. Aquellos con vida media más prolongadas son propensos a acumularse y aumenta la posibilidad de contaminar las aguas subterráneas adyacentes, las aguas superficiales, la vegetación y los animales (Narayanan et al., 2024). La persistencia es la capacidad de cualquier plaguicida para retener sus características en el medio en el cual es transportado o distribuido, durante un periodo limitado después de su emisión. La persistencia es un factor significativo para visualizar el riesgo ecológico a largo plazo (Narayanan et al., 2024). De hecho, los contaminantes con valores de K_{ow} más altos y de mayor persistencia se consideran contaminantes prioritarios (Ernst et al., 2018). Con el tiempo casi todos los

plaguicidas se descomponen o se degradan, ya que cuando entran a los ecosistemas interactúan con factores bióticos y abióticos. Los factores abióticos (fotodescomposición, hidrólisis) pueden contribuir a la descomposición o a la adsorción de los químicos por la materia orgánica y sedimentos. Por otra parte, la interacción con factores bióticos ocasiona la adsorción, metabolización y acumulación en organismos lo que a su vez puede alterar las comunidades bióticas del agua (Schafer et al., 2011). Estos factores bióticos determinan el destino y toxicidad del químico (Narayanan et al., 2024).

Dado la mayor frecuencia de muestreo de plaguicidas en agua a nivel mundial, existe la preocupación de que la presencia de plaguicidas hidrófobos pueda ser malinterpretada o subestimada, esto ha fomentado los muestreos en tándem de múltiples matrices para obtener un mejor conocimiento de la prevalencia y el destino de dichos compuestos en todo el medio ambiente. Estudios recientes demostraron cómo el muestreo en tándem de agua y sedimentos produjo un panorama más completo de la contaminación por agroquímicos en arroyos argentinos (Toth et al., 2024). La partición de los agroquímicos entre las partículas suspendidas y la fase acuosa no puede alcanzar un equilibrio durante el transporte debido al tiempo insuficiente para el reequilibrio por lo que es difícil predecirla, por lo tanto, la medición directa de los plaguicidas en todas las fracciones por separado es de gran relevancia (Wei et al., 2021). La información individual de los agroquímicos en la fase disuelta del agua, partículas suspendidas y sedimentos depositados podría ser valiosa para calcular el flujo de los mismos entre múltiples matrices, comprender su destino ambiental y dilucidar los posibles riesgos.

Los datos disponibles sobre niveles de plaguicidas en el ambiente en Uruguay son mayoritariamente de aguas superficiales. También se han realizado monitoreos en peces (Ernst et al., 2018), en sedimento (Muniz et al., 2015; Novoa et al., 2024) y en dos

matrices como son agua y peces en forma paralela (Rodríguez-Bolaña et al., 2023), pero hasta el momento no se ha realizado en forma conjunta en agua y sedimento.

Los sedimentos son capaces de almacenar contaminantes a largo plazo, lo que nos proporciona un registro histórico de la contaminación por diferentes sustancias de distribución ambiental (Cassoli et al., 2019). A menudo reflejan la contaminación a largo plazo del agua y pueden utilizarse para evaluar el efecto de las actividades humanas que presentan alteraciones lentas en su patrón de contaminación (Pinto et al., 2016). Son el sumidero principal de los contaminantes en estuarios y ecosistemas marinos (Arizzi et al., 2006). Cuando tienen gran cantidad de materia orgánica actúan como captadores de agroquímicos (Pérez Parada et al., 2018) y posteriormente en el intercambio sedimento agua, el sedimento actúa como una importante fuente de emisión secundaria de estos compuestos (Cui et al., 2020; Alonso, 2024). La materia orgánica particulada que se localiza en las fracciones granulométricas superiores a 50 μm , tiene gran importancia en la adsorción de plaguicidas a corto plazo (Krutz et al, 2005).

Se ha visto que las cargas de contaminantes son más altas en las fracciones de tamaño de grano fino (Opel et al., 2011), por lo que los sedimentos limo-arcillosos tienen importantes consecuencias ecológicas y ambientales relacionadas con la biota y la deposición de contaminantes (Muniz et al., 2015).

El análisis de sedimentos debería ser incluido en los estudios del ambiente porque son el resultado de la integración de todos los procesos (biológicos, físicos y químicos) que ocurren en el sistema acuático (Tundisi, 2003). Pero la determinación de contaminantes orgánicos en muestras de sedimentos es compleja, incluyendo procesos de extracción y pasos de purificación antes del análisis. El principal paso crítico en dicha matriz es la extracción que necesita un solvente y una técnica adecuada para obtener recuperaciones aceptables (Salem et al., 2016). Como se mencionó en capítulo 1 existen diversos métodos

de extracción y cuantificación de plaguicidas según la matriz en estudio y el plaguicida que se está buscando.

Comunidades macrobentónicas

Las comunidades bentónicas se estructuran en base a la variabilidad ambiental y los rasgos biológicos exhibidos por los organismos (Bremner et al., 2003) por lo que comprender la relación entre dicha comunidad y los factores ambientales puede ayudar a predecir el impacto de las perturbaciones inducidas por el hombre (Dong et al., 2021). Los factores fisicoquímicos del medio acuático, como pH, conductividad, oxígeno disuelto y temperatura, son determinantes en la distribución de los macroinvertebrados acuáticos y son además los parámetros a los que los organismos son más sensibles (Morelli y Verdi, 2014). Los organismos bentónicos están asociados a la composición del sedimento, y el cambio de las características de esta matriz puede provocar cambios en su comunidad (Lenihan y Micheli, 2001). Una mayor disponibilidad de materia orgánica, por ejemplo, se asocia con una mayor disponibilidad de alimento para determinados grupos bentónicos (Dauvin et al., 2004). Por el contrario, la presencia de contaminantes en la columna de agua y los sedimentos comprometen la diversidad biológica y el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos (Arimoro et al., 2024). Los organismos acuáticos pueden bioacumular algunos contaminantes en más de 1'000.000 de veces las concentraciones detectadas en la columna de agua, al ser los sedimentos sumidero y depósito para los contaminantes, los organismos bentónicos pueden estar expuestos a mayores concentraciones (DeValls et al., 2007). Incluso cuando la fracción disuelta de un contaminante puede ser muy baja y a veces indetectable, una exposición muy larga puede dar lugar a su acumulación por parte de los organismos (Rodríguez, 2015) especialmente para los contaminantes hidrofóbicos. Dados los grandes volúmenes de aplicación de agroquímicos existe un gran impacto en estas comunidades (Schafer et al.,

2011) y en la fauna de niveles superiores de la red trófica que se alimenta de ellos (Baldwin et al., 2009; Trama, 2014).

Las comparaciones de las estructuras de las comunidades bentónicas en diferentes paisajes (ej. urbano o rural, con actividad agrícola si o no , etc.) proporcionan cierta evidencia de los efectos adversos de los agroquímicos, pero la dificultad con este tipo de estudios es demostrar que los impactos observados se deben a los plaguicidas y no son consecuencia de otras diferencias en el manejo de la tierra (por ejemplo, régimen de laboreo, uso de fertilizantes, presencia o ausencia de vegetación ribereña) o debido a factores estresantes coexistentes (Maltby y Hills, 2008).

Los efectos nocivos de los agroquímicos son minimizados por algunos organismos mediante biotransformación, bioactivación y posterior eliminación debido a mecanismos de desintoxicación (Lushchak et al., 2018). Dichos mecanismos de desintoxicación pueden desequilibrar el estado óxido reductor de las células conduciendo al aumento de radicales de oxígeno (ROS) lo que se conoce como estrés oxidativo. Las enzimas que se activan para disminuir dichos radicales, pueden ser usadas en algunos casos como biomarcadores de contaminación (da Silva et al., 2024).

Organismos pertenecientes al fitoplancton, zooplancton, perifiton, peces, y los macroinvertebrados, han sido utilizados anteriormente para monitorear la calidad del agua. Los macroinvertebrados bentónicos son los más utilizados (Junio Da Silva y Pinto, 2023; Arimoro et al., 2024), ya que permiten integrar información temporal y espacial al responder a diferentes tipos de perturbaciones (Allan, 2004) y debido a su posición en la interface agua/sedimento y sus hábitos relativamente sedentarios son considerados indicadores poderosos en la caracterización estos ecosistemas (Hawkes, 1980; Muniz et al., 2013). Además están en contacto estrecho con las sustancias tóxicas que se encuentran en el sedimento, por lo que actúan como monitores continuos del lugar que habitan

(Rosenberg y Resh, 1993). El concepto de bioindicador aplicado a la evaluación de calidad de agua, es definido como una especie, población o comunidad, que tiene requerimientos específicos con relación a un conjunto de variables físicas o químicas conocidas, de tal modo que la ausencia o los cambios en número de individuos, morfología, fisiología o comportamiento indican que las variables fisicoquímicas dadas están fuera de sus límites preferenciales (Roldán, 1999).

Las adaptaciones a diferentes condiciones ambientales y los límites de tolerancia a las posibles perturbaciones, dan las características a ciertos grupos que podrán ser considerados como bioindicadores por no soportar variaciones en la calidad del agua (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera), mientras que organismos tolerantes (Quironomidos, Oligoquetos), son característicos de agua contaminada por materia orgánica (Roldán, 1999; Rosales y Sánchez, 2013). Los crustáceos en particular son organismos abundantes y comúnmente encontrados en todo el mundo y han sido considerados aptos para el monitoreo biológico de estos sistemas (Wenner, 1988). Dentro de esta subclase, los Anfípodos han demostrado ser buenos indicadores de contaminación. Por ejemplo se ha visto que la exposición a concentraciones ambientales muy bajas del piretroide Cipermetrina provoca cambios en el comportamiento locomotor del Anfípodo *Gammarus pulex*, como aumento en la velocidad, en el movimiento y en la proporción de tiempo que pasan nadando, lo cual estaría relacionado a un comportamiento de evasión de la zona contaminada (Norum et al., 2011). Los bivalvos *Corbicula fluminea* y *Scrobicularia plana*, también han sido ampliamente utilizados como organismos centinela en programas de biomonitoreo de áreas de agua dulce y costeras respectivamente (Sousa et al., 2008).

Riesgo ecológico

La Evaluación de Riesgo Ecológico (ERA) de contaminación por plaguicidas es una herramienta fundamental para analizar la contribución de la toxicidad potencial de estos compuestos en los organismos acuáticos. En ellas se utilizan indicadores para relacionar la concentración del compuesto en el ambiente y los efectos ecotoxicológicos observados en especies centinelas (Allinson et al., 2015). Existen diversos métodos para realizar una evaluación de riesgos. Dentro de los más populares podemos citar la Evaluación Probabilística del Riesgo (PRA) y la del Cociente de Riesgos (RQ) (Rodríguez Bolaña et al., 2024). El PRA considera las diferentes sensibilidades de las especies a los diferentes plaguicidas y genera una distribución de sensibilidades (Maertens et al., 2022). Por otra parte el RQ se basa en calcular la relación entre la concentración ambiental de un solo plaguicida y la concentración prevista sin efecto (Wei et al., 2021), a partir de datos de ecotoxicidad de sustancias en diferentes niveles tróficos. El RQ implica dos extrapolaciones, primero la de los datos experimentales de toxicidad para las especies probadas después de una cierta duración de la exposición, que se implementa para sustancias individuales mediante el cálculo de la concentración sin efecto prevista (PNEC) utilizando un factor de evaluación (AF) y segundo la extrapolación de una sola sustancia a mezclas químicas sumando los RQ y así poder tener un resultado más acabado del riesgo total del sitio (Palma et al., 2014). El RQ es ampliamente utilizado para generar marco regulatorio en muchos países, incluso en Uruguay es el método utilizado para la habilitación de un nuevo fitosanitario (Rodríguez Bolaña et al., 2024). Sin embargo hasta el momento solo hay dos estudios reportados de evaluación de riesgos con RQ en nuestro país. El primero que evaluó el riesgo en la Laguna Rocha y la Laguna de Castillo (Griffero et al., 2019) y otra del pasado año en la Laguna del Cisne (Rodríguez Bolaña et al., 2024), ambos enfocados en la matriz agua.

Ecosistemas estuarinos

Los estuarios son áreas de transición entre las condiciones más estables de las zonas marinas y de agua dulce adyacentes, exhibiendo intensas fluctuaciones en sus parámetros físicos y biológicos (Day, 1980). Tal es así que las características del estrés antropogénico coinciden con las del estrés natural, generando lo que se conoce como la "*paradoja de la calidad estuarina*". Esta paradoja refiere a que las comunidades bentónicas estuarinas están sometidas normalmente a un estrés similar al de áreas con estrés inducido por contaminación antrópica (Elliott y Quintino, 2007). Eso hace que bioindicadores y biomarcadores de estrés ambientales puedan presentar resultados sesgados debido al estrés natural.

Las características geoquímicas de estos ecosistemas favorecen la formación y sedimentación de materia orgánica particulada, haciendo de los estuarios trampas ideales para los contaminantes. Son receptores de la gran mayoría de contaminantes que llega a los cauces de agua, puntuales o difusos (Libes, 1992; Cuevas et al., 2018) que luego pueden exportar a otros ecosistemas. Las variaciones en la salinidad típicas de dichos ecosistemas pueden afectar a las propiedades fisicoquímicas y, en consecuencia, el destino y la toxicidad de los contaminantes acuáticos (Hutton et al., 2021). Algunos agroquímicos se bioacumulan más en agua salada que en agua dulce, presumiblemente porque un aumento en la salinidad reduce la solubilidad acuosa de los contaminantes orgánicos en ciertos casos (Saranjampour et al., 2017).

La fauna bentónica estuarina responde a diferentes factores ambientales, como el tipo de sedimento, la presencia de contaminantes y el enriquecimiento orgánico, y las diferencias en el ambiente físico-químico entre otros factores. Sin embargo la salinidad es el principal factor abiótico determinante de la composición de estas comunidades (Attrill y Rundle, 2002).

Además de la importancia del macrobentos en las cadenas tróficas estuariales, estos organismos también contribuyen significativamente a la biodepositación y regeneración de nutrientes inorgánicos. Actividades como la construcción de túneles y su ventilación, el nado y la alimentación de los organismos bentónicos, producen removilización de las sustancias químicas presentes en el sedimento y resuspensión de partículas hacia la columna de agua (Rand et al., 1995). También desestabilizan los sedimentos y los irrigan con corrientes de alimentación (Day et al., 1989).

A pesar de la importancia ecológica de los estuarios, es escasa la información de exposición y toxicidad para muchos plaguicidas en la mayoría de sus especies, lo que dificulta realizar evaluaciones de riesgo (Hutton et al., 2021).

Es sabido que el cambio climático global tendrá una amplia gama de efectos en los hábitats estuarinos, entre los que se podrían destacar el aumento potencial de la temperatura y salinidad del agua (DeLorenzo et al., 2011), alterando entre muchos factores los potenciales riesgos de los contaminantes, lo que realza la importancia de conocer sus estructuras biológicas actuales para poder dimensionar las posibles modificaciones y generar estrategias de amortiguación.

Conocimiento actual de la cuenca del arroyo Maldonado

En la cuenca del Arroyo Maldonado se conocen múltiples fuentes potenciales de contaminación por plaguicidas y otros químicos. Por citar algunas existe un tambo intensivo de gran envergadura con más de 1000 vacas en ordeño por día, varias hectáreas destinadas al enterramiento de residuos domiciliarios, zonas de cultivo de olivares y forestal, así como también ganadería extensiva. Sumado a esto, tres centros poblados a los márgenes de los cauces de agua, algunas con sistemas de saneamiento inexistentes o presentes pero insuficiente desde el punto de vista de la calidad del agua, tal es el caso en la ciudad de San Carlos con el arroyo que lleva su mismo nombre (González, 2021). A

pesar de lo mencionado, son escasas las investigaciones en esta área de estudio y generalmente están enfocadas sobre alguna zona en particular de la cuenca. Son ejemplo de ello lo realizado por Villarmarzo et al (2021) que estudió macrofauna bentónica de lagunas costeras y estuarios, y el de Fernández et al (2021) que estudiaron la diversidad de anfibios en la Alameda. También hay estudios sobre el cangrejal del humedal del Arroyo Maldonado (Delgado, 2023), y sobre *Austrolebias charrúa* (Teixeira de Mello et al., 2021) entre otros. A nivel de toda la cuenca, podemos nombrar la evaluación de coliformes fecales realizada por González en 2021 y ensayos de estrogeneidad por Bertone en 2024, que fueron realizados en forma conjunta con esta investigación.

Lo anteriormente descrito permite resaltar la importancia de tener un conocimiento más detallado de las características fisicoquímicas y biológicas de la cuenca y evaluar cuales plaguicidas están llegando a sus causas de agua.

Objetivo general:

Analizar la presencia de agroquímicos en el sedimento y agua de la cuenca del arroyo Maldonado, y evaluar el riesgo ecológico asociado a su presencia en el ecosistema.

Objetivos específicos

- Realizar una caracterización ambiental del arroyo Maldonado desde las nacientes hasta la desembocadura.
- Analizar la presencia de agroquímicos en agua y sedimento de la cuenca.
- Determinar si los parámetros fisicoquímicos de la cuenca inciden en la acumulación de agroquímicos en el sedimento y la concentración en agua.
- Identificar a nivel de Orden las comunidades macrobentónicas de la cuenca.

- Evaluar el riesgo ecotoxicológico con los plaguicidas detectados.
- Detectar posibles Órdenes de la comunidad macrobentónica que puedan ser potencialmente utilizadas como indicadores de contaminación por plaguicidas

Hipótesis:

- H₁ La comunidad macrobentónica cambiará a lo largo de la cuenca según el gradiente de salinidad por las diferencias de gradiente osmótico, especies estenohalinas dulceacuícolas estarán distribuidas en zonas de agua dulce (nacientes y zona media), mientras que especies tolerantes a los cambios de salinidad (eurihalinas) se encontrarán en la zona de la marisma (cuenca baja).
- H₂ El gradiente de salinidad en la cuenca del Maldonado determinará la partición agua/sedimento de los plaguicidas ya que la salinidad afecta la solubilidad de los compuestos.
- H₃ El grado de exposición de la comunidad bentónica a los agroquímicos estará determinado por la partición agua/sedimento de estos últimos y por los hábitos alimenticios de los organismos (sedimentívoro/detrítívoro vs filtradores).

Materiales y métodos

Área de estudio

La cuenca del Arroyo Maldonado es una de las 13 cuencas con las que cuenta el departamento. Tiene una extensión de 1.486 km², y sus principales tributarios son el arroyo Maldonado y el San Carlos (figura 9). La sub cuenca del Arroyo Maldonado propiamente dicho es un curso fluvial situado en la región Sud Este de nuestro país, cuenta con una extensión de 1367 km², desde su nacimiento en Sierras de Carapé (Maldonado),

hasta la desembocadura en el océano Atlántico. La alta subcuenca del arroyo San Carlos nace a la altura máxima del Uruguay: el cerro Catedral (513.6 m). Luego discurre hacia el sur, corriendo paralelo a la ruta nacional 39 (situada al occidente del arroyo), atravesado por la ruta nacional 9 e inmediatamente bordea el este de la ciudad de San Carlos, aguas abajo de la Alameda, confluye con el arroyo Maldonado. Desde dicha confluencia hasta su desembocadura en el océano Atlántico la cuenca alberga un humedal salino que cubre una superficie de aproximadamente 13 km². Este es uno de los dos humedales salinos más importantes que tiene el Uruguay, junto con el de Laguna José Ignacio (Isacch et al., 2006). Dicha zona, presenta áreas declaradas como reserva departamental por Decreto N° 3931/2015 el cual crea el “Eco Parque Metropolitano del Humedal del Arroyo Maldonado”. Cuenta con sitios de patrimonio lítico con restos arqueológico de ocupación humana pre histórica. Es un área designada como de altísima relevancia para las aves, además de ser una zona clave para la pesca artesanal, y un lugar icónico para el esparcimiento y turismo.

La cuenca del arroyo Maldonado es límnicia en sus nacientes, y a medida que se acerca a la región marino costera se convierte en un ecosistema estuarino.

A los efectos de este estudio la cuenca se dividió en zonas baja o marisma, media y alta (nacientes) (figura 9). Se tomaron muestras de 19 sitios representativos de toda la cuenca (tabla 8).

Se realizaron muestreos en sitios previamente definidos, tanto antes como después de puntos de posible contaminación por agroquímicos, tomando como base mapas de usos de suelo (figura 10) y el conocimiento empírico de la zona por parte del equipo de muestreo. Como condición imprescindible para realizar el muestreo se determinó que no hubiese llovido en por lo menos los últimos 7 días. Los muestreos se realizaron durante el invierno (julio, 2019), primavera (septiembre, 2019) y verano (enero, 2020).

Tabla 8. Sitios muestreados, zona de la cuenca, descripción del lugar, latitud, longitud y altura en metros de sitios de muestreo.

Sitio	Zona cuenca	Descripción	Latitud	Longitud	Altura sobre nivel del mar (m)
1	Baja/marisma	Desembocadura	34 54 59 S	54 51 54 W	0
2	Baja/marisma	Puente de La Barra	34 54 35 S	54 52 26 W	3
3	Baja/marisma	El Tesoro	34 54 13 S	54 52 33 W	2
4	Media	Cañada “El alemán”	34 51 33 S	54 52 14 W	6
5	Media	Alameda	34 48 07 S	54 54 49 W	4
6	Media	Cañada Perimetral Maldonado	34 54 06 S	54 55 34 W	2
7	Media	Arroyo San Carlos por ruta 9	34 46 09 S	54 54 07 W	4
8	Media	Cañada urbana San Carlos	34 47 54 S	54 55 38 W	4
9	Media	Después de vertedero	34 48 51 S	54 57 09 W	6
10	Media	Abra Perdomo	34 44 03 S	54 59 17 W	21
11	Media	Haras	34 49 06 S	55 00 15 W	25
12	Media	Después de Tambo	34 47 59 S	54 58 02 W	7
13	Alta	Antes de Tambo	34 46 58 S	55 00 32 W	34
14	Alta	Olivares	34 34 40 S	55 03 26 W	94
15	Alta	Naciente Maldonado	34 32 45 S	55 06 12 W	187
16	Alta	Herbácea	34 33 30 S	54 55 49 W	67
17	Alta	Paso López	34 32 30 S	54 48 55 W	68
18	Alta	Forestal	34 26 46 S	54 45 45 W	161
19	Alta	Naciente San Carlos	34 23 46 S	54 46 42 W	192

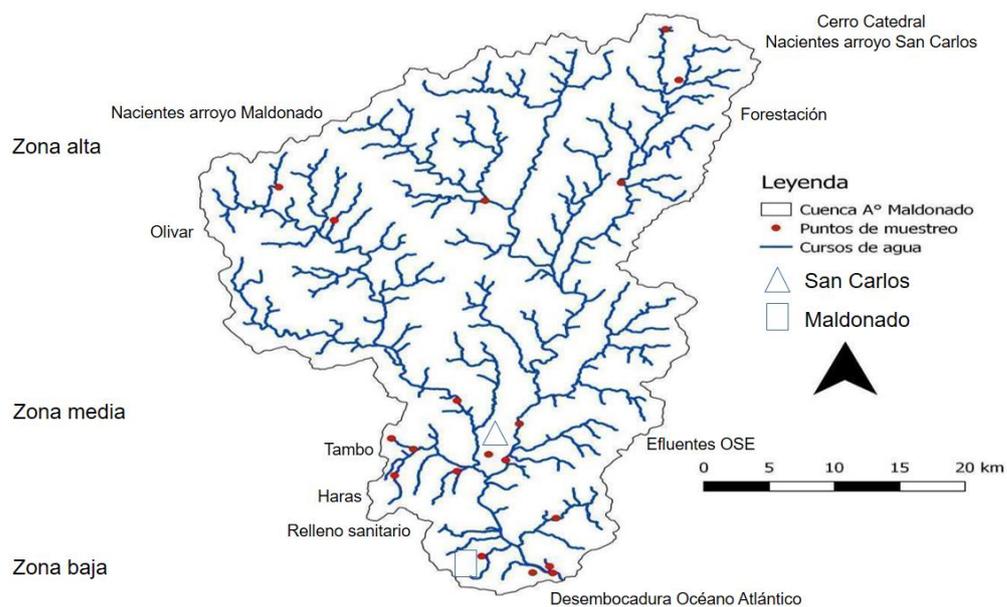


Figura 9. Cuenca hidrológica del arroyo Maldonado. Puntos rojos indican los sitios de muestreo. Sitios del 1 al 3 corresponden a la marisma, 4 al 12 cuenca media, y 13 al 19 cuenca alta. Se señalan usos de suelo de posible contaminación de la cuenca: Ciudades de San Carlos y Maldonado, relleno sanitarios, Haras, Tambo, Olivar, Forestaciones y salida de efluentes de planta de tratamiento de OSE.

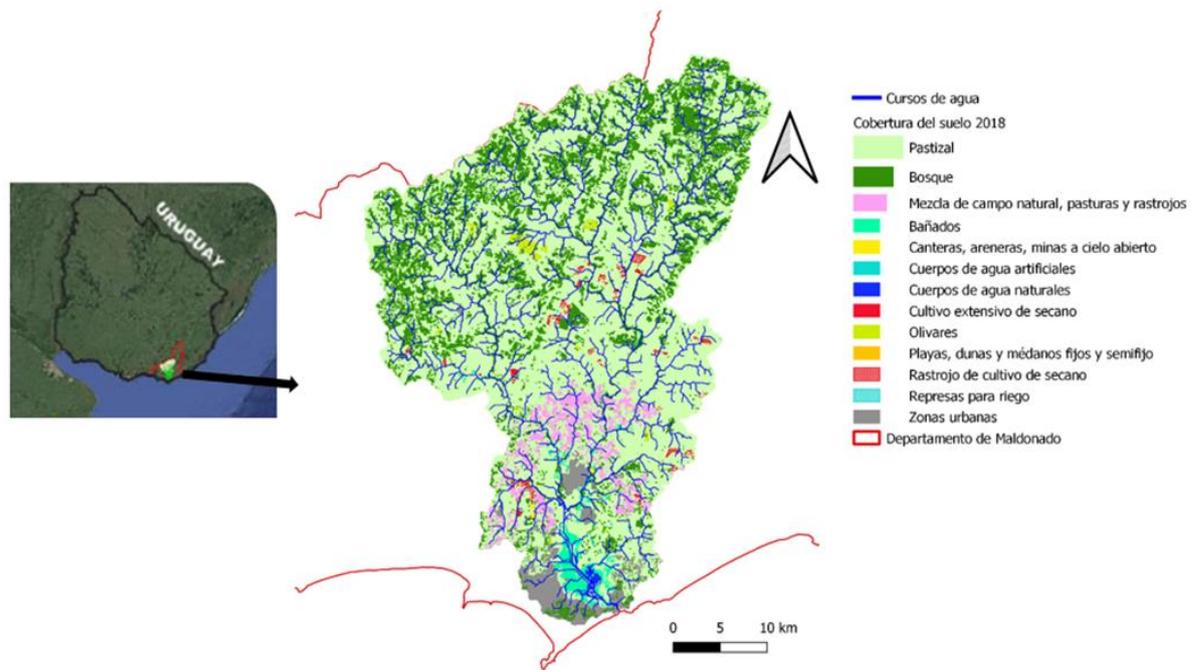


Figura 10. Usos de suelo en la cuenca del Arroyo Maldonado (González, 2021)

Caracterización ambiental

Parámetros fisicoquímicos

In situ se determinó pH, conductividad (salinidad) y temperatura con dispositivo multiparámetros Thermo Scientific ORION Star A325, y el oxígeno disuelto usando el oxímetro Thermo Scientific ORION Star A223.

Toma de muestras

Se tomaron muestras de sedimento en frascos de vidrio de 100 ml color ámbar pre lavados con etanol y luego con acetona PPA (Acetona calidad HPLC Carlo Erba), también se colectaron muestras de agua en botellas ámbar de 1000 ml que fueron tratadas de la misma forma que los anteriores frascos, transportadas en frío y almacenadas a -20 °C.

La muestra de sedimento (fracción superficial) se extrajo directamente con el frasco. Se colectó en sitios donde se visualizó un proceso de sedimentación. Posteriormente en el laboratorio las muestras fueron tamizadas con malla de 2 mm, y la fracción correspondiente a arenas, limos y arcillas fue liofilizada hasta su análisis.

Granulometría

La determinación tanto de la distribución del tamaño de grano como del contenido de materia orgánica se consideran una metodología estándar para el análisis de sedimentos (Opel et al., 2011). Para determinar tamaño medio de grano y porcentaje de materia orgánica se colectó en una bolsa de nylon aproximadamente 1kg de sedimento en el muestreo de verano (enero, 2020).

Se pesó 400 gramos de sedimento para ser secados en estufa a 60° C, y se obtuvo el peso seco. Luego de secadas, la fracción correspondiente a arenas fue tamizada con Ro-tap (RX-29-16) utilizando diferentes tamices secos de 1 mm, 500, 250, 125 y 63 μ . Luego de 15 min se pesó el contenido en cada tamiz y con el peso total se calculó la granulometría de cada punto (Sugiuo, 1973). Para determinar la fracción de arcillas y limos se agregó agua y se tamizó con abundante agua a 63 μ m. Posteriormente se utilizó el programa Gradistat para obtener los porcentajes de las distintas fracciones granulométricas y los tamaños medios de grano.

Determinación de materia orgánica del sedimento

Se pesaron 100 g de sedimento liofilizado que se quemaron a 450 ° C en una mufla por 2 hr, posteriormente fueron nuevamente pesados según lo descrito por Byers et al. (1978).

La diferencia de peso permite cuantificar la materia orgánica.

Análisis estadístico

En base a los parámetros fisicoquímicos y biológicos se hicieron análisis de agrupamientos jerárquicos. Estas técnicas estadísticas de agrupamiento, basándose en datos originales del sitio de estudio representan agrupamientos “naturales” que podrían ser más representativos de la realidad que otras formas de clasificación (Ateca et al., 2001). Para eso se trabajó con datos estandarizados y centrados (conductividad, temperatura, pH, OD, % materia orgánica, tamaño medio de grano), el número de individuos por sitio se transformó utilizando la función logaritmo con base 10. Se calcularon las distancias de Ward para variables fisicoquímicas y de número de individuos por sitio, y de Jaccard para presencia y ausencia de Órdenes de la comunidad macrobentónica.

Identificación de los agroquímicos presentes en sedimento y agua de la cuenca

Extracción de agroquímicos del sedimento de la cuenca del Maldonado

Se evaluaron agroquímicos presentes en las muestras de sedimento de los tres muestreos realizados. Los agroquímicos analizados en la cuenca fueron los trabajados en capítulo 1 (tabla 1) y la extracción se realizó con la variante de QuEChERS validada en esta tesis (figura 1).

Concomitantemente a la extracción con QuEChERS de sedimentos, se realizaron blancos reactivo, blancos matrices, y se hicieron 3 recuperaciones probando el nivel de 25 µg/kg (100 microlitros del mix de 2.5 µg/kg en blanco).

Para cuantificar a los agroquímicos se utilizaron los datos de curva matriz, pendiente y ordenada como lo establece la guía SANTE (11312/2021).

Extracción de agroquímicos en agua de la cuenca del Maldonado

La extracción en agua se hizo mediante SPE con cartuchos OASIS, técnica validada por otros estudios para agua dulce (Ayano et al., 2004; Carabias Martínez et al., 2004) y para agua dulce y estuarina (Mazzella et al., 2009) demostrando tener un alto porcentaje de recuperación tanto con eluciones de metanol como con acetonitrilo (Alba, 2016). Se hizo un screening (análisis cualitativo) del muestreo de enero del 2020 para ver qué agroquímicos de los que se trabajaron en el capítulo 1 se podían identificar en agua. Concomitantemente al screening en agua se hizo una recuperación 0,1 µg/kg con tres réplicas y dos blancos uno con agua destilada y otro con agua de las nacientes. La elución se hizo con metanol como recomienda el fabricante.

Detección y cuantificación

Para cuantificar los plaguicidas de interés se utilizó un equipo de cromatografía líquida acoplada a un espectrómetro de masas en tándem con triple cuadrupolo, ubicado en el laboratorio del Departamento de Química del Litoral, en la ciudad de Paysandú (Anexo, tablas 17 y 18). El método de cromatografía ya estaba probado en dicho laboratorio. Los compuestos fueron optimizados individualmente y los tiempos de retención fueron chequeados antes de pasar al modo Schedule donde se busca el compuesto solo en una ventana temporal y no en todo el tiempo de la corrida.

Análisis estadístico

Los agroquímicos se agruparon por frecuencia de aparición, y los sitios de muestreo por número de plaguicidas encontrados. Se graficó la detección de los plaguicidas según la estación y la zona en la que fue detectado.

Se realizaron cluster jerárquicos con distancia de Gower con fin de comparar si el agrupamiento por la presencia o ausencia de plaguicidas en sedimento en los diferentes sitios se asemejaba al agrupamiento de parámetros fisicoquímicos.

Para analizar la potencial incidencia de los parámetros fisicoquímicos en la acumulación de plaguicidas se realizaron GLM, y árboles de clasificación CART.

Los GLM se realizaron en R función del paquete {stats} (función glm), utilizando como variable respuesta el número de plaguicidas en cada sitio en sedimento y como variables explicativas los parámetros fisicoquímicos, conductividad, temperatura y oxígeno disuelto. Además se hizo GLM con las mismas variables explicativas y se le agregó tamaño medio de grano, porcentaje de materia orgánica y altura de nivel del mar para número de plaguicidas por sitio en enero en sedimento y lo mismo en agua. Previamente se analizó la presencia de colinealidad entre estas variables con la función factor de inflación de varianza (VIF) donde si el resultado es menor a 5 es aceptable. La variable de respuesta se modeló con una distribución de Poisson, y se utilizó el logaritmo como función de enlace (Burnham y Anderson, 2004). También se realizaron GLM para visualizar la incidencia de las diferentes zonas de la cuenca en el número de plaguicidas detectados en cada sitio de muestreo, y las estaciones para la cantidad de plaguicidas en el sedimento.

Se generaron diferentes árboles de clasificación y regresión con las funciones Rpart y Rpart.boxplot para identificar patrones de acumulación de plaguicidas en sedimento y agua en función de los datos fisicoquímicos. Se generaron árboles maximales y después con el criterio de poda se seleccionó el más chico de los que tienen la menor suma de error de validación cruzada más el error estándar (Breiman et al., 1984). Para estimar el error de clasificación de forma honesta (Bourel et al., 2021) se partió la base de datos en 2/3 para entrenar el modelo y 1/3 para evaluar su capacidad predictiva. Este

procedimiento se repitió 100 veces con el sorteo aleatorio de los datos de entrenamiento y de evaluación

Identificación de la comunidad macrobentónica

En el muestreo de enero se tomaron muestras del macrobentos endobentónico en cada sitio de muestreo. Se extrajo la muestra con corer de PVC de 16 cm de diámetro que se enterró 25 cm, e *in situ* fueron tamizadas con malla de 0,5 mm. Se fijaron en formaldehído al 4 % con Rosa de Bengala y posteriormente se observaron e identificaron los organismos bajo lupa y microscopio.

Para la identificación de la comunidad bentónica se utilizaron claves y guías como Domínguez y Fernández (2009), Nonato y Amaral (1979) y Mugnai et al (2010).

La identificación se basó en grandes criterios anatómicos empezando por identificar el Filo luego Clase, Orden y en algún caso Familias y Especies.

Con el fin de lograr una caracterización general de la diversidad macrobentónica y hacer cálculos estadísticos al mismo nivel taxonómico se utilizó el número de individuos por Órdenes para caracterizar los patrones presentes en el área de estudio y su relación con el gradiente ambiental.

Riesgo ecológico

El riesgo ecotoxicológico acuático se evaluó en base al método del cociente de riesgos (RQ) para plaguicidas en los sedimentos (European community commission, 2003).

El RQ se calculó como MEC (concentración ambiental de un plaguicida) dividido PNEC (máxima concentración prevista sin efecto). Las concentraciones en el sedimento se convirtieron en concentración de agua (Cpw) según lo estableció Schwarzenbach y Westall (1981):

$$C_{pw} = C_s / K_d$$

Donde C_s es la concentración del agroquímico en sedimento y K_d es el coeficiente de sorción lineal. El valor de K_d se calculó utilizando el coeficiente de partición carbono orgánico-agua (K_{oc}) y la fracción de carbono orgánico (f_{oc}) en sedimentos, utilizando

$$K_d = K_{oc} \times f_{oc}.$$

El K_{oc} se calculó en base a la formula:

$$\text{Log } K_{oc} = a \times \text{log } k_{ow} + b$$

Donde a y b son constantes de 0.72 y 0.49 respectivamente Schwarzenbach y Westall (1981).

El f_{oc} (anexo tabla 22) se calculó a partir del contenido de materia orgánica de cada sitio (anexo tabla 20). Se tomó el valor de materia orgánica en el sedimento y se asumió un valor típico del 50% del porcentaje de carbono en esa materia orgánica (Jackson, 1964; Hedges y Stern, 1984).

Las concentraciones de plaguicidas como no fueron cuantificables, se reemplazaron por la mitad del límite de detección (Mac Loughlin et al., 2017; Merga et al., 2021).

Los valores de PNEC se calcularon dividiendo el NOEC más bajo a largo plazo de las especies más sensibles por un factor de evaluación, que fue 10 cuando había datos disponibles de tres niveles tróficos (peces, macroinvertebrados, y algas), 50 para los casos en los que sólo había datos disponibles de dos niveles, y 100 para todos los demás casos (anexo tabla 23) (Palma et al., 2014). Los puntos finales de toxicidad se obtuvieron de la base de datos de propiedades de plaguicidas en PPDB, 2024 Universidad de Hertfordshire.

Como el enfoque RQ supone un efecto de concentración aditivo, donde la toxicidad de la mezcla se basa en la suma de los efectos de cada plaguicida, se calculó la suma de RQ ($\sum RQ$) para cada sitio de muestreo. Una $\sum RQ < 0,01$ indica un riesgo ambiental

insignificante, $0,01 \leq \sum RQ < 0,1$ indica un riesgo bajo, $0,1 \leq \sum RQ < 1$ indica un riesgo medio y $\sum RQ \geq 1$ indica un riesgo alto (Sanchez-Bayo et al., 2002; Palma et al., 2014).

Resultados

Caracterización ambiental

Descripción fisicoquímica de la cuenca del Arroyo Maldonado

Como caracteriza a los ambientes estuarinos, las variables fisicoquímicas (conductividad, pH, Temperatura, OD) evidenciaron importantes fluctuaciones (tabla 9).

El punto 14 dulceacuícola en zona alta es el que presentó pH más elevado y además fue el sitio de mayor porcentaje de materia orgánica. Los sitios 1 y 2 de la desembocadura son los que presentaron mayor conductividad. Por otro lado el sitio 12, que es de una zona rural y está aguas debajo de un tambo de gran envergadura fue el que presentó menor concentración de oxígeno disuelto.

La sub cuenca del Maldonado presentó mayor conductividad que la del San Carlos, con valores de $474 \pm 157 \mu\text{S/cm}$ y $217 \pm 219 \mu\text{S/cm}$ respectivamente, y lo opuesto ocurrió con el OD que presentó concentraciones de $7 \pm 3,5 \text{ mg/L}$ y $9 \pm 2,7 \text{ mg/L}$ para la del Maldonado y San Carlos respectivamente.

Tabla 9. Sitios muestreados, Tipo de ecosistema, Descripción del sitio, pH, temperatura (°c), conductividad (μS/cm) y oxígeno disuelto (mg/L), con sus respectivos desvíos estándar. Sitios del 1 al 3 representan la marisma, 4 al 12 zona media, y 13 al 19 zona alta. Se marca en negrita valores mínimos y máximos.

Sitio	Ecosistema	Descripción	pH	Temp(°c)	Cond (μS/cm)	OD (mg/L)
1	Estuarino	Urbano	7,04±1,64	18,8±5,6	25128±20978	10,9±1,5
2	Estuarino	Urbano	7,9±0,5	21,2±7,3	20685±5635	11,2±1,3
3	Estuarino	Urbano	7,83±0,1	18,5±8,6	804,3±255	9,1±3,1
4	Dulceacuícola	Urbano	7,445±0,3	20,8±7,9	317,5±223	5,4±3,6
5	Dulceacuícola	Sub urbano	7,6±0,6	19,8±8,2	513,9±457	9,4±2,8
6	Dulceacuícola	Sub urbano	7,18±0,2	21,5±9,5	1117,3±718	4,5±2,3
7	Dulceacuícola	Rural	7,805±0,2	18,9±6,6	187,3±56	8,7±2,9
8	Dulceacuícola	Urbano	7,525±0,2	18,2±4,7	540,1±209	4±2,3
9	Dulceacuícola	Sub urbano	7,55±0,5	17,4±5,8	674,4±88	5,6±0,9
10	Dulceacuícola	Rural	7,7±0,3	18,3±7,2	262,6±85	9,6±2,3
11	Dulceacuícola	Rural	7,35±0,2	20±6,3	443,5±44	6,3±2,7
12	Dulceacuícola	Rural	7,525±0,03	17,2±5,3	627±40	1,8±2,3
13	Dulceacuícola	Rural	7,79±0,3	16,2±3,9	405,1±117	8,7±3,1
14	Dulceacuícola	Rural	8,19±0,2	17,2±4,9	426,6±20	10,9±1,9
15	Dulceacuícola	Rural	7,575±0,2	18,4±5,2	387,8±107	9,3±2,4
16	Dulceacuícola	Rural	7,775±0,03	16,5±5,9	261,4±80	10,2±2,4
17	Dulceacuícola	Rural	7,395±0,3	17,4±3,3	107,5±34	8,6±3,6
18	Dulceacuícola	Rural	7,22±0,1	15,7±4,2	103,4±38	8,6±4,4
19	Dulceacuícola	Rural	7,285±0,05	15,9±3,3	132,7±52	9,2±2,7

Características del sedimento de la cuenca

En cuanto al análisis granulométrico podemos observar que en general en la zona baja predominaron las arenas finas o medias y a medida que se avanza hacia zona alta empezó

a aumentar la arena muy gruesa y balasto. Los puntos de zona alta 16 y 19 fue donde se visualizó mayor cantidad de arena muy gruesa mientras que en los sitios de cuenca media 4 y 8 fue donde hubo más limos y arcillas (anexo tabla 21 y figura 11).

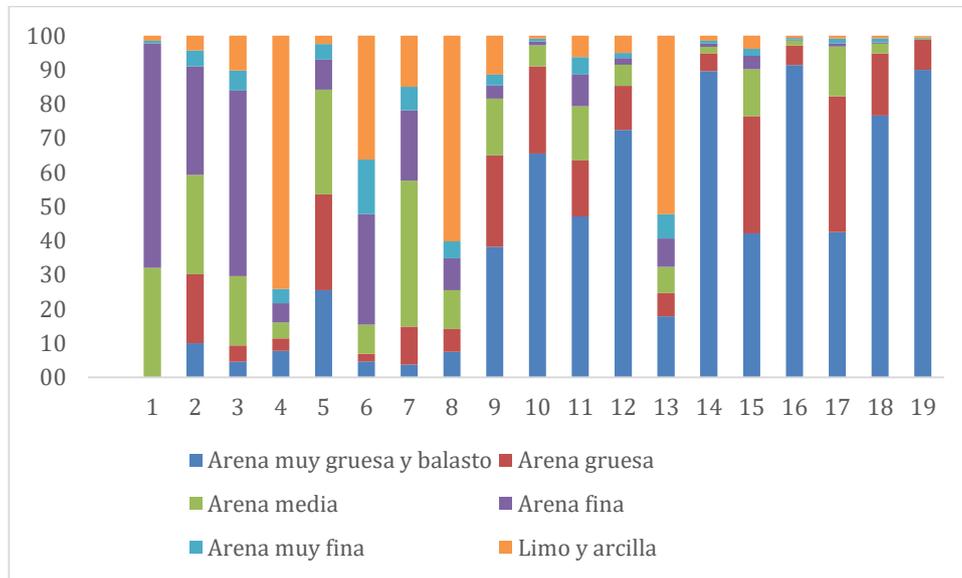


Figura 11. Diferentes tamaños medio de grano en cada sitio de muestreo expresado en porcentaje. Sitios 1 al 3 marisma, 4 al 12 cuenca media, 13 al 19 cuenca alta.

Contenido de materia orgánica en el sedimento

En la marisma no se identificó ningún punto que destacara por una alta concentración de materia orgánica, a diferencia de la zona media y alta de la cuenca, donde los sitios 10 y 14, respectivamente, presentaron las mayores cantidades de materia orgánica en el sedimento (figura 12).



Figura 12. Porcentaje de materia orgánica del sedimento en los diferentes sitios de muestreo. Verde zona baja, azul zona media y roja zona alta.

El análisis de agrupamiento jerárquico, basado en las propiedades fisicoquímicas del agua -temperatura, pH, conductividad y oxígeno disuelto- (figura 13) evidenció grupos similares a la clasificación de cuencas baja, media y alta, utilizados como base según el tipo de ecosistema y altura en la cuenca.

Las excepciones fueron el sitio 3 que es de zona baja y se agrupó con los de zona alta. Este es un punto en el interior del Balneario el Tesoro y con aporte de vertidos de domiciliarios. El sitio 5, que está en la Alameda, la cual es un área rural muy próxima a San Carlos se agrupó con los de zona alta.

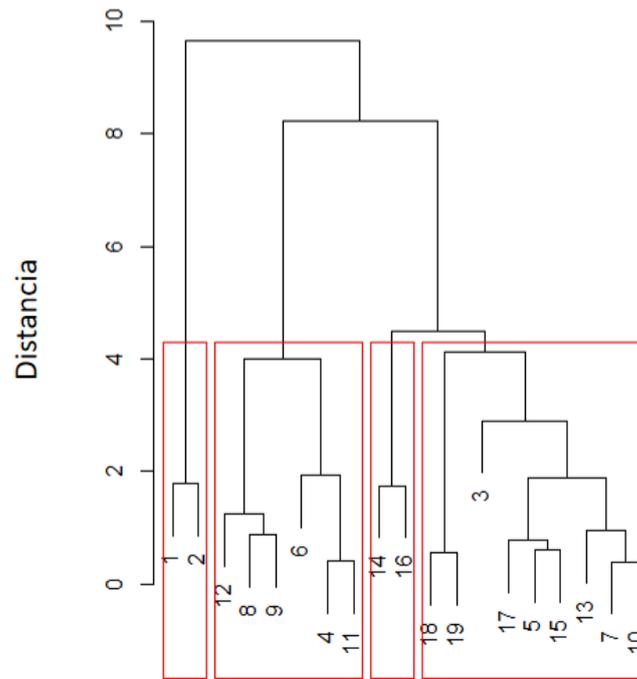


Figura 13. Dendrograma de Cluster jerárquico con distancia de Ward con las propiedades fisicoquímicas del agua entre sitios de muestreo.

Agroquímicos presentes en la cuenca del arroyo Maldonado

Agroquímicos identificados en el sedimento

Todos los agroquímicos detectados en el sedimento de la cuenca (tabla10) estuvieron por debajo del límite de cuantificación que nos arrojó la validación. Azoxistrobín fue el plaguicida identificado con mayor frecuencia, apareció en 9 de los 19 sitios distribuidos por cuenca media y alta. La cañada urbana de San Carlos (sitio 8) y la Alameda (sitio 5) ambos en zona media y a una corta distancia entre sí, fueron los sitios donde más plaguicidas se identificaron en sedimento.

Tabla 10. Presencia de agroquímicos en el sedimento de la cuenca. El número de asteriscos indica la frecuencia con la que fue identificado.

Sitio	Azoxistrobín	Piraclostrobín	Atrazina	Carbendazim	Clorpirifós	Diazinón	Etión	Sulfentrazone
1								
2								
3		*						
4	*	*						
5					*	*	*	
6				*				
7					*			
8	*				*		**	
9	*							
10	*							
11	*							
12	*		*					
13								
14	*							
15	*							*
16								
17								
18								
19	*							

De los agroquímicos presentes en los sedimentos hubo tres fungicidas (Azoxistrobín, Piraclostrobín y Carbendazím), tres insecticidas (Clorpirifós, Diazinón y Etión) y dos herbicidas (Sulfentrazone y Atrazina). Dos de esos compuestos son muy hidrofílicos (Carbendazim y Sulfentrazone), dos levemente hidrofílicos (Azoxistrobín y Atrazina), dos hidrofóbicos (Piraclostrobin y Diazinón), y dos muy hidrofóbicos (Etión y Corpirifós).

La estación del año donde más plaguicidas se detectaron en sedimento fué invierno, seguido por el verano y por último primavera (figura 14).

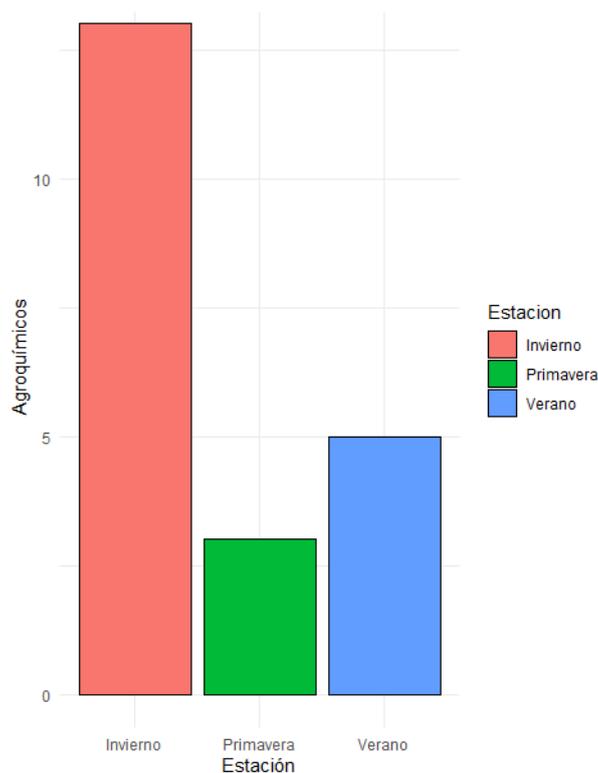


Figura 14. Número de plaguicidas en sedimento de la cuenca del arroyo Maldonado en las estaciones de invierno y primavera del año 2019, y verano 2020.

Se puede observar como lo indica la figura 15, que todos los agroquímicos detectados en la cuenca aparecieron mayormente en invierno, excepto Diazinón y Piraclostrobín que fueron detectados únicamente en verano. En primavera se recuperaron únicamente Azoxistrobín y Etión.

El GLM evidenció diferencias significativas entre el número de plaguicidas en invierno comparada con primavera, no así con el verano (tabla 11).

Tabla 11. Modelos lineales generalizados (GLM) con la variable de respuesta número de plaguicidas en sedimento por sitio y la variable explicativa estación del año. Se presenta la variable, el valor estimado, su error standard (Es) y el valor de significancia (P).

Variable	Estimado	Es	P
Invierno	2,56	0,28	2e-16
Primavera	-1,5	0,64	0,002
Verano	-0,95	0,53	0,07

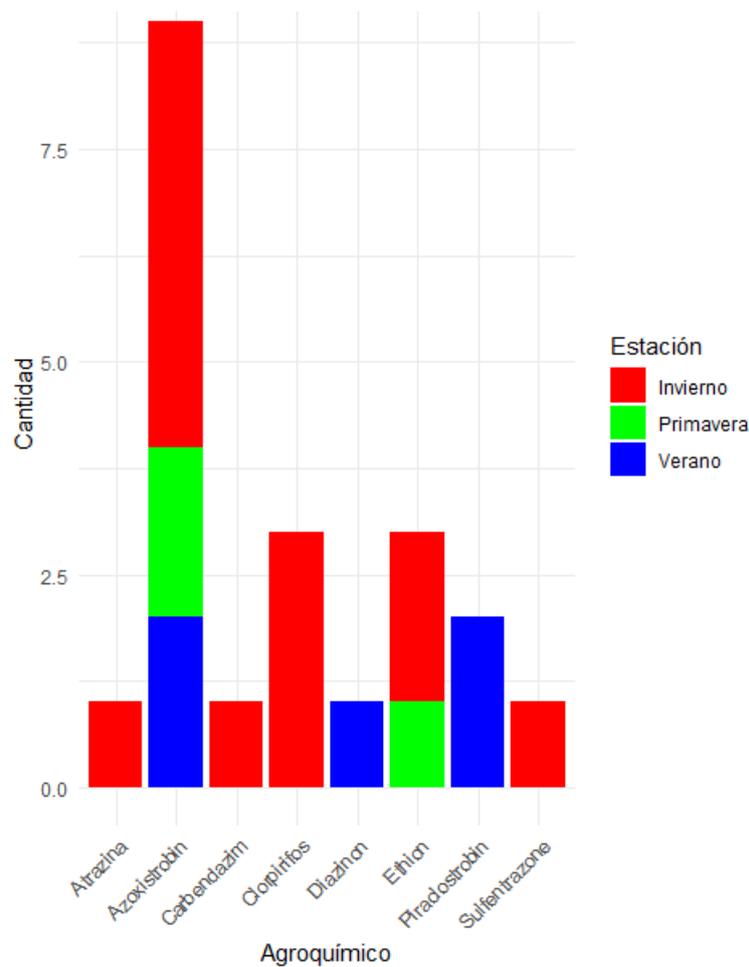


Figura 15. Frecuencia de aparición de cada agroquímico encontrado en la cuenca del Maldonado en las diferentes estaciones del año. En rojo verde y azul, frecuencia de aparición en invierno, primavera y verano respectivamente.

Azoxistrobín fue el plaguicida que apareció con mayor frecuencia en todas las estaciones, seguido por Clorpirifós en invierno. En el verano Piraclostrobín y Azoxistrobín se identificaron con la misma frecuencia.

Cuando se agruparon los sitios según la presencia o ausencia de plaguicidas en sedimento en los 3 muestreos (figura 16) se observó que los puntos de la zona media 5, 7 y 8, los cuales están a corta distancia entre sí, se agruparon juntos. Los sitios de zona baja se agruparon con todos los de la zona alta, exceptuando el punto 15 de las nacientes del Maldonado.

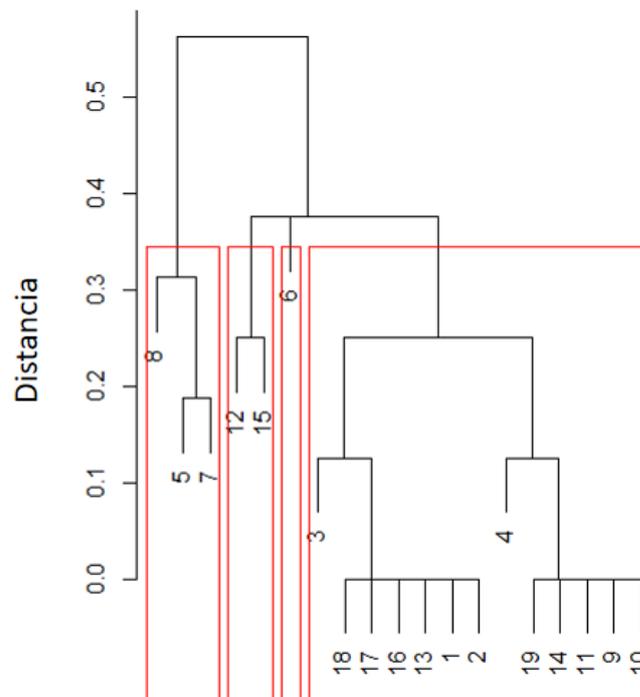


Figura 16. Dendrograma realizado con análisis de agrupamiento Cluster y distancia de Gower considerando la presencia o ausencia de plaguicidas en sedimento en los 3 muestreos.

La función VIF indicó que no existen problemas de colinealidad entre las variables explicativas consideradas (temperatura, OD, pH, conductividad), pero al realizar GLM ninguna de ellas explicó significativamente la cantidad de agroquímicos en sedimento

considerando todos los muestreos. Sin embargo la variable zona sí mostró diferencias significativas de la zona media con respecto a alta y baja (tabla12).

Tabla 12. Modelos lineales generalizados (GLM) con la variable de respuesta número de plaguicidas en sedimento por sitio y la variable explicativa zona de la cuenca. Se presenta la variable, el valor estimado, su error standard (Es) y el valor de significancia (P).

Variable	Estimado	Es	P
Alta	-0,55	0,50	0,26
Media	1,2	0,56	0,04
Intercepto	-0,54	1,12	0,63

Los árboles de clasificación para explicar la presencia de plaguicidas en sedimento (figura 17) tomando en cuenta los tres muestreos y las propiedades fisicoquímicas conductividad, temperatura, pH y oxígeno disuelto, indicaron que la temperatura y la concentración de oxígeno fueron las principales variables que determinaron la presencia de plaguicidas en esta matriz. Sitios con temperaturas menores a 18 °C y con menos de 6.7 (mg/L) de OD presentaron plaguicidas. Los mismos tuvieron un acierto de clasificación para la muestra de entrenamiento de $80 \pm 0,8$ y para la muestra testeo de $70 \pm 0,7$.

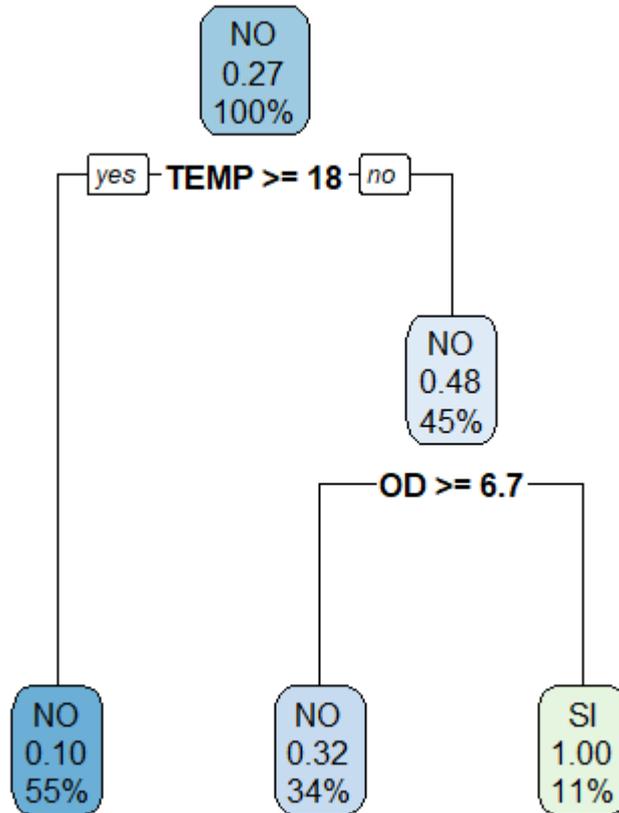


Figura 17. Árbol de clasificación CART considerando la presencia o ausencia de plaguicidas en sedimento con las variables explicativas conductividad, pH, oxígeno disuelto (OD), tamaño medio de grano y temperatura (TEMP). Valor en porcentaje representa la fracción del total que tiene el nodo.

Agroquímicos identificados en agua

En agua se hizo un screening para detectar presencia o ausencia. No hubo límites de cuantificación ya que es un resultado que se obtiene con la validación y en esta investigación no se pudo validar el método.

En dicha matriz como indica la tabla 13, se encontraron dos herbicidas (2.4D y Atrazina) y un insecticida (Diazinón), el 2.4D muy hidrofílico, la Atrazina ligeramente hidrofílica y el Diazinón hidrofóbico.

Tabla 13. Agroquímicos detectados en agua en cada sitio de muestreo.

Sitio	2,4D	Atrazina	Diazinón
1		*	
2	*		*
3	*		
4	*	*	
5	*		*
6			
7	*		
8	*	*	
9	*	*	
10			
11			
12	*		*
13			
14			
15			
16			
17	*		
18			
19			

Al aplicar modelos lineales generalizados (GLM) para evaluar si los parámetros fisicoquímicos del agua pueden explicar la presencia o ausencia de plaguicidas en dicha matriz, se observó que ninguno de ellos resultó significativo ($p > 0,05$).

La zona de la cuenca sí fue estadísticamente significativa para explicar la cantidad de plaguicidas en agua en zona media y baja con respecto a zona alta (tabla 14)

Tabla 14. Modelos lineales generalizados (GLM) con la variable de respuesta número de plaguicidas en agua por sitio y la variable explicativa zona de la cuenca. Se presenta la variable, el valor estimado, su error standard (Es) y el valor de significancia (P).

Variable	Estimado	Es	p
Alta	-1,94	0,99	0,052
Media	2,15	1,01	0,003
Baja	2,2	1,12	0,630

El CART de regresión (figura 18) mostró que la conductividad fue la principal variable para explicar el número de plaguicidas en esta matriz, seguida por el oxígeno disuelto. Cuando la conductividad fue mayor a 543 ($\mu\text{S}/\text{cm}$) en un 32% de los casos se registró más de un plaguicida. A conductividades menores a 543 ($\mu\text{S}/\text{cm}$), y concentraciones de OD menores a 3 mg/L en el 5% se detectaron 2 plaguicidas en los sitios. Los mismos tuvieron un acierto para la muestra de entrenamiento de $94\pm 0,5$ y para la muestra de testeo de $94,2\pm 1,2$.

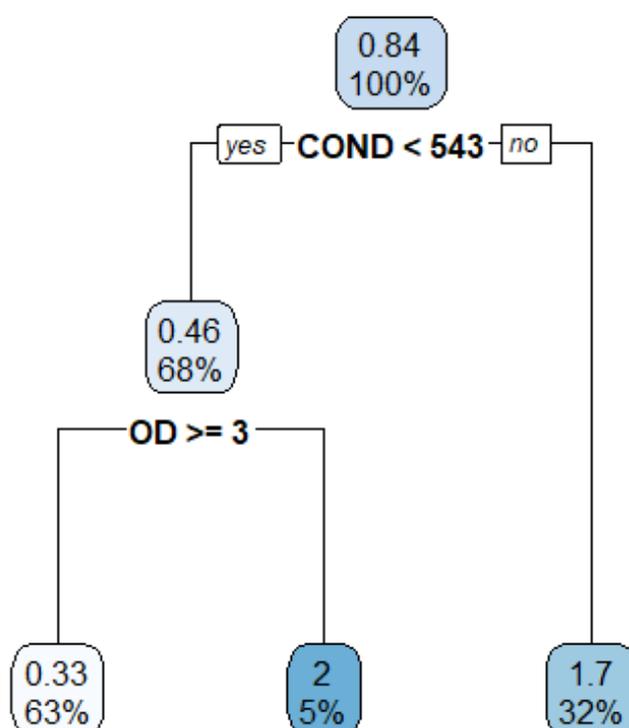


Figura 18. Árbol de regresión CART de agroquímicos en agua en función de las variables fisicoquímicas conductividad (cond), oxígeno disuelto, tamaño medio de grano (media grano), temperatura y porcentaje de materia orgánica. Valor en porcentaje representa la porción del total que representa el nodo, y el valor absoluto el número de plaguicidas.

Algunos agroquímicos como Atrazina y Diazinón aparecieron en ambas matrices (figura 19) pero en diferentes sitios, salvo en el sitio 5 que se ubica en la Alameda (zona media) donde el Diazinón apareció en sedimento y agua. Considerando las dos matrices estudiadas, el fungicida Azoxistrobín y el herbicida 2.4D fueron los agroquímicos que se identificaron con mayor frecuencia entre todos los que se evaluaron (figura 19).

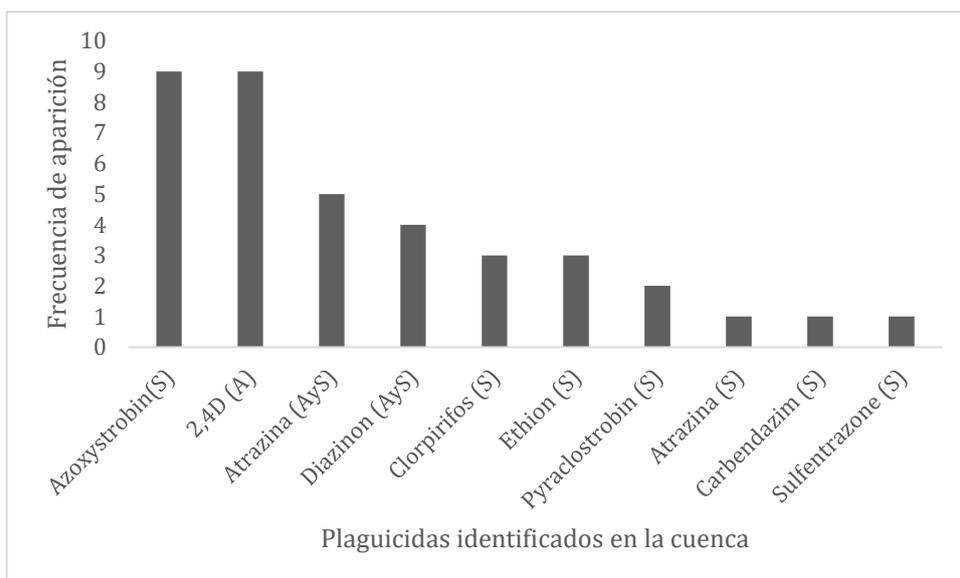


Figura 19. Frecuencia de detección de agroquímicos detectados en la cuenca. Se indica si se encontró en agua (A), sedimento (S), o en ambas (AyS).

La cañada urbana de San Carlos (sitio 8) y la Alameda (sitio 5) ambos en la zona media de la cuenca, fueron los lugares donde más plaguicidas se recuperaron en ambas matrices (figura 20). Dicha zona media fue la que presentó mayor cantidad de plaguicidas (figura 21).

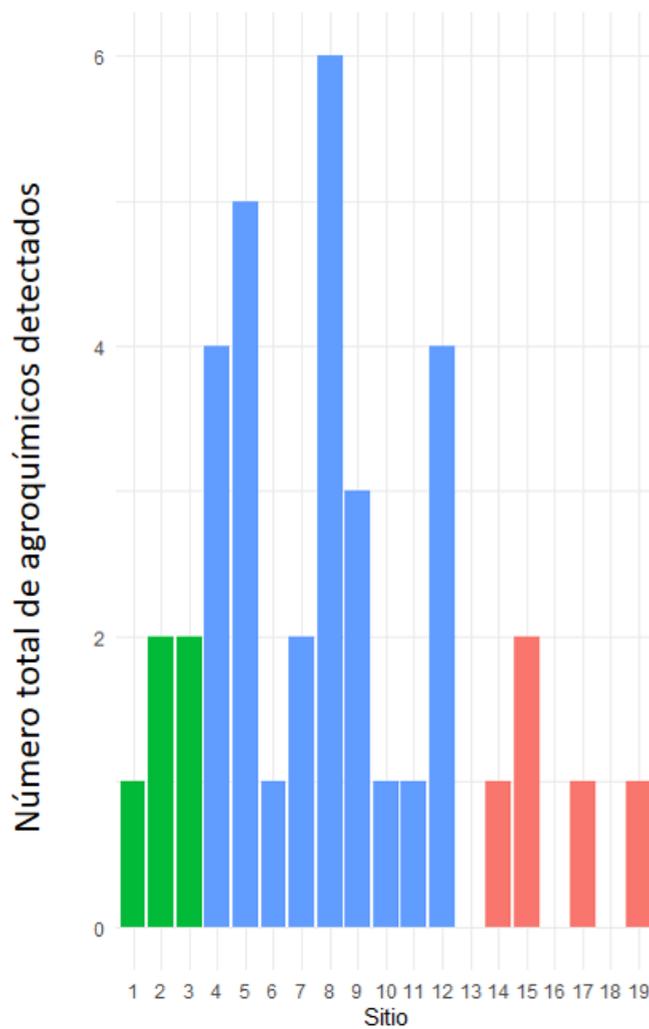


Figura 20. Número de agroquímicos detectado en cada sitio de muestreo en ambas matrices. Los colores indican la zona a la que pertenece cada sitio, baja en verde, media azul, y roja alta.

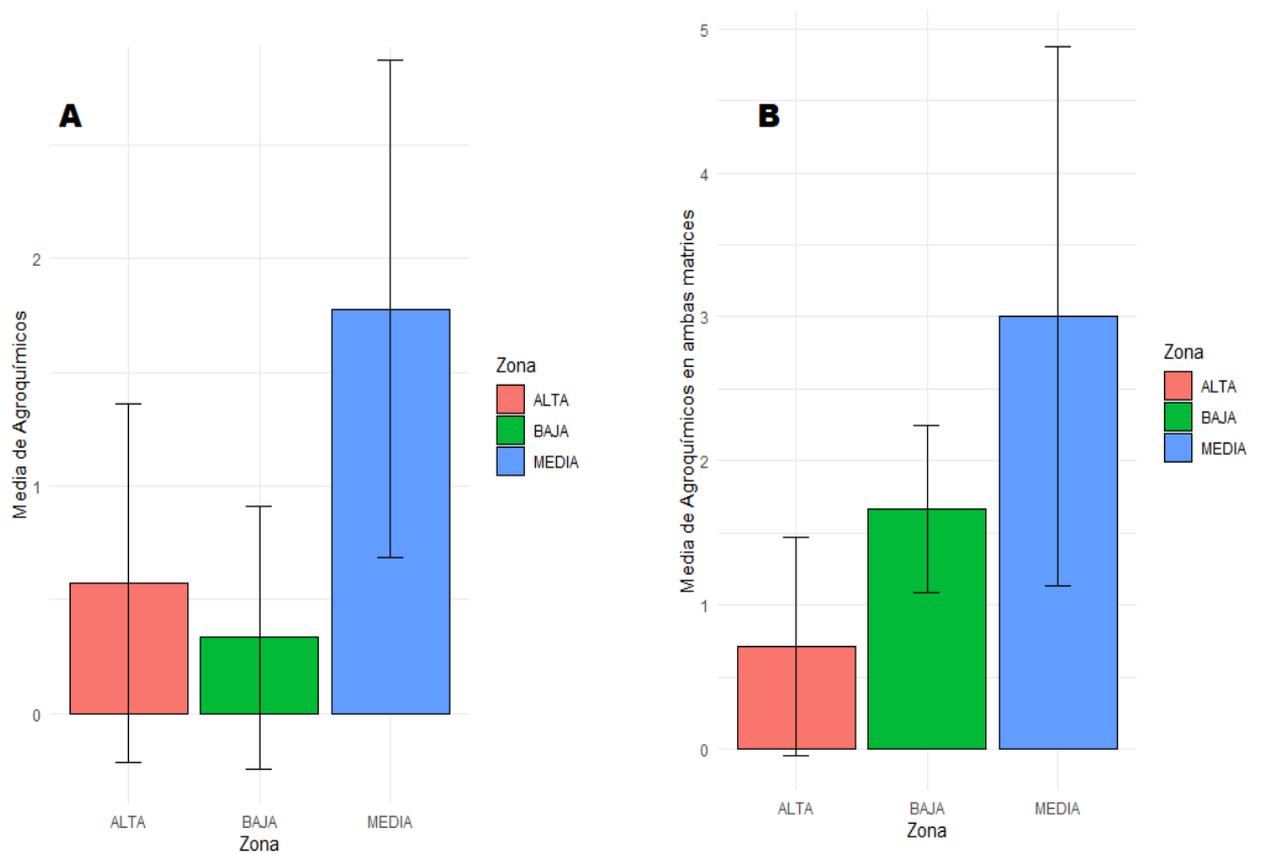


Figura 21. Boxplot de medias con sus desvíos de número de agroquímicos encontrados en cada zona de la cuenca. A, media de agroquímicos en sedimento en cada zona con sus respectivos desvíos; B, media de agroquímicos identificados en ambas matrices con sus respectivos desvíos en cada zona.

Comunidad macrobentónica en la cuenca del arroyo Maldonado

Durante el estudio se identificaron a lo largo de la cuenca del Maldonado 3 Phyla con 9 Órdenes de fauna macrobentónica (Tabla 15). El Filo que tuvo mayor diversidad fue Artrópoda con 5 Órdenes (Decápoda, Anfípoda, Isópoda, Odonata y Díptera), luego Mollusca con 2 Órdenes (Basommatophora y Veneroida) y Anélida con 2 Órdenes (Phyllodocida y Haplotaxida).

Tabla 15. Número de individuos expresado por m² de los diferentes Órdenes encontrados en la comunidad macrobentónica en los 19 sitios muestreados de la cuenca del Arroyo Maldonado. Los sitios 1 al 3 son cuenca baja, los sitios 4 al 12 cuenca media, 13 al 19 alta.

Macrobentos	Marisma			Media									Alta						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Artrópoda																			
Crustácea																			
Decápoda	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
Isópoda	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Anfípoda	0	0	0	0	0	8	0	166	16	0	2	24	38	0	2	0	0	22	0
Insecta																			
Odonata	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	24	8	0	0
Díptera	0	0	0	0	0	0	4	0	2	0	4	22	2	50	0	8	3	20	10
Mollusca																			
Gasterópodo																			
Basommatophora	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	2	0	2	8
Bivalva																			
Veneroida	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32	0	0	0	2	4	40	10	0	2
Anélida																			
Poliqueta																			
Phyllodocida	0	50	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Oligoqueta																			
Haplotaxida	0	0	2	20	30	18	8	52	38	18	18	270	4	6	0	0	0	0	0

En zona baja se identificaron 2 Phyla y en zona media y alta se encontraron individuos de tres Phyla. En la baja predominaron los Anélidos (Phyllodocida) (figura 23, A), en la media Artrópodos (Anfípodos) (figura 22, B) y Anélidos (Haplotáxida) (figura 23, D) y en la alta Artrópodos (Diptera y Odonata) (figuras 22, E y 22, C).

El punto 14 fue donde se encontraron mayor cantidad de Órdenes con 5 (Decápoda figura 23, F y G, Díptera (*Tabanidae*), Veneroida figura 23, H y Haplotáxida figura 23, E y 23, F) y Odonatos.

Por otro lado, los sitios donde menos Órdenes se encontraron fueron el sitio 1 (desembocadura del Arroyo Maldonado), 2 (puente de la Barra), y 5 (en Alameda aguas abajo de la descarga del saneamiento de San Carlos) con solamente 1 Orden identificado, debido a Isópodos (figura 22, A), poliquetos pertenecientes a Philodocida (figura 23 A, B y C) y oligoquetos del Orden Haplotáxida (figura 23, D, E y F) respectivamente. La Alameda fué el único sitio fuera de zona baja con un solo Orden de bentos identificado. Los sitios donde mayor abundancia de individuos se encontró estuvieron en zona media. En particular el sitio 12 ubicado después del Tambo de Talar (con 316 individuos (270 del Orden Haplotáxida) seguido por el sitio 8 (cañada urbana de la ciudad de San Carlos) con 218 (166 Anfípoda y 52 Haplotáxida).

Se observaron larvas de Odonata (Figura 22, C y D) en el punto 4 de zona media (cañada sobre el camino Eguzquiza), en el sitio 14, ubicado aguas abajo de un olivar, y en el sitio 16 ubicado en campo natural y en Paso López (17) ambos en cuenca alta.

El Filo Mollusca fue más abundante en el punto 16 por la presencia de individuos del macrobentos pertenecientes al Orden Veneroidea (figura 23, H e I). En Abra de Perdomo (10), Nacientes del Maldonado (14), Olivares sobre el Maldonado (15), Herbácea (16), Paso López (17) y nacientes del San Carlos en el cerro Catedral (19) se encontraron individuos del Orden Veneroidea de la almeja asiática exótica *Corbicula* sp (Cf. *C. Fluminea*). En los puntos 9, 16, 18 (forestales aguas arriba del Paso López) y 19 se identificaron Molluscos del Orden Basommathopora (Cf. *Biomphalaria*) (figura 23, H, ver flecha). Únicamente en dos sitios se visualizaron los dos Órdenes de moluscos identificados a la vez, ambos en zona alta (16 y 19).

Dentro de Anélidos donde hubieron mayor cantidad de individuos, fué después del tambo (12) posteriormente en la cañada urbana de San Carlos (8), debido a la presencia de individuos del Orden Haplotáxida.

La presencia del poliqueto estuarino *Laenoreis pandoensis* (figura 23 A, B y C) en los sitios 2 y 3 indica un ecosistema estuarino.

Durante el muestreo se observó la presencia de algunos individuos que no fueron extraídos en el corer al momento de sacar la muestra, como por ejemplo en 6 sitios se observó durante el muestreo la presencia de *Pomácea spp* (Orden Mesogastrópoda), en punto 4, 6,7, 9,10 y 16. También en el punto 2 se visualizó la presencia del cangrejo *Neohelice granulata*, del anélido *Heteromastus* (figura 23, G) y de caparazones de individuos del Orden Veneroidea familia Pharidae (Muergos), en el punto 5 se observó el cangrejo *Cyrtograpsus sp* y en el sitio 9 el Gasterópodo del Orden Mesogastropoda (*Heleobia sp*).

En el sitio 11 dulceacuícola de zona media encontramos al extraer el corer la presencia de un individuo que por tamaño y forma identificamos como del Filo Priapúlido (figura 22, H).

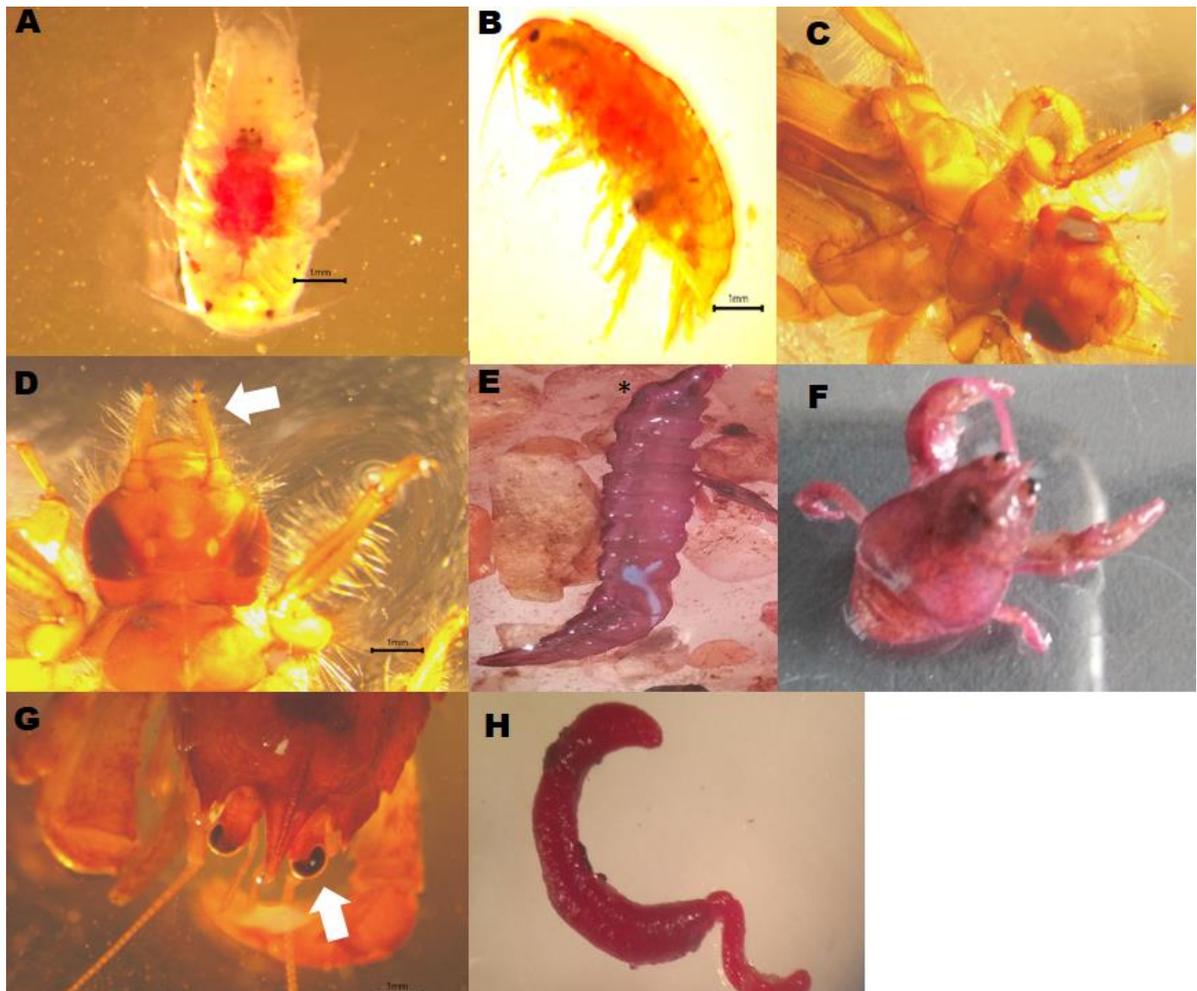


Figura 22. Ejemplares de comunidad macrobentónica colectados en la cuenca del Arroyo Maldonado. A, Isópoda, ejemplar *Excireolana sp.*; B, Anfípodo; C, Detalle de región cefálica y torácica de larva de Odonata; D, Detalle máscara larva Odonata (flecha); E, Larva de Díptera, *Tabanidae*; F, Decápoda, ejemplar de *Aegla sp.*; G, Detalle ojos pedunculados Decápoda (flecha); H, Ejemplar de Priapulido.

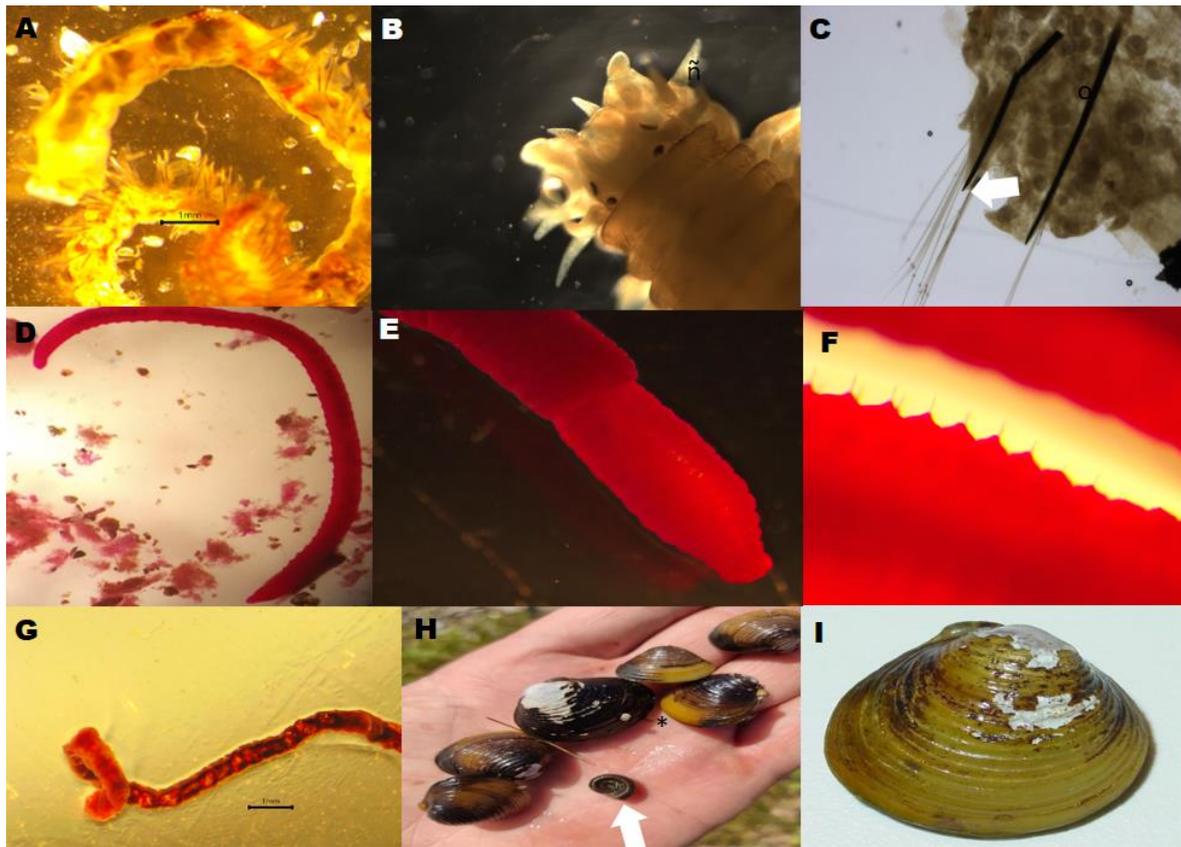


Figura 23. Ejemplares de comunidad macrobentónica colectados en la cuenca del Arroyo Maldonado. A, Phylodocida, ejemplar de poliqueto nereidido (*Laeonereis pandoensis*); B, Detalle prostomio de Phylodocida; C, Detalle quetas de Phylodocida en un parapodio (flecha); D, Haplotáxida, ejemplar de oligoqueto dulceacuícola; E, Detalle tagmas de Haplotáxida; F, Detalle quetas de Haplotáxida; G, Phylodocida, ejemplar de otro poliqueto, *Heteromastus*. H, Ejemplares de Mollusca. Bivalva Veneroidea (*Corbicula sp*) y un ejemplar de Gasterópoda, Basommatophora (ver flecha); I, Ejemplar de Veneroidea, *Corbicula sp.*

El análisis de cluster con distancia de Jaccard (figura 24) en base a la presencia o ausencia de los diferentes Órdenes de bentos identificados en la cuenca, muestra que los puntos de

la marisma 1, 2 y 3 se agrupan, juntos. Los de zona media se dividen en dos subgrupos, uno que incluyó los sitios 13 y 14 de zona alta, y otro con sitio 18 correspondiente a aguas abajo de una plantación de eucaliptus. Los restantes de zona alta se agrupan juntos.

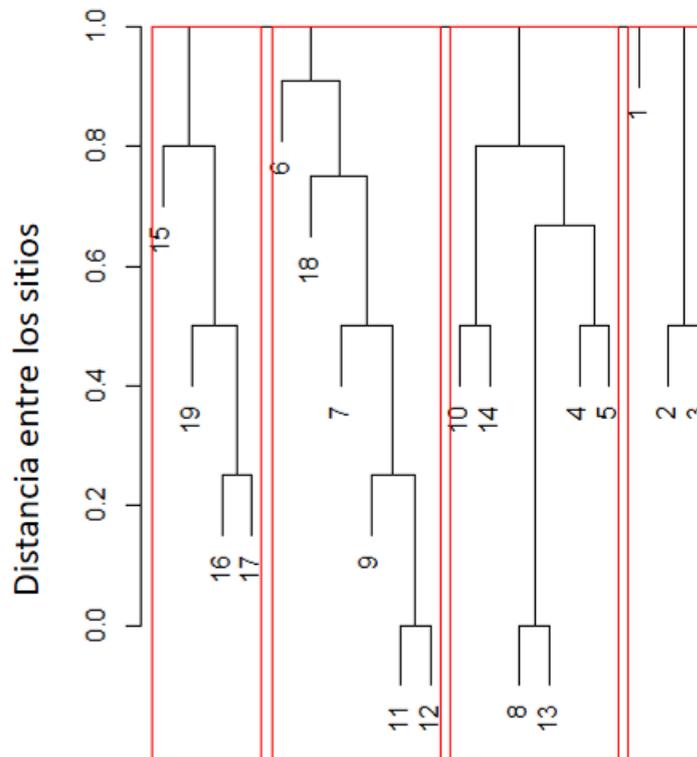


Figura 24. Dendrograma de agrupamiento con distancia de Jaccard considerando la presencia o ausencia de los diferentes Órdenes de la comunidad bentónica.

Evaluación de riesgos

El cálculo del cociente de riesgo es una aproximación del riesgo de diferentes taxas expuestos a diferentes agroquímicos. Los resultados (tabla 16) indican que cuatro agroquímicos presentan un cociente de riesgo medio o alto (Etión, Diazinón, Carbendazím y Piraclostrobín). El sitio 6 que corresponde a una cañada que cruza la perimetral de la ciudad de Maldonado sobre el humedal del Arroyo Maldonado fue el que presentó mayor riesgo. Con un riesgo medio según la clasificación utilizada por Sanchez

Bayo et al (2002) y Palma et al (2014) se encuentra la cañada urbana de San Carlos (sitio 8), la naciente del Maldonado (15) y aguas abajo de la planta de tratamiento de San Carlos (Alameda sitio 5). La zona de la cuenca donde se registraron más puntos con riesgo medio o alto es la media.

Tabla 16. Cociente de riesgo (RQ) de los diferentes plaguicidas identificados en sedimento de la cuenca del arroyo Maldonado. Sumatoria de los RQ de los plaguicidas en cada sitio (Σ). Se resaltan en negrita sitios con riesgo medio o alto.

Cociente de riesgo (RQ)									
	Fungicidas			Herbicidas		Insecticidas			
Sitios	Azoxistrobin	Carbendazim	Piraclostrobin	Atrazina	Sulfentrazone	Diazinón	Etión	Clorpirifós	Σ
1									0.000
2									0.000
3			0.012						0.012
4	0.014		0.063						0.077
5						0.019	0.219	0.029	0.268
6		9.274							9.274
7								0.099	0.099
8	0.010						0.593	0.078	0.681
9	0.010								0.010
10	0.002								0.002
11	0.005								0.005
12	0.021			0.007					0.027
13									0.000
14	0.002								0.002
15	0.011				0.383				0.395
16									0.000
17									0.000
18									0.000
19	0.028								0.028

Exposición del macrobentos de la cuenca del Maldonado a agroquímicos

En la marisma se encontró que poliquetos y oligoquetos están expuestos al fungicida Piraclostrobín en el sedimento.

En cuenca media se identificaron individuos de los Órdenes Haplotáxida, Diptera, Anfípoda, Basommatophora y Veneroidea. Todos los Órdenes detectados están expuestos al Azoxistrobín. Haplotáxida por su parte es el Orden que está más expuesto a plaguicidas ya que todos los plaguicidas detectados en esta zona (Atrazina, Azoxistrobin, Carbendazim, y los insecticidas Etión, Diazinón y Clorpirifós), tienen contacto con dichos organismos en algún sitio. Diptera además de al Azoxistrobín está expuesto a Atrazina y al insecticida Clorpirifós (hay un solo punto de la cuenca donde un insecticida aparece en sedimento con insectos) y para finalizar los Anfípodos estuvieron en contacto con Clorpirifós y Etión.

En la cuenca alta ocurrió lo mismo que en cuenca media, todos los Órdenes identificados estuvieron expuestos al fungicida Azoxistrobín. Además, los Anfípodos y Veneroidea estuvieron en contacto directo con Sulfentrazone. Corbicula sp por ser filtrador está más expuesta al herbicida 2.4D en agua.

Discusión

Caracterización ambiental

La variabilidad espacial de la cuenca se vió claramente reflejada en los parámetros fisicoquímicos analizados (tabla 9). Los sitios cercanos a la desembocadura fueron los que presentaron conductividad más elevada. El sitio 6 (cañada perimetral) próximo a la marisma, presentó una conductividad elevada probablemente debido a impacto antrópico (urbanización) por descarga de sales como ya se ha reportado en otros lugares (Ramírez et al., 1997) ya que no es esperable que llegue agua salobre hasta este lugar (dato que no se puede concluir en esta investigación). Lo mismo ocurre en los sitios 12 (después de tambo) y 9 (después de vertedero) puntos dulceacuícolas y claramente impactados que presentan valores de conductividad relativamente altos. De los sitios de la zona alta, el 14, fue el que presentó mayor conductividad, sitio ubicado después de una zona de plantación de olivos con producción de aceite. Esta mayor conductividad puede deberse a que restos de la producción de aceite (alpechín) que incrementan la concentración de sales en cuerpos de agua (Paredes y Britos, 2012). Este sitio además presentó el mayor valor de pH de la cuenca ($8,19 \pm 0,2$). De todas maneras, todos los sitios de la cuenca estuvieron dentro del marco reglamentario para este parámetro establecido por el código de aguas decreto 253/79 para cuencas clase 3 (6,5-8,5).

En cuanto a los valores de oxígeno disuelto, que reflejan la demanda de consumo de oxígeno (químicas y biológicas), el sitio después del tambo por camino de los Ceibos (12) fué el sitio con los valores de OD más bajos ($1,8 \pm 2,3$ mg/L), seguido por la cañada urbana de San Carlos (8) y la cañada de la perimetral de Maldonado (6). Estos tres sitios no cumplen con lo que establece el decreto 253/79 para este tipo de cuencas donde el mínimo de OD establecido es 5 mg.L^{-1} , indicando que son sitios altamente impactados.

Contrastando con esto, todos los puntos de zona alta presentaron al menos $8,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de OD lo que que indica en parte que es una zona menos impactada.

El patrón espacial de tamaño de grano, con predominio de arenas muy gruesa en zona alta y finas en zona baja, fue similar a otras cuencas y estuarios de la región (Arocena, 1996; Gimenez et al., 2014). Los sitios 4, 8 y 13 presentaron un sedimento con abundante limos y arcillas. Los sedimentos limo-arcillosos generan condiciones ecológicas y ambientales relacionadas con la biota residente y la deposición de contaminantes, y pueden actuar como trampas para sustancias tóxicas que, a su vez, podrían resuspenderse fácilmente (Muniz et al., 2015). Esto coincide con los resultados de esta tesis con respecto a plaguicidas.

En cuanto al contenido de materia orgánica, no se visualizó ninguna tendencia comparando las zonas de la cuenca. El punto de muestreo del Abra de Perdomo (sitio 10) con gran cantidad de materia orgánica en su sedimento, fue muy impactado en los últimos años (observación personal), se ha talado mucha de su vegetación ribereña, y existen casas cercas sin saneamiento por lo que los restos domiciliarios podrían ser los responsables de un potencial incremento de la materia orgánica (no se cuentan con datos previos). Posiblemente la erosión del suelo pueda estar influyendo también en este parámetro como se ha visto en otras cuencas (Waters, 1995).

En el análisis de agrupamiento, los sitios de la desembocadura 1 y 2 se agruparon juntos, considerando sus propiedades fisicoquímicas (figura 13) ya que ambos pertenecen a la marisma de la cuenca. Sin embargo, el sitio del Tesoro a pesar de ser un claro punto estuarino no se agrupó con ellos. Esto puede deberse a que es un pequeño afluente de la cuenca (los sitios 1 y 2 están sobre el margen del arroyo principal) más al interior del balneario, con mayor influencia relativa de las aguas servidas, lo que podría explicar la menor conductividad y oxígeno disuelto en comparación con los otros puntos del estuario.

Los puntos urbanos de zona media se agrupan juntos, pero se separan los sitios más alejados de la ciudad como son la Alameda (5), cañada del Alemán (4), Abra de Perdomo (10) y el sitio de arroyo San Carlos por ruta 9 (7), esto podría deberse a que la urbanización alteró los parámetros fisicoquímicos naturales para esta zona. Estos puntos que no son urbanos, igualmente tienen un impacto antrópico ya que La Alameda recibe efluentes de la planta de tratamiento de la ciudad de San Carlos y en Abra Perdomo existen unas cuantas familias viviendo sin saneamiento. La cañada del Alemán por su parte podría estar recibiendo efluentes cloacales de chacras de la zona así como materia orgánica asociada con el trabajo agrícola.

Plaguicidas presentes en la cuenca

De los 8 plaguicidas identificados en sedimento en los sitios de muestreo de la cuenca, el fungicida Azoxistrobín fue el que se presentó con mayor frecuencia, ya que se detectó en 9 sitios distribuidos en las zonas media y alta. Este fungicida es ligeramente hidrofílico y tiene una alta capacidad de adherirse a la materia orgánica ($K_{oc}=589$), lo que facilita su acumulación en el sedimento.

Los insecticidas se encontraron solo en la zona media de la cuenca por lo que podría estar asociado a alto uso domiciliario de los mismos y una baja dispersión en el medio. En la Alameda de San Carlos (5), se registraron 3 agroquímicos órgano fosforados (Etión, Diazinón, Clorpirifós). Este punto suburbano está aguas abajo de la salida de saneamiento de la planta de potabilización de OSE. Estos efluentes pueden contener una amplia variedad estructural de contaminantes orgánicos traza (Allinson et al., 2015). También es un área de pastoreo de rumiantes y equinos a los que se les aplica como garrapaticida y mosquicida, productos en base a Etión y Diazinón pudiendo ser esta otra fuente de contaminación de los sedimentos. De los 3 compuestos órgano fosforado solo el Diazinón se identificó en muestras de agua (en tres sitios), además se identificó una vez en

sedimento. Aunque es hidrofóbico puede presentarse en el agua adherido a partículas orgánicas (alto Koc) e inorgánicas suspendidas, que pueden haber estado presentes en las muestras de agua, ya que no se filtraron previo a su análisis. Los organofosforados son los agroquímicos más utilizados en la agricultura de todo el mundo y la OMS los considera de los más peligrosos para los vertebrados. Estos se hidrolizan fácilmente y son altamente tóxicos para los insectos (Sumudumali y Jayawardana, 2021). El uso de Diazinón, además, está prohibido en la Comunidad Europea (Pesticide Action Network, 2022). El Clorpirifós es un químico hidrofóbico de baja solubilidad en agua, el cual apareció en muestras de sedimento de tres puntos de zona media. El mismo está prohibido en más de 40 países por considerarse un plaguicida altamente tóxico. Es persistente en el ambiente y se puede transportar largas distancias, llegando por ejemplo al Ártico y otras regiones remotas (Pesticide Action Network, 2022). En Uruguay el uso del Clorpirifós está regulado desde el año 2019 por la resolución de la DGSA 503/019 y al igual que el Azoxistrobín, deben usarse únicamente bajo receta profesional. En la cuenca del Maldonado no apareció Clorpirifós en agua, algo que si se ha visto en otras zonas de Uruguay (Ernst et al., 2018; Griffero et al., 2019; Rodriguez-Bolaña et al., 2023).

El herbicida altamente hidrofílico Sulfentrazone, se detectó únicamente en un punto en las nacientes del Maldonado. Este se utiliza para eliminar “malezas” de hoja ancha y gramíneas, por lo que podría explicar su presencia la siembra de praderas para el pastoreo de ganado, una actividad muy extendida en esa zona. El Piraclostrobín se identificó en dos sitios cercanos de cuenca baja y media en el sedimento. Este fungicida tiene una altísima capacidad de adherirse a la materia orgánica (Koc=9304) y es frecuentemente usado para los frutales. En la zona de cañada del Alemán existen innumerables chacras con plantaciones de frutales y un viñedo importante, que podrían estar usando dicho agroquímico.

En un reciente estudio en agua de la laguna del Cisne se detectaron varios de los agroquímicos identificados en este estudio para la cuenca del Arroyo Maldonado, como Atrazina, Etión, y Diazinón (Rodríguez-Bolaña et al., 2024). Por otra parte, Carbendazím, Azoxistrobín y Atrazina fueron identificados previamente en agua de la Laguna de Rocha y Castillos (Griffero et al., 2019). En este estudio Carbendazím y Azoxistrobín se detectaron en sedimento, pero no en agua. El herbicida Atrazina, en ambas matrices.

En cuanto a la partición ambiental (agua y sedimento) la mayoría de los agroquímicos estudiados en la cuenca del Maldonado, se identificaron en una sola matriz ambiental. Solo Diazinón y Atrazina estuvieron presentes en ambas matrices. Estos resultados reflejan lo observado en otros cuerpos de agua (Toth et al., 2024).

Existieron diferencias estadísticamente significativas entre la cantidad de plaguicidas en invierno y primavera siendo invierno la estación del año donde más plaguicidas se identificaron, similar a lo estudiado por Griffero et al. (2018) en Laguna de Rocha y Laguna de Castillo. Esto podría atribuirse al uso de Azoxistrobín comúnmente aplicado en esta estación del año para controlar los hongos. A su vez, puede estar influyendo la menor temperatura del agua, que ha sido identificada como un factor que restringe los procesos de atenuación natural, incluida la biodegradación y la fotodegradación (Sánchez Prado, 2007). No hay que dejar de visualizar además, que el aumento de las precipitaciones en invierno produce mayor arrastre de contaminantes a los cauces de agua (Jergentz et al., 2005) algo a evaluar en futuros estudios.

Cuando se analizó como se agrupan los sitios en base a la presencia o ausencia de plaguicidas en el sedimento se observó que los dos sitios con más plaguicidas, el 5 y el 8, se agruparon juntos con el punto de arroyo San Carlos en la ruta 9. Esto refleja la proximidad espacial entre los sitios.

En agua el plaguicida detectado en más sitios fue el herbicida 2,4-D. Este es un químico muy hidrofílico, y con altísima solubilidad en agua por lo que era esperable detectarlo en esta matriz. Fue identificado en 9 sitios, todos los de zona baja (excepto en la desembocadura), en varios puntos de zona media, y en un único punto de zona alta correspondiente al arroyo San Carlos (Paso López). Este es un herbicida que ha sido descrito como uno de los contaminantes con mayor distribución en todo el mundo (Islam et al., 2018) y es muy utilizado en nuestro país (Cárcamo, 2020). Comúnmente usado en cultivos de verano (estación donde se colectaron las muestras de agua) como preparación de cama de siembra por ejemplo para sorgo y es selectivo en praderas con trébol y alfalfa, malezas de hoja ancha y otra vegetación en pastizales. El 2,4-D se ha detectado muchas veces en aguas superficiales y subterráneas (Islam et al., 2018) ya que tiene un alto índice de lixiviación (3,82) por lo que es esperable que si se busca en napas superficiales de la zona, esté presente. Dichas aguas subterráneas pueden ser también fuente de ingreso del químico a la cuenca.

El herbicida Atrazina, incluido por la OMS en 2017 en la lista de productos carcinogénicos, fue detectado en ambas matrices: en cuatro puntos en agua y en un único sitio en sedimento. Este patrón coincide con lo reportado en otros estudios, que señalan una mayor frecuencia de detección en agua debido a su carácter levemente hidrofílico. El riesgo de exposición a la Atrazina puede ser alto debido a una relativamente alta capacidad de adherirse a la materia orgánica ($K_{oc}=100$), pudiendo con el paso del tiempo, acumularse en forma secundaria en el sedimento (Cui et al., 2020). La Atrazina es considerada también como un contaminante persistente (Pérez Parada et al., 2018). Si bien tiene un tiempo de degradación estimado de 3 meses, en suelos y sedimentos se ha observado que puede persistir hasta por 4 años (Jablonowski et al., 2011), por lo que esta matriz se convierte en un importante sumidero y fuente secundaria. Esto podría explicar

su presencia en el ambiente, a pesar de que su uso está prohibido en Uruguay desde hace casi 10 años (DGSA, 2016). Otra hipótesis alternativa es que se siga siendo utilizado por los productores que tenían almacenados grandes volúmenes, o que se esté ingresando este agroquímico por contrabando. La Atrazina a su vez, tiene un transporte fluvial estable a largo plazo (Ouyang et al., 2020) y se ha demostrado que puede transportarse largas distancias por agua de lluvia (Brun et al., 2008). Produce impactos negativos a bajas concentraciones durante largos períodos de exposición (Graymore et al., 2001). Al ingresar a las cuencas, gran parte de la Atrazina se degrada a des-etil-atrazina, y en muchos casos, las concentraciones de estos metabolitos superan a las de la molécula original (Ouyang et al., 2020). En este estudio no se midieron metabolitos secundarios, por lo que no fue posible evidenciar la presencia de este compuesto. El análisis descriptivo y predictivo (CART) para explicar la presencia de plaguicidas en sedimento (figura 17) nos indicó que el OD es una variable ambiental que se asocia fuertemente con un sitio perturbado por agroquímicos. El mismo análisis para el agua (figura 18) nos muestra la fuerte influencia del gradiente salino en la cantidad de químicos presentes en esta matriz, lo que concuerda con una de las hipótesis de la tesis. El aumento de la salinidad genera cambios en la solubilidad acuosa de un componente químico orgánico, normalmente disminución, lo que aumenta el potencial de bioacumulación (Hutton et al., 2021). Debido a esto, es llamativo el aumento del número de plaguicidas en la marisma cuando se considera la matriz agua.

Es de destacar que muchas veces los plaguicidas se aplican combinados. Se sabe por ejemplo que el 2.4D se aplica asociado con Glifosato, por lo que podemos suponer que, si bien su presencia no fue analizada en esta tesis, este herbicida también debe estar presente en la cuenca. Además los agroquímicos vienen en formulaciones complejas con tensioactivos como las aminas grasas etoxiladas, de fuerte impacto negativo en la biota

acuática (Krogh et al., 2003). Se ha detectado que muchos de esos coadyuvantes además son disruptores endócrinos (Defarge et al., 2018) lo que coincide con lo investigado por Bertone (2024) que detectó sustancias disruptoras endócrinas en la cuenca.

Desde el punto de vista de la contaminación por plaguicidas la zona media de la cuenca es la más impactada, al igual que lo evaluado por Bertone (2024) y González (2021), para estrogenicidad y contaminación por coliformes fecales respectivamente. Por lo que las comunidades bentónicas de esa zona están expuestas a diversos tipos de contaminación antrópica.

Comunidad macrobentónica en la cuenca del Maldonado

Como era de esperar, los sitios de la marisma, se agruparon juntos en base a presencia o ausencia de diferentes Órdenes de macroinvertebrados, demostrando que es un dato de valor para caracterizar la cuenca. En esa zona se observa la presencia de Isópodos característicos de las desembocaduras (*Excirolana* spp) y Poliquetos de ecosistemas estuarinos (i.e. *Laeonereis pandoensis*). Estudios previos en el estuario (Villamarzo et al., 2021) identificaron varios Órdenes los cuales también se detectaron en esta tesis, aunque las estaciones del año de muestreo fueron diferentes, y se ha visto que hay diferencias significativas entre número de especies macrobentónicas y la estacionalidad (Lecari y Defeo, 2015). No se visualizaron Gasterópodos en la zona estuarina a diferencia de lo que se observó en estudios preliminares donde fue el Orden con mayor frecuencia de aparición (Villamarzo et al., 2021).

Los sitios donde se encontraron mayor cantidad de individuos fueron ambos de zona media, particularmente el sitio aguas abajo del Tambo (12), y la cañada urbana de San Carlos (8) representado por Haplotáxida y Anfípodos, respectivamente. Estos dos sitios que se agrupan muchas veces juntos, presentan como ya fue mencionado muy baja concentración de OD y alta carga de plaguicidas en agua y sedimento, por lo que podemos

hipotetizar cierta tolerancia de dichos Órdenes a este tipo de impacto antropogénico, como ya fue observado para otros cauces de agua (Roldán, 1999; Jones et al., 2012). El sitio de la cañada urbana de San Carlos (8) y del Alemán (4) tuvieron abundantes limos y arcillas en su sedimento. Esto puede generar obstrucción de los espacios intersticiales del sustrato, lo que dificulta la supervivencia de algunos Órdenes de comunidad bentónica, a la vez que favorece a otros como Haplotáxida (Zweig y Rabeni, 2001), como se vio en esta investigación. Es sabido que los organismos más chicos como los Anfípodos, que generalmente tienen ciclos de vidas más cortos, poseen una ventaja evolutiva en áreas más perturbadas (Villarmarzo et al., 2021), debido a su capacidad para una rápida recolonización de ambientes contaminados y su resiliencia. Esto podría explicar la presencia de individuos de este Orden en sitios como cañada urbana de San Carlos, cañada de la perimetral de Maldonado, aguas abajo del vertedero municipal, y el sitio aguas abajo del tambo, todos sitios con alto impacto antropogénico.

La cuenca alta presentó la mayor abundancia de insectos y moluscos, lo que puede estar asociado a que dicha zona en principio está menos impactada. Específicamente en el punto después del olivar fue donde más individuos de insectos se identificaron, principalmente por la presencia de larvas de Dípteros y Odonatos. También en un sitio de campo natural (16) y Paso López (17) se identificaron ambos Órdenes. En la zona media se visualizaron Odonatos en la cañada del Alemán (4), y como era esperable no hubo presencia de estos insectos en el estuario.

Los Molluscos se observaron en la zonas media y alta, principalmente por la presencia de *Corbicula* sp. En dos sitios, ambos en la zona alta, se identificaron individuos de Veneroidea (*Corbicula* sp) y de Basommatophora (Cf. *Biomphalaria*), siendo éstos últimos dominantes en las nacientes del San Carlos. La fracción mínima de arena en sedimento de los cuales se espera que *Corbicula* sp sobreviva es de 65.9% (Rodríguez et al., 2021).

En esta cuenca se vio que en 5 de los 6 puntos donde se la identificó predominó la arena muy gruesa. La presencia del bivalvo invasor *Corbicula sp* ya ha sido descrita en un punto del arroyo San Carlos (Clavijo et al., 2009). Aunque no hay ningún estudio de la distribución específica de esta especie dentro de esta cuenca, esta tesis permitió detectar que su distribución se ha extendido por gran parte de la cuenca. La introducción de *Corbicula sp* afecta sensiblemente las poblaciones nativas de Unionoida (Lydeard et al., 2004; Clavijo y Scarabino, 2013). *Corbicula sp* tolera un rango de salinidad entre 1 y 13 UPS y no soporta salinidades mayores de 14-15 (Bertrand et al., 2017) por lo que era esperable que no se encontrara en la marisma, pero sí que se extienda aguas arriba de la cuenca. Además, se sabe que las características de *Corbicula sp* pueden variar si el ambiente está contaminado (Ramli et al., 2020) por lo que se podría evaluar la posibilidad de usarlo como bioindicador (Sousa et al., 2008). En los sitios cañada el Alemán (4), cañada urbana (8) y antes de tambo (13) no se encontraron Moluscos bivalvos. Estos son sitios con un sedimento abundante en limos y arcillas lo que puede generar una acumulación de partículas en los órganos de este grupo taxonómico, que dificulta su respiración y alimentación como reportó Jones et al (2012).

Las especies de *Pomacea sp*, poseen tolerancia a muchos disturbios antrópicos (Clavijo y Scarabino, 2013), lo que concuerda con lo observado en esta tesis ya que esta especie se observó en 6 puntos distribuidos en la zona media, algunos de ellos con muy bajos niveles de OD y con contaminación por plaguicidas. También fue registrada en la zona alta, a diferencia de *Basommatophora* que se registró en 4 puntos (3 en zona alta) y ninguno de ellos urbanizado.

Es bien sabido que existe una relación directa entre el número de taxones y los tipos y variedad de sustratos (Richards et al., 1993). Sedimentos de granos finos o muy finos propician la acumulación y descomposición de la materia orgánica (Villarmarzo et al.,

2021). Se ha reportado que los Dípteros son más afines a sedimentos limoso-arenosos (Morelli y Verdi, 2014). Esto se diferencia con lo que se detectó en esta tesis, ya que aparecieron en prácticamente todos los puntos de la zona alta donde el sedimento es mayoritariamente compuesto por arena gruesa, y en varios puntos de zona media. Los resultados podrían indicar que en los puntos 5 y 8 la alta presencia de agroquímicos (Azoxistrobín, Clorpirifós, Etión y Diazinón en sedimento, así como 2.4D, Diazinón y Atrazina en agua) podrían explicar su ausencia.

Evaluación de Riesgos

Tres de los cuatro sitios que tienen un RQ medio o alto están aguas abajo de una ciudad al igual que lo analizado en Laguna de Castillos (Griffero et al., 2018).

El sitio sobre una cañada que atraviesa la perimetral de Maldonado (sitio 6) presentó un RQ de 9,2 por lo que es de alto riesgo ecotoxicológico según Sánchez Bayo et al (2002) y Palma et al (2014). En esta cañada situada en el “Ecoparque del humedal del arroyo Maldonado” se detectó Carbendazim. Dado que se trata de un compuesto con un bajo valor de Kow, su detección en sedimento implica un alto riesgo para las poblaciones acuáticas. Diversos estudios han demostrado que su presencia resulta altamente tóxica, tanto en ecosistemas acuáticos como terrestres (Slijckerman et al., 2004).

El Etión fue el segundo plaguicida de la cuenca con mayor RQ. Fue detectado en dos sitios, dos veces en sedimento de la cañada urbana de San Carlos (8) y una vez en la Alameda (5). De acuerdo con la sumatoria de RQ, ambos sitios de la zona media de la cuenca presentan riesgo medio. En la evaluación de riesgos de la laguna del Cisne (Rodríguez-Bolaña et al., 2023) el Etión presentó mayor RQ. El sitio 8, que presentó un RQ de 0,68, también mostró la presencia de Atrazina y 2.4 D en agua, por lo que se podría suponer que, de haberse considerado la presencia de estos plaguicidas en dicha matriz, el RQ habría sido considerablemente mayor. El sitio 5, como fue mencionado, está aguas

abajo del vertido de aguas servidas pobremente tratadas por OSE. Esto, sumado a la presencia de ganado equino y bovino (actividad que usa frecuentemente plaguicidas) podría explicar el RQ.

En la marisma el riesgo fue insignificante en todos los sitios. Una de las hipótesis de la tesis es que en esta zona debido a la alta conductividad, los contaminantes precipitan, por lo que se podría esperar ser detectados en sedimento. Esto no se observó, posiblemente debido a que los 3 puntos del estuario están próximos a la desembocadura, lejos de donde se estima que comienza la marisma (próximo a la Alameda), por lo que los contaminantes pueden estar acumulándose aguas arriba. Otra posibilidad es que el gran humedal que existe entre los sitios de la ciudad de San Carlos (Alameda y cañada urbana) y el balneario el Tesoro, esté reteniendo los contaminantes (el sitio sobre la perimetral de la ciudad de Maldonado que está sobre los márgenes de dicho humedal fue de alto riesgo), y los agroquímicos que están llegando a la cuenca baja muestreada de la marisma provengan de áreas más próximas (ejemplo zona de la cañada del Alemán sitio 4). Alternativamente puede haber un grado bajo de dispersión de los agroquímicos estudiados.

En la zona alta, todos los puntos presentaron un riesgo muy bajo, excepto el sitio 15, que mostró un riesgo medio debido a la presencia del herbicida Sulfentrazone. En este caso, es posible que sí exista una sobreestimación del riesgo, ya que se trabajó con una concentración equivalente a la mitad del límite de detección (LOD), un valor que influye notablemente en el cálculo del RQ. Para el Sulfentrazone, este valor fue de 25 ppb, considerablemente superior a los 5 ppb que presentan la mayoría de los otros compuestos. Si bien el RQ se considera un método que tiende a sobreestimar el riesgo (Maertens et al., 2022), es relevante señalar que en esta investigación se utilizó como concentración de plaguicida en el sedimento la mitad del límite de detección, tal como sugieren varios estudios para casos en los que las concentraciones de plaguicidas no son cuantificables

(Mac Loughlin et al., 2017; Merga et al., 2021). Entre ese valor usado y el límite de cuantificación, existe un amplio rango de incertidumbre, que podría aumentar el RQ. Por otro lado, no se evaluó el riesgo por la presencia de plaguicidas en agua ya que por dificultades en la validación, no se cuenta con dichos límites, y sumado a lo anterior, no es menor considerar que los plaguicidas, son uno de tantos contaminantes que pueden estar presentes en la cuenca y modificar el riesgo ecotoxicológico.

Exposición de comunidad bentónica a plaguicidas

Formulaciones comerciales de Azoxistrobín y Piraclostrobín han demostrado ser perjudiciales en especies de Anélidos produciendo daño en su ADN y bloqueando la enzima catalasa (Campani et al., 2024). Los fungicidas pueden causar alteraciones en el metabolismo endógeno como disminución de la respiración intracelular (Feng Wan et al., 2025). En la cuenca del Maldonado se detectaron junto a poliquetos y oligoquetos, y en un sitio de la zona media se detectaron ambos fungicidas en contacto directo con macrobentos del Orden Haplotáxida. También se reportó que la exposición al Azoxistrobín, plaguicida identificado en 9 de los 19 sitios muestreados, produce estrés oxidativo en organismos no objetivos (Campani et al., 2024) y cuando es crónica la exposición, disminuye la supervivencia, crecimiento y reproducción de algunas especies de Anfípodos, Moluscos y Dípteros (Kunz et al., 2010). Aunque se desconoce el modo de acción en los invertebrados, se ha observado que el Azoxistrobín afecta la tasa de procesos fisiológicos como la respiración, la frecuencia cardíaca y los movimientos de las extremidades en por ejemplo los crustáceos (Gustafsson et al., 2010). Estas alteraciones tienen el potencial de afectar el metabolismo energético y la aptitud física individual, influyendo así en las tasas vitales de la población. Es evidente que el espectro de sensibilidad/tolerancia para esta sustancia química es muy amplio para diferentes

especies de artrópodos, incluso se han visto diferencias significativas intra especie Gustafsson (Gustafsson et al., 2010)

El Piraclostrobín por su parte es altamente tóxico para los animales acuáticos (Li, 2019). Los insecticidas a dosis no letales, afectan el crecimiento de los organismos por alteraciones del correcto funcionamiento del sistema nervioso que disminuye la longevidad, la fecundidad y la supervivencia de múltiples especies (Feng Wan et al., 2025). Los OF así como otros plaguicidas pueden tener efectos en un organismo a nivel bioquímico, que afecten eventualmente a su supervivencia y, a su vez, presentar consecuencias poblacionales que modifiquen la estructura de las comunidades de macroinvertebrados (Macchi et al., 2018). Únicamente en dos puntos de la cuenca se identificaron OF e insectos a la vez. En el sitio 7 apareció Clorpirifós en sedimento y en el 12 apareció Diazinón en agua. En ambos casos se identificaron larvas de Díptero (*Tabanidae* sp) que poseen cierta tolerancia a la contaminación, siendo capaces incluso de habitar por extensos periodos en aguas con concentraciones muy bajas de oxígeno como el sitio 12 (Marchese y Paggi, 2004; Tejerina y Molineri ,2007). La presencia de Clorpirifós se correlaciona negativamente con la abundancia y número de taxones de macroinvertebrados acuáticos (Macchi et al., 2018). Oligoquetos y Anfípodos están expuestos en la cuenca al Etión. La toxicidad de los OF se debe a su inhibición irreversible de la actividad de la acetilcolinesterasa, que afecta el sistema nervioso de la fauna acuática y terrestre (Mali et al., 2023), la presencia de estos insecticidas a niveles ambientalmente significativos produce estrés oxidativo (Brodeur et al., 2017).

En la cuenca se registró Atrazina en sitios donde se identificaron grandes cantidades de individuos de los Órdenes Anfípoda y Haplotáxida, pero también en algunos sitios con Dípteros, Isópodos, Poliquetos y Basommathopora. Se ha reportado que la exposición a Atrazina en algunas especies altera la capacidad de tolerar variaciones de la salinidad

afectando el control osmótico (Fortín et al., 2008) lo que es particularmente peligroso considerando que la cuenca del arroyo incluye un estuario.

Al herbicida 2,4-D se lo ha descrito como un disruptor endócrino que afecta la tasa de crecimiento incluso en concentraciones muy bajas (Pattanasupong et al., 2004). También se ha visto que afecta el comportamiento de forrajeo y reproductivo de especies bentónicas, como el Anfípodo *Hyaella meinerti* (Ferraz Ruggiero et al., 2024), o en *Daphnia magna* (Moreira et al., 2023). En agua de la cuenca del arroyo Maldonado fue detectado 2,4-D en 9 sitios junto a individuos de la comunidad macrobentónica de todos los Órdenes identificados. Los oligoquetos presentan una gran respuesta de detoxificación activando enzimas como la CAT, SOD y GST en estos grupos (da Silva et al., 2024). Se ha demostrado que los organismos pueden bioacumular 2,4-D en un período de tiempo muy corto (Fonseca et al., 2008).

El fungicida Carbendazím que apareció en la cañada perimetral de Maldonado, se ha visto que produce una disminución del pastoreo por zooplancton, aumentando la clorofila *a* del agua, y se considera una amenaza grave para las comunidades acuáticas y terrestres (Slijkkerman et al., 2004).

Aunque no se vio en este estudio, está reportada la presencia de los bivalvos *Tagelus* sp y *Erodona* sp (Gimenez et al., 2014) en el sedimento de la zona baja de la cuenca. Estos están expuestos a Piraclostrobín en sedimento. Además, al ser organismos filtradores presentan un riesgo de exposición alto a los agroquímicos presentes en agua (Atrazina, 2,4D y Diazinón). Incluso podrían estar bioacumulando el Diazinón, por ser este último hidrofóbico y el 2,4-D, como se ha reportado en otras cuencas (Fonseca et al., 2008)

Potenciales bioindicadores locales

Si bien la adaptación a varios plaguicidas es conocida, el papel de la magnitud de la presión tóxica y los factores ambientales prevalecientes en el desarrollo de la tolerancia

aún están en debate. Si embargo, se ha visto que el desarrollo de tolerancia de especies no objetivos puede ocurrir a concentraciones muy bajas, muy por debajo de las permitidas legalmente (Shahid et al., 2018). Este puede ser el caso de los Anfípodos de la cañada urbana de San Carlos (8) que aún habitando en un sitio con un RQ medio, con la mayor cantidad de plaguicidas de toda la cuenca, fueron muy abundantes.

Los oligoquetos también soportan ambientes contaminados por materia orgánica (Roldán, 1999; Rosales y Sánchez, 2013) lo que se ve reflejado en los sitios 10 y 14. También se ha reportado su tolerancia a varios plaguicidas (Marrochi et al., 2021), lo que se evidencia en sitios con alta carga de contaminantes orgánicos como 5, 8 y 12 donde se identificaron junto a OF, Azoxistrobín y Carbendazím. Es de destacar que el nivel taxonómico utilizado para sugerir un bioindicador es un tema en discusión, ya que cuando se usan diferentes niveles se pueden encontrar resultados diferentes incluso opuestos (Hewlett, 2000). Diversos estudios sugieren que el nivel taxonómico ideal depende de la diversidad del Orden y del ambiente que se pretende monitorear (Bowman y Bailey 1997; Lenat y Resh, 2001; Waite et al., 2004). Si las diferencias entre los sitios son grandes, es probable que una resolución taxonómica más general sea suficiente para detectar diferencias. Si las diferencias entre los sitios son pequeñas, es posible que se necesite una resolución taxonómica más fina, para detectar diferencias (Lenat y Resh, 2001). Para grandes impactos se ha visto dentro de Insecta que no hubo diferencias significativas entre usar Familias o Especies o incluso Órdenes (Waite et al., 2004). Dentro de esos niveles taxonómicos tanto Familias u Órdenes, no lograron captar diferencias más sutiles entre los sitios. Bowman y Bailey (1997) han demostrado que impactos importantes no se detectan a nivel de género o especie, pero sí en Familia u Orden. En este sentido se sugiere explorar familias del Orden Haplotáxida que puedan ser identificadas a futuro en estos sitios como posibles bioindicadores de la presencia de agroquímicos, siguiendo enfoques

similares aplicados en otras cuencas (Arocena, 1996; Marrochi et al., 2021). De forma análoga, también se podrían explorar especies de Anfípodos (Wenner, 1988).

Las enzimas de detoxificación como glutatión S-transferasa (GST), glutatión reductasa (GSH), superóxido dismutasa (SOD), y la catalasa (CAT) de especies a estos Órdenes podrían ser evaluadas como biomarcadores de contaminación por plaguicidas (da Silva et al., 2024) en la cuenca del Arroyo Maldonado. Por ejemplo en el caso de poliquetos del Orden Phylodocida (*Laeonereis pandoensis*) con hábitos similares a otros poliquetos nereididos (ejemplo *Hediste diversicolor*) se han aplicado estas herramientas moleculares y bioquímicas (Ayoola et al., 2011; García-Alonso et al., 2011).

Perspectivas

La información recabada permitió completar una base de datos primaria para caracterizar ambientalmente la cuenca y sentar las bases de un monitoreo ambiental a largo plazo que pueda generar planes de manejo para su conservación y uso sustentable. Esta investigación cubrió una extensa región geográfica incluyendo sitios en todas las zonas de la cuenca, pero igualmente sería recomendable aumentar los sitios de muestreos especialmente en la marisma, para obtener una información mas detallada de la contaminación por plaguicidas.

En próximos estudios sería deseable explorar familias y especies presentes en los sitios de muestreo de los Órdenes Haplotáxida y Anfípoda que puedan ser utilizadas como bioindicadores locales de contaminación por plaguicidas, así como estudiar la posibilidad de que sus enzimas de detoxificación sean útiles como biomarcadores.

Conclusiones

El agrupamiento de datos por parámetros fisicoquímicos y biológicos evidenció cierta homogeneidad entre los sitios que por proximidad se agrupaban en la zona baja, media y alta, con algunas excepciones.

Los sitios de cuenca media, Alameda y la cañada urbana de San Carlos son los lugares más impactados. No cumplen con la normativa del código de aguas con respecto a las exigencias de OD y fueron donde más plaguicidas se identificaron. Dicha zona media es la que presentó más sitios con riesgo ecotoxicológico significativo.

El plaguicida que fue detectado con mayor frecuencia en sedimento fue el Azoxistrobín y en agua el 2.4D. El herbicida Atrazina, prohibido en Uruguay desde hace casi 10 años, continúa estando presente en la cuenca.

Individuos de los Órdenes Haplotaxida y Anfípoda se identificaron con OF y Azoxistrobín, por lo que se podría considerar identificar especies de estos grupos taxonómicos presentes en esos sitios, para utilizarlos como bioindicadores locales de dichos plaguicidas.

El bivalvo invasor *Corbicula sp* se ha extendido a lo largo de gran parte de la cuenca.

Conclusiones generales

Este trabajo validó una variante de QuEChERS para extracción de 28 plaguicidas usados en Uruguay en sedimento de una cuenca costera de Maldonado.

Se generaron modelos estadísticos que determinaron la importancia de algunas propiedades fisicoquímicas de los agroquímicos en la validación de los métodos de extracción.

Este estudio es el primero en realizar una caracterización ambiental de la cuenca del Maldonado y monitorear la presencia de plaguicidas en distintas matrices y zonas.

De manera exploratoria, se permitió determinar la co-ocurrencia de agroquímicos con diferentes taxa de la comunidad bentónica tanto en la zona dulceacuícola (cuenca alta y media) como en la marisma (cuenca baja). Esto nos permite sugerir explorar especies de los Órdenes Haplotáxida y Anfípoda para ser usados como potenciales bioindicadores locales de contaminación con agroquímicos en la cuenca del **Arroyo Maldonado**.

Bibliografía:

Achkar M, Díaz I, Domínguez A, y Pesce F. 2016. Uruguay: naturaleza, sociedad, economía. Una visión desde la geografía. Banda Oriental.

Acosta M. 2013. Manejo integrado de cuencas: uso de suelos y repercusiones en la calidad del agua de la cañada del Dragón en Montevideo Rural. Maestría en Ciencias Ambientales, Universidad de la República, Facultad de Ciencias.

Agnihotri N.P, Vijay P, Kumar T, Mohapatra M, y Salja P. 1994. Organochlorine insecticide residue in Ganga River, water near Farrukhabad. *Environmental Monitoring and Assessment*, 30, pp 105–112.

Aguirre Núñez N. 2011. La cuenca hidrográfica en la gestión integrada de los recursos hídricos. *REDESMA*.5, 1, pp 10-20.

Alba M. 2016. Evaluación de la contaminación de suelos y aguas por agroquímicos en zonas de viñedo: diagnóstico y desarrollo de estrategias fisicoquímicas de prevención y/o control. Tesis Doctoral, Universidad de Salamanca.

Alder L, Greulich K, Kempe G, y Vieth B. 2006. Residue Analysis of 500 High Priority Pesticides: Better by GC-MS or LC-MS/MS? *Mass Spectrometry Reviews*, 25, 838-865
30. Cremllyn, R.J. *Agrochemicals, Preparation and Mode of Action*. 2nd ed; John Wiley y sons, 1991, pp. 406. DOI:10.1002/mas.20091.

Allan J. 2004. Landscape and riverscapes: The influence of land use on streams ecosystems. *Annual Reviews Ecological Systems* 35, pp 257-284.

Allinson G, Zhang P, Bui A, Allinson M, Rose G, Marshall S, Pettigrove V. 2015. Pesticide and trace metal occurrence and aquatic benchmark exceedances in surface waters and sediments of urban wetlands and retention ponds in Melbourne, Australia. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 10214–10226. DOI.org/10.1007/s11356-015-4206-3.

- Alonso B.** 2024. Destino ambiental de plaguicidas utilizados en rotaciones arroceras: glifosato como caso de estudio. Tesis de Maestría en ciencias ambientales.
- Alonso L,** Demetrio P, Etchegoyen M, y Marino D. 2018. Glyphosate and atrazine in rainfall and soils in agroproductive areas of the pampas region in Argentina. *Science of the Total Environment* 645, pp 89-96.
- Alonzo N,** González M, Muela A, Fernández P, y Pareja L. 2018. Congreso Uruguayo de Química Analítica 5 (CUQA5) Montevideo, Uruguay. Presentado como Póster.
- Anastassiades M,** Lehotay SJ, Stajnbaher D, Schenck FJ. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J AOAC Int*; 86(2), 412-31. PMID: 12723926.
- Anastassiades M,** Scherbaum E, Taudelen B, y Štajnbaher D. 2007. Developments in QuEChERS Methodology for Pesticide Multiresidue Analysis. In *Pesticide Chemistry*, H. Ohkawa, H.M., P.W. Lee, Eds. Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, p 497.
- Arimoro F,** Assie F, Nantege D, Ndatimana G, y Keke U. 2024. Stream ecosystem puzzle: understanding how water column and sediment variables shape macroinvertebrate patterns in some Afrotropical streams. *Environ Monit Assess*, pp 196-172. DOI: 10.1007/s10661-024-12319-5.
- Arizzi A,** Losso C, Libralato G, Tagliapietra D, Pantani C, Volpi A. 2006. Is the 1:4 elutriation ratio reliable? Ecotoxicological comparison of four different sediment: water proportions. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 65,306–313.
- Arocena R.** 1996. La comunidad bentónica como indicadora de zonas de degradación y recuperación en el arroyo Toledo (Uruguay). *Rev. Biol. Trop*, 44(2), pp 659-671.

- Arocena R**, García P, Chalar G, Piccardo A. 2018. Evaluación ecológica de cursos de agua y biomonitoreo cuenca del Rio Negro. Convenio MVOTMA (DINAMA).
- Ateca M**, Sereno R, Apezteguia H. 2001. Zonificación de una superficie cultivada con soja según aspectos fenométricos y consumo de agua del suelo. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, Santa Maria, v. 9, n. 1, pp 111-116.
- Attrill M**, y Rundle S. 2002. Ecotone or ecocline: ecological boundaries in estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 55, pp 929–936. DOI.org/10.1006/ecss.2002.1036.
- Ayano E**, Kanazawa H, Ando M, Nishimura T. 2004. Determination and Quantitation of Sulfonylurea and Urea Herbicides in Water Samples Using Liquid Chromatography with Electrospray Ionization Mass Spectrometric Detection. *Analytica Chimica*. 507, pp 211-218.
- Ayoola J**, García-Alonso J, y Hardege J. 2011. Glutathione-S-Transferase in *Nereis succinea* (Polychaeta) and Its Induction by Xeno-Estrogen. *Environmental Toxicology*. Vol 26, 5, pp 559-565. DOI 10.1002/tox.20580.
- Babu V**, Unnikrishnan P, Anu G, Nair S. 2011. Distribution of Organophosphorus Pesticides in the Bed Sediments of a Backwater System Located in an Agricultural Watershed: Influence of Seasonal Intrusion of Seawater. *Environ Contam Toxicol*, 60, pp 597–609. DOI: 10.1007/s00244-010-9569-3.
- Bain M.B**, Harig A, Loucks D.P, Goforth R.R, y Mills K.E. 2000. Aquatic ecosystem protection and restoration: advances in methods for assessment and evaluation. *Environmental Science and Policy*, 3, pp 89-98. DOI.org/10.1016/S1462-9011(00)00029-0.
- Baldwin D**, Spromberg J, Collier T, y Scholz N. 2009. A fish of many scales: extrapolating sublethal pesticide exposures to the productivity of wild salmon populations. *Ecological Applications*. 19(8), pp 2004-2015.

- Barceló D.** 2005. *Comprehensive Analytical Chemistry* Elsevier; 43, pp 269-401.
- Bertone A.** 2024. Implementación del Bioensayo YES en CURE-UdelaR para detectar sustancias estrogénicas y su aplicación en monitoreo ambiental: la cuenca del arroyo Maldonado como caso de estudio. Tesis de Maestría.
- Bertrand C,** Devina S, Mouneyrac C, y Giambérini L. 2017. Eco-physiological responses to salinity changes across the freshwater-marine continuum on two euryhaline bivalves: *Corbicula fluminea* and *Scrobicularia plana*. *Ecological Indicators* 74, pp 334-342. DOI.org/10.1016/j.ecolind.2016.11.029.
- Bertrand L,** y Iturburu F. 2023. Pesticides bioassays using neotropical aquatic species: Trends during the last twenty years and future challenges in Argentina. *Chemosphere*, 326, 138369. DOI.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138369.
- Booth D,** Roy A, Smith B, y Capps K. 2016. Global perspectives on the urban stream syndrome. *Freshwater Science* 35 (1), pp 412–420. DOI: 10.1086/684940.
- Bourel M,** Segura A, Crisci C, López G, Sampognaro L, Vidal V, y Kruk C. 2021. Machine learning methods for imbalanced data set for prediction of faecal contamination in beach waters. *Water Research* 202:117450.
- Bowman M,** y Bailey R. 1997. Does taxonomic resolution affect the multivariate description of the structure of freshwater benthic macroinvertebrate communities? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54, pp 1802–1807. DOI.org/10.1139/f97-085.
- Breiman L,** Friedman J, Stone CJ, y Olshen RA. 1984. *Classification and Regression Trees*. Chapman & Hall/CRC.
- Bremner J,** Rogers S, y Frid C. 2003. Assessing functional diversity in marine benthic ecosystems: a comparison of approaches. *Marine Ecology Progress Series*, 254, pp 11–25.

Brodeur J, Sanchez M, Castro L, Rojas D, Cristos D, Damonte M, Poliserpi M, D'Andrea M, y Andriulo A. 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, pp 36–46. DOI:10.1016/j.chemosphere.2017.06.129.

Brontowiyono W, Asmara A, Jana R, Yulianto A, y Rahmawati S. 2022. Land-use impact on water quality of the opak sub-watershed, Yogyakarta, Indonesia. *Sustainability (switzerland)* 14 (7). DOI.org/10.3390/su14074346.

Brun GL, MacDonald RM, Verge J, y Aubé J. 2008. Long-term atmospheric deposition of current-use and banned pesticides in Atlantic Canada; 1980–2000. *Chemosphere* 71, pp 314–327. DOI:10.1016/j.chemosphere.2007.09.003.

Bruzzoniti M, Chechini L, De Carlo R, Orlandini S, Rivoira L, y Bubba M. 2014. QuEChERS simple preparation for the determination of pesticides and other organic residues in environmental matrices: a critical review. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. DOI: 10.1007/s00216-014-7798-4.

Burnham k, y Anderson D. 2004. Model Selection and Multimodel Inference. DOI:10.1007/978-0-387-22456-5_5.

Byers S, Mills E, y Stewart P. 1978. Comparison of methods of determining organic carbon in marine sediments, with suggestions for a standard method. *Hydrobiologia*. 58:43- 47.

Campani T, Casini S, Maccantelli A, Tosoni F, D'Agostino A, y Caliani I. 2024. Oxidative stress and DNA alteration on the earthworm *Eisenia fetida* exposed to four commercial pesticides. *Environmental Science and Pollution Research*. Vol 31, pp 35969–35978. DOI.org/10.1007/s11356-024-33511-7.

Cárcamo M.I. 2020. Los Plaguicidas Altamente Peligrosos (PAP) en Uruguay. . RAPAL

Carmona F. 2006. Desarrollo y validación de un método de extracción en fase sólida para la determinación de plaguicidas catiónicos (cuats) en alimentos. Tesis de maestría. Universidad autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina.

Carabias-Martínez R, Rodríguez E, Herrero E, Hernández J. 2004. Simultaneous Determination of Phenyl- and Sulfonylurea Herbicides in Water by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography with UV Diode Array or Mass Spectrometric Detection. *Analytica Chimica* 517, 71-79. DOI.org/10.1016/j.aca.2004.05.007.

Cassoli D, Assalina M, Scanagatta Dos Santos R, y Gaspar de Carvalho E. 2019. Method validation for multiresidue pesticide determination in riverbed sediment using QuEChERS and GC-MS/MS and application in samples from an important watershed in Central Western Brazil *International journal of environmental chemistry*
DOI:10.1080/03067319.2019.1657107.

Chiou C, Postel, P, y Schmedding D. 1983. Partitioning equilibriums of non ionic organic compounds between soil organic matter and water". *Environmental Science and Technology*, 17, pp 227-231.

Clavijo C, Scarabino F, Carranza A, y Soutullo A. 2009. Distribución de las especies del género *Corbicula* (Bivalva: Corbiculidae) en Uruguay, pp: 271. En: Libro de resúmenes XX Encontro Brasileiro de Malacologia, Rio de Janeiro.

Clavijo C, y Scarabino F. 2013. Moluscos continentales prioritarios para la conservación en Uruguay. Pp. 73-90, en: Soutullo A, C Clavijo y JA Martínez-Lanfranco (eds.). *Especies prioritarias para la conservación en Uruguay. Vertebrados, moluscos continentales y plantas vasculares.* snap/dinama/mvotma y dicyt/ mec, Montevideo, pp 222.

Climent M, Herrero E, Sanchez M, Rodríguez M, Pedrosos P, y Urrutia R. 2019. Residues of pesticides and some metabolites in dissolved and particulate phase in surface

stream water of Cachapoal River basin, central Chile. *Environmental Pollution* S0269-7491(19)30308-2. DOI:10.1016/j.envpol.2019.04.117.

Collins C, Braga G, y Bonato P. 2006. *Fundamentos de cromatografía*. 2 ed. Unicamp. Cap 8-9.

Cornejo A, Tonin A, Checa B, Tuñon A, Pérez D, Coronado E, González S, Ríos T, Macchi P, Correa-Araneda F, Boyero L. 2019. Effects of multiple stressors associated with agriculture on stream macroinvertebrate communities in a tropical catchment. *PLoS One* 14 (8), 1–17. DOI:10.1371/journal.pone.0220528.

Covaci A. 2014. Environmental Fate and Behavior. En *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*, pp 372-374. DOI.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.01041-1.

Cuevas N, Martins M, y Costa P. 2018. Risk assessment of pesticides in estuaries: a review addressing the persistence of an old problem in complex environments. *Ecotoxicology*. DOI.org/10.1007/s10646-018-1910-z.

Cui S, Hough R, Yates K, Osprey M, Kerr C, Cooper P, Coull M Zhang Z . 2020. Effects of season and sediment-water exchange processes on the partitioning of pesticides in the catchment environment: Implications for pesticides monitoring *Science of the Total Environment* 698 .134228. DOI:10.1016/j.scitotenv.2019.134228.

Da Silva AP, Poquioma H, Comelli C, Guillen M, Moreira F, Lima de Souza T, de Oliveira C, de Oliveira Ribeiro C, Silva H, y CastilhosN. 2024. Meta-analytical review of antioxidant mechanisms responses in animals exposed to herbicide 2,4-D herbicide. *Science of the total environment* 924, 171680. DOI.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171680.

Daramola J, Adepehin E, Ekhwan T, Choy L, Mokhtar J, Tabiti T. 2022. Impacts of land-use change, associated land-use area and runoff on watershed sediment yield: implications from the Kaduna watershed. *Water (switzerland)* 14 (3), pp 1–23. DOI.org/10.3390/w14030325.

- Dauvin J**, Thiebaut E, Gesteira J, Ghertsos K, Gentil F, Ropert M y Sylvand B. 2004. Spatial structure of a subtidal macrobenthic community in the Bay of Veys (western Bay of Seine, English Channel). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 307, pp 217- 235.
- Day J** 1980. What is an estuary? *S. Afr. J. Sci.* 76, pp 15-17.
- Day J**, Hall C, Kemp M, y Yáñez Arancibia A. 1989. *Estuarine Ecology*. New York. John Wiley and Sons, pp 558.
- Defarge N**, Spiroux de Vendômois J, y Séralini G. 2018. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. *Toxicology Reports* 5, 156. DOI.org/10.1016/j.toxrep.2017.12.025.
- Delgado E**. 2023. Implicancias de la movilización ambientalista en la conservación y gestión de cangrejales de marisma en Uruguay. *Ecología Política*, 65, pp 106-109.
- DeLorenzo M**, Danese L, Baird T. 2011. Influence of increasing temperature and salinity on herbicide toxicity in estuarine phytoplankton. *Environmental Toxicology*. 28(7), pp 359–371. DOI.org/10.1002/tox.20726.
- DelValls T**, Chapman P, Drake P, Dulce Subida M, Vale C, de la Reguera D, y Blasco J. 2007. Benthos Sediment Quality Assessments. *Sustain. Manag. Sedim. Resourc.* 1, pp 215-261.
- Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA)**. 2020. Plan de monitoreo del río Santa Lucía Informe de actividades y presentación de resultados. División Calidad Ambiental Departamento Seguimiento de Componentes del Ambiente.
- DGSA**. 2016. Resolución N° 104/016 de DGSA: Prohíbase la importación, registro y renovación de los productos fitosanitarios a base de Atrazina. Dirección General de Servicios Agrícolas, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Uruguay.

www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agriculturapesca/institucional/normativa/resolucion-n-104016-dgsa-prohibase-importacion-registro-renovacion.

DGSA. 2023. Importaciones de productos fitosanitarios 2022. Montevideo. <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/datos/importaciones-productos-fitosanitarios>.

Domínguez E y Fernández H. 2009. Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos, Sistemática y Biología. Fundación Miguel Lillo.

Dong J, Zhao L, Yang X, Sun X, Zhang X. 2021. Functional trait responses of macrobenthos to anthropogenic pressure in three temperate intertidal communities. *Front. Mar. Sci.* 8, pp 1–15. DOI.org/10.3389/fmars.2021.756814.

Duffau B, Rojas F, Guerrero I, Rodríguez L, Soto M, Aguilera M, Sandoval S. 2010. Guía Técnica N°1: Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición. Instituto de Salud Pública Chile.

Elliott M, Quintino V. 2007. The estuarine quality paradox, environmental homeostasis and the difficulty of detecting anthropogenic stress in naturally stressed areas. *Mar. Pollut. Bull.* 54, pp 640-645. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2007.02.003.

Ernst F, Colazzo M, Cesio V, Marquez A, Marley A, Perez Parada A, Alonso B, Pareja L, Pereira A, Errico E, Heinzen H. 2018. Occurrence of pesticides residues in fish from south American rainfed agroecosystems. DOI:10.1016/j.scitotenv.2018.02.320.

Escobedo N, Rangel J, Benavides F, Azuara A, y Vázquez M. 2024. Spatial and seasonal distribution of pesticides and clustering contamination status in a reservoir (Northeastern Mexico): Spatial analysis and multivariate approach. *Tecnología y Ciencias del Agua. IMTA.* Vol. 15 Núm. 3. DOI.org/10.24850/j-tyca-2024-03-03.

European Commission DG-SANTE. Document No. SANTE 11312. 2021. Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. https://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?CntID=727.

European Community Commission. 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment. Institute for Health and Consumer Protection. Euro. Chem. Bureau, Brussels. Belgium. Part II. Available online at: http://echa.europa.eu/documents/10162/16960216/tgdpart2_2ed_en.pdf.

FAO. 1997. Lucha contra la contaminación agrícola de los recursos hídricos. Riesgo y drenaje. Organización mundial de la salud. Roma. Los plaguicidas en cuanto contaminantes del agua.4.

FAO. 2000. Evaluación de la contaminación del suelo Manual de referencia. Colección FAO, Eliminación de plaguicidas.

Feng Wan N, Fu L, Dainese M, Podenphant L, Qing Y, Xin F, Goulson D, Woodcock B, Vanvergen A, Spurgeon D, Shen S, y Scherber Ch. 2025. Pesticides have negative effects on nontarget organisms. *Nature Communications.* 16:1360. DOI.org/10.1038/s41467-025-56732-x.

Ferraz K, Júnio da Silva T, Ferreira D, Amaral M, Montagner C, Rocha O, Aparecida R. 2024. Ecological Implications on Aquatic Food Webs Due to Effects of Pesticides on Invertebrate Predators in a Neotropical Region. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 86, pp 112–124. DOI:10.1007/s00244-024-01052-2.

Fernández M, Méndez M, Agosto B, Albornoz D, Cornelli F, Dutra E, González S, Moulia M, Nuñez R, Teixeira de Mello F, Ziegler L. 2021. Evaluación preliminar de la diversidad de anfibios en la Alameda de San Carlos (Maldonado, Uruguay) a través de un monitoreo acústico pasivo. *Boletín de la sociedad Zoológica del Uruguay.* Vol 30 (2).

Fonseca M.B, Gluszczak L, Moraes B, Menezes C, Pretto A, Tierno M, Zanella

- R, Gonçalves F, y Loro V.L. 2008. The 2,4-D herbicide effects on acetylcholinesterase activity and metabolic parameters of piava freshwater fish (*Leporinus obtusidens*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 69, pp 416–420. DOI:10.1016/j.ecoenv.2007.08.006.
- Fortin M**, Couillard C, Pellerin J, Lebeuf M. 2008. Effects of salinity on sublethal toxicity of atrazine to mummichog (*Fundulus heteroclitus*) larvae. *Mar. Environ. Res.* 65, pp 158–170. DOI:10.1016/j.marenvres.2007.09.007.
- García-Alonso J**, Greenway G, Munshi A, Gómez J, Mazik K, Knight A, Hardege J, y Elliot M. 2011. Biological responses to contaminants in the Humber Estuary: Disentangling complex relationship. *Marine Environmental Research* 71, pp 295-303. DOI:10.1016/j.marenvres.2011.02.004.
- Geis S**, y Gebert S. 2006. Extraction of Highly Polar Organophosphorus Pesticides from Water. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* 34, pp 464-473. DOI.org/10.1002/ahch.200500648.
- Gimenez L**, Venturini N, Kandratavicius N, Hutton S, Lanfranconi A, Rodriguez M, Brugnoli E, y Muñoz P. 2014. Macrofaunal patterns and animal–sediment relationships in Uruguayan estuaries and coastal lagoons (Atlantic coast of South America). *Journal of Sea Research* 87, pp 46–55. DOI:10.1016/j.seares.2013.12.005.
- Gonçalves dos Santo L**, Freire E, Lourencetti C. 2009. Analise de residuos de agroquímicos em ar atmosférico. *Revista UNIARA*, v. 12, n.2, dez.
- Gonzalez J**. 2021. Evaluación de coliformes termotolerantes y *Enterococcus* como indicadores de calidad de agua en la cuenca del Arroyo Maldonado. Tesis de grado.
- Graymore M**, Stagnitti F, y Allinson G. 2001. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. *Environment International*, 26(7–8), pp 483–495. DOI.org/10.1016/S0160-4120(01)00031-9.

- Griffero L**, Alcantara J, Alonso C, Rodriguez L, Moreno D, García J, Molina A, y Pérez Parada A. 2019. Basin-scale monitoring and risk assessment of emerging contaminants in South American Atlantic coastal lagoons. *Science of the Total Environment* 697. 134058. DOI.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134058.
- Gunawardhana W**, Jayawardhana J, Udayakumara E. 2016. Impactos de las prácticas agrícolas en la calidad del agua en la zona de captación de Uma Oya en Sri Lanka. *Procedia Food Sci* 6:339–343. DOI.org/10.1016/j.profoo.2016.02.068.
- Gustafsson K**, Blidberg E, Elfgrén I.K, Hellström A, Kylin H, Gorokhova E. 2010. Direct and indirect effects of the fungicide azoxystrobin in outdoor brackish water microcosms. *Ecotoxicology* 19: pp 431–444.
- Harman J**. 1996. Fate and transport of agricultural pesticides in the Patuxent River, a sub-estuary of the Chesapeake Bay. MSc thesis, University of Maryland.
- Hawkes H**. 1980. Invertebrates as Indicators of River Water Quality, p. 2.1-2.45. In James, A. y L. Evison (eds.). *Biological Indicators of Water Quality*. Wiley. Nueva York.
- Hayo M**, y Van der Werf G. 1996. Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, ecosystems and environment* 60, 8 I -96.
- Hedges J**, y Stern J. 1984. Carbon and nitrogen determinations of carbonate-containing solids. *Limnology and Oceanography*. Vol29, 3, pp 657-663. DOI:10.4319/lo.1984.29.3.0657.
- Hewlett R**. 2000. Implications of taxonomic resolution and sample habitat for stream classification at broad geographic scale. *Journal of the North American Benthological Society*. 19, pp 352-361. DOI.org/10.2307/1468077.
- Hutton S**, Romain S, Pedersen E, Siddiqui S, y Chappell P. 2021. Salinity Alters Toxicity of Commonly Used Pesticides in a Model Euryhaline Fish Species (*Menidia beryllina*). *Toxics*, 9, 114. DOI.org/10.3390/toxics9050114.

INMETRO (Instituto Nacional de metrología, normalizacáo e qualidade industrial). 2016. Orientacões sobre validacáo de métodos de ensaios químicos.rev 5.

Isacch J, Costa C, Rodríguez-Gallego L, Conde D, Escapa M, Gagliardini D, e Iribarne, O. 2006. Distribution of saltmarsh plant communities associated with environmental factors along a latitudinal gradient on the south-west Atlantic coast. *Journal of Biogeography*, 33(5), pp 888-900. DOI.org/10.1111/j.1365-2699.2006.01461.x.

Islam F, Wanga , Farooqa M, Khana M ,Xuc L ,Zhua J ,Zhaod M, Muñose S ,Lif Q ,y Zhou W. 2018. Potential impact of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on human and ecosystems. *Environment International*. 111, pp 332-351. DOI.org/10.1016/j.envint.2017.10.020.

Jablonowski N, Schäffer A, y Burauel P. 2011. Still present after all these years: Persistence plus potential toxicity raise questions about the use of atrazine. *Environmental Science and Pollution Research*, 18(2), pp 328–331. DOI.org/10.1007/s11356-010-0431-y.

Jackson M. 1964. Análisis químico de suelos. Editorial Omega.S.A.Barcelona, pp 662.

Jergentz S, Mugni H, Bonetto C, y Schulz R. 2005. Assessment of insecticide contamination in runoff and stream water of small agricultural streams in the main soybean area of Argentina. *Chemosphere*, 61(6), pp 817–826. DOI.org/10.1016/j.chemosphere.2005.04.036.

Jones J.I, Murphy JF, Collins A, Sear DA, Naden PS, Armitage PD. 2012. The impact of fine sediments on macroinvertebrates. *Regul Rivers* 28, pp 1055–1071. DOI.org/10.1002/rra.1516.

Junio da Silva Pinto T, y Welper Senteio S. 2023. Impacts of sedimentation and dam failure on the macroinvertebrate community in a tropical stream. *Limnetica*, 42(1), pp 19-36. DOI: 10.23818/limn.42.03.

- Kim L**, Lee D, Cho H, y Choi S. 2019. Review of the Qechers method for the analysis of organic pollutants: Persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons and pharmaceuticals. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*. V 22, pp 1-16.
- Kock M**. 2014. Plaguicidas polares en el medio ambiente: análisis, presencia y evaluación de riesgos” Tesis doctoral. Universidad de Barcelona.
- Korytny L**. 2017. The basin concept: From hydrology to nature management. *Geography and Natural Resources*, 38(2), pp 111-121. DOI.org/10.1134/S1875372817020019.
- Krogh K**, Halling-Sørensen B, Mogensen B, y Vejrurp K. 2003. Environmental properties and effects of nonionic surfactant adjuvants in pesticides: a review. *Chemosphere*, 50, pp 871–901. DOI:10.1016/s0045-6535(02)00648-3.
- Krutz L.J**, Senseman S.A, Zablotowicz R.M, y Matocha M.A. 2005. Reducing herbicide runoff from agricultural fields with vegetative filter strips: a review. *Weed Science*, 53, pp 353-367. DOI.org/10.1614/WS-03-079R2.
- Kruve A**, Kunnapas A, Herodes K, y Leito I. 2008. Matrix Effects in Pesticide Multi-residue Analysis by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1187, pp 58-66. DOI:10.1016/j.chroma.2008.01.077
- Kunz P**, Kienle C, y Gerhardt A. 2010. Gammarus spp. in Aquatic Ecotoxicology and Water Quality Assessment: Toward Integrated Multilevel Tests. *Environmental Contamination and Toxicology* 205. DOI 10.1007/978-1-4419-5623-1_1.
- Lacorte S**, Guiffard I, Fraisse D, y Barcelo D. 2000. Broad Spectrum Analysis of 109 Priority Compounds Listed in the 76/464/CEE Council Directive Using Solid-Phase Extraction and GC/EI/MS Anal. *Chem.* 72, pp 1430-1440.
- Lambropoulou D**, y Albanis T. 2007 Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography-mass spectrometry-based

techniques: a review. *Anal. Bioanal. Chem.*, 389(6), pp 1663-83. DOI: 10.1007/s00216-007-1348-2

Lecari D, Defeo O. 2015. Large-scale dynamics of sandy beach ecosystems in transitional waters of the Southwestern Atlantic Ocean: Species turnover, stability and spatial synchrony. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* Volume 154, pp 184-193. DOI.org/10.1016/j.ecss.2015.01.011.

Lenat R, y Resh H. 2001. Taxonomy and stream ecology – the benefits of genus- and species-level identifications? *Journal of the North American Benthological Society*. 20, pp 287–298. DOI: 10.2307/1468323.

Lee J, Park S, y Lee S. 2023. Effect of Land Use on Stream Water Quality and Biological Conditions in Multi-Scale Watersheds. Department of Forestry and Landscape Architecture, Konkuk University, Gwangjin-gu, Seoul 05029, Republic of Korea. *Ecological Monitoring and Assessment of Freshwater Ecosystems: New Trends and Future Challenges*. DOI.org/10.3390/w15244210.

Lenihan H, y Micheli F. 2001. Soft-sediment communities. En: Bertness, M.D., Gaines, S.D. & Hay, M.E., eds. *Marine community ecology*. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc, pp 253-287.

Li M. 2019. Comparative toxicities of 10 widely used biocides in three freshwater invertebrate species. *Chemistry & Ecology*.

Libes S.M. 1992. An introduction to marine biogeochemistry. Wiley J (ed), pp 734.

Lushchak V, Matviishyn T, Husak V, Storey J.M, y Storey B. 2018. Pesticide toxicity: a mechanistic approach. 17, pp 1101-1136. DOI.org/10.17179/excli2018-1710.

Lydeard C, Cowie R.H, Ponder W, y Bogan A. 2004. The global decline of nonmarine mollusks. *BioScience*, 54, pp 321–330.

- Macchi P**, Loewy R, Lares B, Latini L, Monza L, Guiñazú N, Montagna C. 2018. The impact of pesticides on the macroinvertebrate community in the water channels of the Río Negro and Neuquén Valley, North Patagonia (Argentina). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 1-11. DOI.org/10.1007/s11356-018-1330-x.
- Mac Loughlin T**, Peluso, M, y Marino D.J. 2017. Pesticide impact study in the periurban horticultural area of Gran La Plata, Argentina. *Sci. Total Environ.* 598, pp 572–580. DOI.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.116.
- Mac Loughlin T**, Peluso M, y Marino D.J. 2022. Multiple pesticides occurrence, fate, and environmental risk assessment in a small horticultural stream of Argentina. *Science of the Total Environment*, 802, 149893. DOI.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149893.
- Maertens A**, Golden E, Luechtefeld T, Hoffmann S, Tsaïoun K, y Hartung T. 2022. Probabilistic risk assessment—the keystone for the future of toxicology. *Altex* 39 1, 3. DOI:10.14573/altex.2201081.
- Mali H**, Shah CH, Raghunandan B, Prajapati A, Patel D, Trivedi U, y Subramanian R. 2023. Organophosphate pesticides an emerging environmental contaminant: Pollution, toxicity, bioremediation progress, and remaining challenges. *Environmental Science*.127, pp 234-250. DOI:10.1016/j.jes.2022.04.023.
- Maltby L**, y Hills L. 2008. Spray drift of pesticides and stream macroinvertebrates: Experimental evidence of impacts and effectiveness of mitigation measures. *Environmental Pollution* 156, pp 1112–1120. DOI.org/10.1016/j.envpol.2008.04.013.
- Marchese M**, y Paggi A. 2004. Diversidad de Oligochaeta (Annelida) y Chironomidae (Diptera) del litoral fluvial argentino. *Temas de la Biodiversidad del Litoral Fluvial Argentino*, INSUGEO 2, 217-224.
- Marrochi M**, Hunt L, Solis M, Scalise A, Fanelli S, Bonetto C, Mugni H. 2021. Land use impacts on benthic macroinvertebrate assemblages in pampean streams (Argentina).

Journal of Environmental Management 279, 111608.

DOI:10.1016/j.jenvman.2020.111608.

Masiá A, Vasquez K, Campo J, y Picó Y. 2015. Assessment of two extraction methods to determine pesticides in soils, sediments and sludges. Application to the Turia River Basin. *Journal of Chromatography A*, 1378, pp 19–31.

DOI: 10.1016/j.chroma.2014.11.079.

Mazzella N, Delmas F, Delest B, Mechin B, Madigou C, Allenou J, Gabellec R, Caquet T. 2009. Investigation of the Matrix Effects on a HPLC-ESI-MS/MS Method and Application for Monitoring Triazine, Phenylurea and Chloroacetanilide Concentrations in Fresh and Estuarine Waters. *Journal of Environmental Monitoring*, 11, pp 108-115.

McDougall P. 2022. Evolution of the Crop Protection Industry Since 1960. 2018.

Available online: <https://croplife.org/wp-content/uploads/2018/11/Phillips-McDougall-Evolution-ofthe-Crop-Protection-Industry-since-1960-FINAL.pdf>.

Merga L.B, Mengistie A, Alemu M.T, y Van den Brink P. 2021. Biological and chemical monitoring of the ecological risks of pesticides in Lake Ziway, Ethiopia. *Chemosphere* 266, 129214. DOI.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129214.

Mo W, Yang N, Zhao Y, y Xu, Z. 2023. Impacts of land use patterns on river water quality: the case of Dongjiang Lake Basin, China. *Ecological Informatics*, 75, 102083.

DOI:10.1016/j.ecoinf.2023.102083.

Moreira RA, Polo-Castellan C, Cordero-de-Castro A, Dias MA, Pinto TJ, Montagner CC, Espíndola ELG, Blasco J, y Araújo C. 2023. Short and long-term exposure to the pesticides fipronil and 2, 4-D: effects on behavior and life history of *Daphnia magna*.

Chemosphere 310,136719. DOI. org/ 10. 1016/j.chemo sphere. 2022. 136719.

Morelli E, y Verdi A. 2014. Diversidad de macroinvertebrados acuáticos en cursos de agua dulce con vegetación ribereña nativa de Uruguay. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85, pp 1160-1170. DOI.org/10.7550/rmb.45419.

Mugnai R, Nessimian J y Fernandes D. 2010. Manual de indentificacao de Macroinvertebrados acuáticos do Estado de Rio de Janeiro. 1^{ra} edicao. Technical Books Editora.

Muller K, Magesan G, y Bolan N. 2007. A critical Review of the Influence of Effluent Irrigation on the Fate of Pesticides in Soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 120, pp 93-116. DOI: 10.1016/j.agee.2006.08.016.

Muniz P, da Cunha Lana P, Venturini N, Elias R, Vallarino E, Bremec C, y Sandrini Neto L. 2013. Un manual de protocolos para evaluar la contaminación marina por efluentes domésticos. Montevideo, Editora de la Universidad de la República, UdelaR 1ra edición, 129, pp 16.

Muniz P, Venturini N, Martins C, Munshi A, García-Rodríguez F, Brugnoli E, Lindroth Dauner A, Caruso Bicego M, y García-Alonso J. 2015. Integrated assessment of contaminants and monitoring of an urbanized temperate harbor (Montevideo, Uruguay): a 12-year comparison. *Brazilian Journal of Oceanography*, Vol 63, Iss 3, pp 311-330. DOI: 10.1590/S1679-87592015088506303.

Narayanan M, Devarayan K, Verma M, Selvaraj M, Ghramh H, y Kandasamy S. 2024. Assessing the ecological impact of pesticides/herbicides on algal communities: A comprehensive review. *Aquatic Toxicology* .Vol 268, 106851.

DOI: 10.1016/j.aquatox.2024.106851

Newman M. 2019 *Fundamentals of Ecotoxicology The Science of Pollution*, Fifth Edition.

Nonato E, y Amaral A. 1979. Anelídeos Poliquetas. Sao Paulo, Brasil: Universidade de Sao Paulo.

Norum U, Frederiksen M, y Bjerregaard P. 2011. Locomotory behaviour in the freshwater amphipod *Gammarus pulex* exposed to the pyrethroid cypermethrin. *Chemistry and Ecology*, pp 1- 9.

Novoa M, Subovich G, Goñi D, Parma F, Daruich J, Williman C, y Raviol F. 2024. Evaluación de la calidad de agua del sistema hidrográfico Río Uruguay, Región Salto Grande; mediante el uso de herramientas químicas, y bioindicadores: diatomeas y bacterias. Universidad Nacional de Entre Ríos. *Ciencia, docencia y tecnología*. Vol 14, 16, pp 402-444.

Núñez S, Maeso D, Núñez P, Mieres I, Conde P, Duarte F, Bruno A. 2007. Evaluación del impacto ambiental de los plaguicidas en la producción hortifrutícola. *Revista INIA Uruguay* 12 diciembre, pp 20-36.

Ogbeide O, Uhunamure G, Okundaye F, y Ejeomo C. 2019. First report on probabilistic risk assessment of pesticide residues in a riverine ecosystem in South-South Nigeria. *Chemosphere* 231, pp 546–561. DOI.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.105.

Olave C. 2019. Estudio de adsorción de plaguicidas en sedimentos fluviales y optimización de técnicas de recuperación Tesis de maestría. Universidad de Chile Facultad de Ciencias.

Opel O, Palm W, Steffen D, y Ruck W. 2011. Inside-sediment partitioning of PAH, PCB and organochlorine compounds and inferences on sampling and normalization methods. *Environmental Pollution* Vol 159, pp 924-931. DOI:10.1016/j.envpol.2010.12.014.

Ortiz H, Olvera V, Sánchez S, y Folch, M. J. L. 2011. Pesticides in the environment: impacts and its biodegradation as a strategy for residues treatment. INTECH, pp 368. DOI:10.5772/13534.

- Ogura A.P**, Lima J.Z, Marques J.P, Sousa L.M, Rodrigues V.G., Espíndola E.L.2021. A review of pesticides sorption in biochar from maize, rice, and wheat residues: Current status and challenges for soil application. *J. Environ. Manag.* 300, 113753.
- Ongley E.D.** 1996. Control of Water Pollution in Agriculture, FAO Irrigation and Drainage Paper 55. Food and Agriculture Organization of the United Nation, Rome, Italy, pp 101.
- Ouyang X**, Zhang W, Xu J, Chang N, Pan C, Zhang J, y Niu W. 2009. Determination of Sulfonylurea Herbicides in Water Using Solid-Phase Extraction Followed by Liquid Chromatography with Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*, 64, pp 935-940.
- Ouyang W**, Hao X, Tysklind M, Yang W, Lin Ch, yWang A. 2020. Typical pesticides diffuse loading and degradation pattern differences under the impacts of climate and land-use variations. *Environment International* 139. 105717.
DOI: 10.1016/j.envint.2020.105717.
- Palma P**, Köck-Schulmeyer M, Alvarenga P, Ledo L, Barbosa I, DeAlda M. 2014. Risk assessment of pesticides detected in surface water of the Alqueva reservoir (Guadiana basin, southern of Portugal). *Sci. Total Environ.* 488, pp 208–219.
DOI:10.1016/j.scitotenv.2014.04.088.
- Panis C**, Zanetti L, Gaboardi C, Gurzenda S, Cruz J, Castro M, y Lemos M. 2022. Widespread pesticide contamination of drinking water and impact on cancer risk in Brazil. *Environment International*. Vol 165, 107321.
DOI: org/10.1016/j.envint.2022.107321.
- Palladino C**, García I, y Fernández G. 2023. Pesticide dependence and associated risks in Uruguayan agriculture: limitations in its approach. *Agrociencia Uruguay*. Vol 27, Article 1156. DOI: 10.31285/AGRO.27.1156.

- Paredes J**, y Brito R. 2012. Recuperación electroquímica del agua del Alpechín del Aceite de Oliva, para evitar la contaminación del medio ambiente y su reutilización como agua de riego. *Observatorio Medioambiental*. Vol 15, pp 219-234.
- Pattanasupong A**, Nagase H, Inoue M, Hirata K, Tani K, Nasu M, Miyamoto K. 2004. Ability of a microbial consortium to remove pesticide, carbendazim and 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 20, pp 517–522.
- Peillex C**, y Pelletier M. 2020. The impact and toxicity of glyphosate and glyphosate-based herbicides on health and immunity. *Journal of Immunotoxicology*. DOI.org/10.1080/1547691X.2020.1804492
- Pereira P**. 2019. Determinação multirresíduo de agrotóxicos em noz-peca empregando métodos quechers modificado e LC MS/MS. Universidade Federal de Santa Maria centro de ciencias naturais e exatas. Programa de pos graduacao em química.
- Pérez Parada A**, Goyenola G, Teixeira F, y Heinzen H. 2018. Recent advances and open questions around pesticide dynamics and effects on freshwater fishes *Curr.Opin.Enviro.Sci.Health*, 4, pp 38 – 44. DOI.org/10.1016/j.coesh.2018.08.004.
- Pesticide Action Network**. 2022. <https://pan-international.org/>.
- Pinto M**, Burrows H.D, Sontag G, Vale C, Noronha J.P. 2016. Priority pesticides in sediments of European coastal lagoons: a review. *Mar. Pollut. Bull.* 112, pp 6–16. DOI:10.1016/j.marpolbul.2016.06.101.
- Ramli M**, Ayyapan V, Yusoff A, Eh Rak A, y Lee S. 2020. Phenotype and genotype characterisation of the Asian clam of the genus *Corbicula* Megerle von Mühlfeld, 1811 (*Venerida*, *Cyrenidae*) from the East Coast of Peninsular Malaysia. *Borneo Journal of Resource Science and Technology*, 10, pp 24–36. DOI:10.33736/bjrst.2211.2020.

- Ramirez A**, Restrepo R, y Viña G. 1997. Cuatro índices de contaminación para caracterización de aguas continentales formulaciones y aplicaciones. Ciencia, tecnología y futuro. Vol 1, n 3.
- Rand G**, Wells P, y Carthy L. 1995. Introduction to aquatic toxicology. In: Rand, G.M. (Ed.), Fundamentals of Aquatic Toxicology, 2nd ed. Taylor and Francis, Washington, DC: 3-67.
- Rathore S**, Nollet L. 2012. Pesticides: evaluation of environmental pollution. Boca Raton; CRC Press. 10.1201/b11864. DOI.org/10.1201/b11864.
- Richards C**, Host G, y Arthur J. 1993. Identification of predominant environmental factors structuring stream macroinvertebrate communities within a large agricultural catchment. Freshwater. Biology 29, pp 285-294. DOI.org/10.1111/j.1365-2427.1993.tb00764.x.
- Roche A**. 2009. Árboles de decisión y series de tiempo. Tesis de Maestría.
- Rodríguez A**. 2015. Análisis, biodisponibilidad y vigilancia de contaminantes orgánicos hidrofóbicos en el medio acuático. Universidad de Barcelona. Tesis Doctoral.
- Rodríguez M**, Muniz P, Brazeiro A, De Feo O. 2021. Distribución y dinámica poblacional de la almeja asiática *Corbicula fluminea* (Bivalva, Corbiculidae) en ríos de Uruguay. Ecología Austral 31, pp 328-342. Asociación Argentina de Ecología. DOI.org/10.25260/EA.21.31.2.0.1249.
- Rodríguez-Bolaña C**, Perez Parada A, Tesitore G, Goyenola G, Kroger A, Pacheco M, Gerez N, Berton A, Zinolac G, Gil G, Mangarelli A, Pequeño F, Besil N, Niell S, Heinzec H, y Teixeira F. 2023 . Multicompartmental monitoring of legacy and currently used pesticides in a subtropical lake used as a drinking water source (Laguna del Cisne, Uruguay) Science of The Total Environment. Vol 874, 162310. DOI.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162310.

- Rodríguez-Bolaña C**, Pérez Parada A, Niell S, Heinzen H, y Teixeira de Mello F. 2024. Comparative deterministic and probabilistic approaches for assessing the aquatic ecological risk of pesticides in a mixed land use basin: A case study in Uruguay. *Science of The Total Environment*. Vol 910, 168704. DOI.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168704.
- Rodríguez-Mozaz S**, Lopez de Alda M, y Barceló D. 2007. Advantages and limitations of on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography-mass spectrometry technologies versus biosensors for monitoring of emerging contaminants in water. *Chromatogr A* 8; 1152 (1-2), pp 97-115. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.01.046.
- Roldán G**. 1999. Los macroinvertebrados y su valor como indicadores de la calidad de agua. *Revista Académica Colombiana Ciencias*. 23(88), pp 376-387.
- Rosales L**, y Sanchez-Matéo S. 2013. Uso de Macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores de calidad del agua del río Palacagüina, Norte de Nicaragua. *Revista Científica de FAREM-Estelí. Medio ambiente, tecnología y desarrollo humano*. Nº 8 Año 2. DOI:10.5377/farem.v0i8.2621.
- Rosenberg D**, y Resh V. 1993. *Biomonitoring of freshwater and macroinvertebrates*. Nueva York Chapman y Hall, pp 488.
- Salem F**, Said O, Duran R, y Monperrus M. 2016. Validation of an Adapted QuEChERS Method for the Simultaneous Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Polychlorinated Biphenyls and Organochlorine Pesticides in Sediment by Gas Chromatography–Mass Spectrometry *Bull Environ Contam Toxicol*. DOI: 10.1007/s00128-016-1770-2
- Sánchez-Bayo F**, Baskaran S, Kennedy I. 2002. Ecological relative risk (EcoRR): another approach for risk assessment of pesticides in agriculture *Agric Ecosyst Environ*, 91, pp. 37-57. DOI.org/10.1016/S0167-8809(01)00258-4.

- Sánchez Prado C.** 2007. Estudio de la fotodegradación de compuestos orgánicos mediante microextracción en fase sólida, cromatografía de gases y espectrometría de masas. Tesis doctoral. Universidade de Santiago de Compostela.
- Saranjampour P,** Vebrosky E, Armbrust K. 2017. Salinity impacts on water solubility and n-octanol/water partition coefficients of selected pesticides and oil constituents. *Environ. Toxicol. Chem*, 36, pp 2274–2280. DOI:10.1002/etc.3784.
- Sauco S,** Eguren G, Heinzen H, y DeFeo O. 2010. Effects of herbicides and freshwater discharge on water chemistry, toxicity and benthos in a Uruguayan sandy beach. *Marine Environmental Research* 70, pp 300-307. DOI:10.1016/j.marenvres.2010.06.002.
- Schafer R,** Van den Brink P, y Liess M. 2011. Impacts of Pesticides on Freshwater Ecosystems. *Ecological Impacts of Toxic Chemicals*, 6, pp 111-137.
- Schwarzenbach R,** Westall J. 1981. Transport of nonpolar organic compounds from surface water to groundwater. Laboratory sorption studies. *Environ. Sci. Technol.* 15, pp 1360–1367. DOI.org/10.1021/es00093a009
- Shahid N,** Becker J, Krauss M, Brack W, y Liess M. 2018. Adaptation of *Gammarus pulex* to agricultural insecticide contamination in streams *Science of the Total Environment* 621, pp 479–485.
- Slijckerman D,** Baird D, Conrad A, Robbert G, y Straalen N. 2004. Assessing structural and functional plankton responses to carbendazim toxicity. *Environmental Toxicology*. Vol 23, 2, pp. 455-462. DOI -org.proxy.timbo.org.uy/10.1897/03-12.
- Sousa R,** Antunes C, Guilhermino L, 2008. Ecology of the invasive Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in aquatic ecosystems: an overview. *Ann. Limnol. Int. J. Limnol.* 44, pp 85–94. DOI.org/10.1051/limn:2008017.
- Soutullo A.** 2013. Impactos socioambientales de la expansión agrícola en Uruguay: una mirada interdisciplinaria al proceso de “sojización”. En L. Fernández Reyes y A. V.

Volpedo (eds.) (2013), Evaluación de los cambios de estado en ecosistemas degradados de Iberoamérica. Buenos Aires: CYTED, pp. 73-90.

Suga C, y Tanaka M. 2013. Influence of a forest remnant on macroinvertebrate communities in a degraded tropical stream. *Hydrobiologia* 703, pp 203-213.

Sumudumali R, y Jayawardana J. 2021. A Review of Biological Monitoring of Aquatic Ecosystems Approaches: with Special Reference to Macroinvertebrates and Pesticide Pollution. *Environmental Management* 67, pp 263–276. DOI:10.1007/s00267-020-01423-0.

Suguo K. 1973. Introdução à sedimentologia. São Paulo, Edgard Blucher, pp 317.

Taran L, Ortega C, González R, Pose D, Negrín A, de Souza R, Couto S, Moll M, y Sosa A. 2018. Casuística del CIAT. Intoxicaciones por plaguicidas agrícolas y veterinarios 2002-2011. En Plaguicidas: toxicología clínica, laboral y ambiental. A. Laborde (ed.). Montevideo: Departamento de Toxicología, Facultad de Medicina, UDELAR, pp 228-255.

Teixeira de Mello F, Cananevero A, Ríos N, Garcia B, Suarez G, Lozoya J, y Loureiro M. 2021. An isolated population of *Austrolebias charrua* (Rivulidae, Cyprinodontiformes) detected in a fragile ecosystem (Maldonado, Uruguay). *Aquatic Conserv: Mar Freshw Ecosyst.* 1–7. DOI: 10.1002/aqc.3727.

Tejerina E, y Molineri C. 2007. Comunidades de Chironomidae (Diptera) en arroyos de montaña del NOA: comparación entre Yungas y Monte. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 66, 3-4, pp 169-177.

Toth J, Fugére V, y Yargeau V. 2024. Relationship between stream size, watershed land use, and pesticide concentrations in headwater streams. *Environmental Pollution* 349. 123940. DOI:10.1016/j.envpol.2024.123940.

- Trama F.** 2014. Efecto de los plaguicidas sobre macroinvertebrados bentónicos y calidad del agua en cultivos de arroz del Bajo Piura”, Escuela Nacional Agraria la Molina, Tesis doctoral.
- Tundisi JG.** 2003. Agua no século XXI: enfrentando a escassez (Water in the XXI century: facing its shortage). Rima, Sao Carlos.
- Tsiantas P,** Bempelou E, Doula M, Karasali H. 2023. Validation and Simultaneous Monitoring of 311 Pesticide Residues in Loamy Sand Agricultural Soils by LC-MS/MS and GC-MS/MS, Combined with QuEChERS-Based Extraction” *Molecules* 28, 4268. DOI.org/10.3390/molecules28114268.
- Topaz T,** Egozi R, Eshel G, y Chefetz B. 2018. Pesticide load dynamics during stormwater flow events in Mediterranean coastal streams: Alexander stream case study. *Science of the Total Environment*, 625, pp 168–177. DOI.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.213.
- Universidad de Hertforshire,** Inglaterra. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm> (actualizado al 14/6/2024).
- Vasilachi I,** Tapciuc L, Finaru M, Asiminicesei D, Rșca M, Cozma P, Comăntă-Ungureanu E, Esmaranda C, Hlihor R, Ferțu D y Gavrilescu M. 2020. Pesticides in the Environment and Harmonized Risk Indicators, The 8th IEEE International Conference on E-Health and Bioengineering. Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Web Conference, Romania.
- Villarmarzo J,** Kandratavicius N, Venturini N, Giménez L, Brugnoli E y Muniz P. 2021. Estructura funcional de la macrofauna bentónica en sistemas estuarinos uruguayos. *Boletín. Soc. Zool. Uruguay* (2ª época). Vol. 30 (2): ISSN 2393-6940 e 30.2.4. DOI.org/10.26462/30.2.4.

Walker C, Hopkin S, Sibly R, y Peakall D. 2001. Principles of ecotoxicology. Taylor & Francis, London, pp 309.

Waters T. 1995. Sediment in streams: sources, biological effects and control
American Fisheries Society, Bethesda.

Waite R, Herlihy T, Larsen D, Urquhart N, y Klemm D. 2004. The effects of macroinvertebrate taxonomic resolution in large landscape bioassessments, and example from the Mid Atlantic Highlands, USA. *Freshwater Biology*. 49, pp 474-489. DOI.10.1111/j.1365-2427.2004.01197.x.

Wei G, Wang C, Niu W, Huan Q, Tian T, Zou S, y Huang D. 2021. Occurrence and risk assessment of currently used organophosphate pesticides in overlying water and surface sediments in Guangzhou urban waterways, China. *Environ. Sci. Pollut. Res*
DOI 10.1007/s11356-021-13956-w.

Wenner A. 1988. Crustaceans and other invertebrates as indicators of beach pollution. En *Marine Organisms as Indicators* (Soule, D.F. & Kleppel, G.S., eds). Springer – Verlag New York, pp 199-229.

Wicke D, Matzinger A, Sonnenberg H, Caradot N, Schubert R, Dick R, Heinzmann B, Dünnbier U, von Seggern D, y Rouault P. 2021. Micropollutants in urban stormwater runoff of different land uses. *Water*, 13, 1312. DOI.org/10.3390/w13091312.

Yi W, Wei Y, Zhai W, Wang P, Liu D, y Zhou Z. 2022. Effects of three surfactants on the degradation and environmental risk of metolachlor in aquatic environment. *Chemosphere*. Vol 300. 134295. DOI.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134295.

Zweig L, Rabeni C. 2001. Biomonitoring for deposited sediment using benthic invertebrates: a test on 4 Missouri streams *J N Am Benthol Soc*, 20 (2001), pp. 643-657. DOI.org/10.2307/1468094.

Anexo

Tabla 17. Parámetros instrumentales. Agroquímicos utilizados en la validación, que se ven por método negativo. Nombre del agroquímico, tiempo esperado de retención, Q1 cuadrupolo precursor, Q3 cuadrupolo hijo, luego datos de voltajes usados en masa masa (Potencial de declusteing DP, EP, Energía de colisión CE, CXP). Asterisco indica la utilizada para cuantificación.

Agroquímico	Tiempo esperado	Q1	Q3	DP (volts)	EP (volts)	CE (volts)	CXP (volts)
24D*	10	219	160,9	-21	-10	-14	-15
24D	10	219	124,9	-21	-10	-34	-15
Diclosulam*	10,4	403,9	181,1	-73	-10	-21	-7
Diclosulam	10,4	403,9	153	-73	-10	-46	-9
Bentazone*	9,7	239	132	-80	-10	-35	-15
Bentazone	9,7	239	197	-80	-10	-30	-15
Fipronil*	0	434,9	329,8	-47	-10	-24	-10
Fipronil	0	434,9	250	-47	-10	-50	-15

Tabla 18. Parámetros instrumentales. Agroquímicos utilizados en la validación, que se ven por método positivo. Nombre del agroquímico, tiempo esperado de retención, Q1 cuadrupolo precursor, Q3 cuadrupolo hijo, luego datos de voltajes usados en masa masa (Potencial de declusteing DP, EP, Energía de colisión CE, CXP). Asterisco indica la utilizada para cuantificación.

Agroquímico	Tiempo esperado	Q1	Q3	DP (volts)	EP (volts)	CE (volts)	CXP (volts)
Imazaquin *	18,25	312,2	199,1	81	10	41	12
Imazaquin	18,25	312,2	181,1	81	10	55	10
Imazapir*	14,45	262	217,2	56	10	28	10
Imazapir	14,45	262	149,2	56	10	36	10
Imzetapir*	17,51	290	245,2	80	10	28	10
Imzetapir	17,51	290	230,1	80	10	33	10
Imzamax *	15,85	306,2	261,1	66	10	31	14
Imzamax	15,85	306,2	246,1	66	10	33	14
Imzapic*	16,14	276,1	231	48	10	25	10
Imzapic	16,14	276,1	163	48	10	36	10
Sulfentrazone*	18,54	387,1	307,1	52,06	11	30	15
Sulfentrazone	18,54	404,2	307	40	6	38,7	13

Propanil*	21,21	218	162	64	10	23	10
Propanil	21,21	218	127	64	10	36	10
Pirimetani*	20,92	200	168,2	40	10	36,9	10
Pirimetani	20,92	200	143,1	40	10	37,9	10
Pendimethalin*	24,26	282,2	212	45	10	16	10
Pendimethalin	24,26	282,2	194	45	10	25	10
Bispiribac*	20,89	431	275,1	60	10	17	10
Bispiribac	20,89	431	243,1	60	10	45	10
Acetoclor*	21,92	270,2	224	36	10	11	10
Acetoclor	21,92	270,2	148	36	10	29	10
Alaclor*	22,04	270,2	238,2	31	10	15	10
Alaclor	22,04	270,2	162,1	31	10	25	10
Metolaclo*	22,09	284,1	252	51	10	21	16
Metolaclo	22,09	284,1	176,1	46	10	35	10
Chlorimuron*	21,08	415	186,1	46	10	27	10
Chlorimuron	21,08	415	121,1	46	10	53	10
Clorsulfuran*	18,75	357,9	141,1	81	10	25	24
Clorsulfuran	18,75	357,9	167,1	81	10	25	12
Metsulfuron*	18,25	382	167,1	60	10	23	10
Metsulfuron	18,25	382	141,1	60	10	20	10
Pirazosulfuron*	21,87	415	182,2	60	10	23	10
Pirazosulfuron	21,87	415	139,2	60	10	61	10
Linuron*	20,94	249	159,9	61	10	25	10
Linuron	20,94	249	182	61	10	23	12
Saflufenacil*	20,21	501,1	198,1	82	4	61	33
Saflufenacil	20,21	501,1	459,4	82	4	20,3	35
Procloraz*	22,79	376	308	78	10	15	10
Procloraz	22,79	376	266	78	10	24	10
Penoxsulam*	18,77	484	195,2	100	10	40	10
Penoxsulam	18,77	484	444,1	100	10	34	10
Metribuzin*	18,55	215,2	187,1	66	10	25	10
Metribuzin	18,55	215,2	84,1	61	10	31	10
Cianazina*	17,7	241,2	214,2	38	10	23	10
Cianazina	17,7	241,2	159	38	10	14	10
Atrazina*	19,9	216,1	174	21	10	25	10
Atrazina	19,9	216,1	103,9	21	10	27	10
Ametrina*	20,25	228,2	186,2	80	10	26	15
Ametrina	20,25	228,2	96,1	80	10	34	16
Ciproconazol*	21,3	292,1	70,2	16	10	35	10
Ciproconazol	21,3	292,1	125,1	16	10	35	10
Triticonazole*	21,68	318,2	70	66	10	51	12
Triticonazole	21,68	320,2	70	66	10	33	12
Epoxiconazol*	21,83	330,1	101,2	36	10	63	10
Epoxiconazol	21,83	330,1	121,3	36	10	27	10
Tetraconazol*	21,51	372,1	159,1	88	10	39	10
Tetraconazol	21,51	372,1	205	88	10	29	10
Propiconazol*	22,58	342,1	159	46	10	37	10
Propiconazol	22,58	342,1	69,1	46	10	33	10

Metconazol*	22,8	320,1	70,1	36	10	55	12
Metconazol	22,8	322,1	70,1	31	10	51	12
Clomazone*	20,56	240	125	78	10	24	10
Clomazone	20,56	240	89,3	78	10	55	10
Clodinafop-propargil*	21,98	350	91	60	10	40	10
Clodinafop-propargil	21,98	350	238	60	10	40	10
Oxifluorfen*	23,32	362	315,8	57	10	22	10
Oxifluorfen	23,32	364,2	318,2	60	10	21	10
Flumioxazin*	20,12	355,3	327,1	55	10	20	17
Flumioxazin	20,12	372,3	77	28	6	78	10
Pirimifos metil*	22,99	306,1	108,1	130	10	42	10
Pirimifos metil	22,99	306,1	164,1	130	10	31	10
Methidation*	20,31	303,1	145	46	10	10	13
Methidation	20,31	303,1	84,9	41	10	10	29
Malathion*	21,2	331,2	99	56	10	35	10
Malathion	21,2	331,2	284,9	56	10	11	10
Diazinon*	22,67	305,2	153,1	51	10	27	12
Diazinon	22,67	305,2	169,2	51	10	29	14
Ethion*	23,73	385	198,9	61	10	15	10
Ethion	23,73	385,059	198,9	66	10	13	12
Clorpirifós metil*	23,3	321,996	125	76	10	27	8
Clorpirifós metil	23,3	321,996	289,9	76	10	23	14
Imidacloprid*	14,43	256,1	209,1	86	10	22	10
Imidacloprid	14,43	256,1	175,1	86	10	23	10
Tiametoxam*	12,95	292	211,1	88	10	10	15
Tiametoxam	12,95	292	246,1	88	10	10	13
Tiacloprid*	16,17	253,1	126	98	10	28	10
Tiacloprid	16,17	255	128	98	10	25	10
Bifentrin*	25,61	440,1	181,2	36	10	21	10
Bifentrin	25,61	440,1	166,2	36	10	55	10
Clorantraniliprole*	20,19	484,4	286,2	63	14	18	10
Clorantraniliprole	20,19	484,4	453,4	63	14	34	10
Iprodione*	21,98	330,1	245,1	64	10	21	10
Iprodione	21,98	330,1	288	64	10	16	10
Carbendazim*	13,27	192,1	160	80	10	22,8	10
Carbendazim	13,27	192,1	132,1	80	10	41,9	10
Thiram*	17,93	241,1	88	36	10	15	6
Thiram	17,93	241,1	120	36	10	19	10
Carbaril*	18,88	202,2	145	68	10	12	10
Carbaril	18,88	202,2	127,1	68	10	35	10
Azoxistrobin*	20,3	404,1	372,1	72	10	19	10
Azoxistrobin	20,3	404,1	344	72	10	31	10
Piraclostrobin*	22,58	388,1	194,2	67	10	17	10
Piraclostrobin	22,58	388,1	163,1	67	10	39	10
Trifloxistrobin*	22,88	409,3	186	50	10	22	15
Trifloxistrobin	22,88	409,3	206,1	50	10	18	10

Tabla 19. Agroquímicos inyectados en el cromatógrafo detectados por el método negativo, tiempo de retención, transición principal (cuantificación) y secundaria (confirmación).

<u>Agroquímico</u>	<u>Tiempo de retención</u>	<u>Transición principal</u>	<u>Transición secundaria</u>
2.4D	10,31	219/161	219/124
Diclosulam	10,7	403/181	403/153
Bentazone	10,17	239/132	239/197
Fipronil	12,45	435/330	435/250

Tabla 20. Agroquímicos inyectados en el cromatógrafo detectados por el método positivo, tiempo de retención, transición principal (cuantificación) y secundaria (confirmación).

<u>Agroquímico</u>	<u>Tiempo de retención</u>	<u>Transición principal</u>	<u>Transición secundaria</u>
Imazaquin	18,24	312/199	312/181
Imazapir	14,35	262/217	262/149
Imazetapir	17,45	290/245	290/230
Imazamox	5,83	306/261	306/246
Imazapic	16,05	276/231	276/163
Sulfentrazone	18,46	387/307	404/307
Propanil	21,14	218/162	218/127
Pirimetamil	20,86	200/168,2	200/143.1
Pendimethalin	24,26	282/212	282/194
Bispirivac	20,96	431/275,1	431/243,1
Acetoclor	22,03	270/224	270/148
Alaclor	22,06	270/238	270/162
Metolaclor	22,1	284/252	284/176
Chorimuron	21,01	415/186	415/121
Clorsulfuran	18,64	357/141	357/167
Metsulfuron	18,09	382/167	382/141
Pirazosulfuron	21,73	415/182,2	415/139.2
Linuron	20,85	249/160	249/182
Saflufenacil	20,19	501/198	501/459
Procloraz	22,71	376/308	376/266
Penoxulam	18,65	484/195	484/444
Metribuzin	18,45	215/187	215/84
Cianazina	17,59	241/214	241/159
Atrazina	19,81	216/174	216/104
Ametrina	20,22	228/186	228/96
Ciproconazol	21,38	292/70	292/125
Triticonazole	21,69	318/70	320/70
Epoxiconazol	21,83	330/101	330/121
Tetraconazol	21,49	372/159	372/205
Propiconazol	22,67	342/159	342/69
Metconazol	22,73	320/70	322/70
Clomazone	20,66	240/125	240/89
Clodinafop propargil	22,05	350/91	350/238
Oxifluorfen	23,29	362/315	364/318
Flumioxacin	20,12	355/327	372/77

Pirimifos metil	23	306/108	306/164
Metidation	20,22	303/145	303/85
Malathion	21	331/99	331/285
Diazinon	22,74	305/153	305/169
Ethion	23,8	385/198	385/171
Clorpirifós metil	23,4	321/125	321/289
Imidacloprid	14,16	256/209	256/175
Tiametoxam	12,68	292/211	292/246
Tiacloprid	16,03	253/126	255/128
Bifentrin	25,54	440/181	440/166
Clorantranilprole	20,06	484/286	484/453
Iprodione	21,98	330/245	330/288
Carbendazim	13,06	192,1/160	192,1/132,1
Thiram	17,86	241/88	241/120
Carbaril	18,74	202/145	202/127,1
Azoxistrobin	20,31	404,1/372,1	404,1/344
Piraclostrobin	22,62	388/194	388/163
Trifloxistrobin	22,96	409/186	409/206

Tabla 21. Porcentajes de las diferentes fracciones granulométricas (arenas muy gruesas y balasto, gruesa, media, fina y muy fina, y limos y arcilla) para las muestras de la cuenca del Arroyo Maldonado.

Sitio	Arena muy gruesa y balasto >1 mm	Arena gruesa 1mm-500 μ m	Arena media 500-250 μ m	Arena fina 250-125 μ m	Arena muy fina 125-63 μ m	Limo y arcilla <63 μ m
1	0,0	0,1	32,0	65,7	0,7	1,5
2	10,0	20,2	29,1	31,8	4,6	4,3
3	4,6	4,8	20,3	54,3	5,9	10,2
4	7,8	3,6	4,7	5,6	4,2	74,1
5	25,6	28,0	30,6	8,8	4,6	2,4
6	4,7	2,2	8,5	32,3	16,0	36,2
7	3,8	11,1	42,7	20,6	6,9	15,0
8	7,5	6,6	11,4	9,4	4,9	60,2
9	38,3	26,8	16,6	3,8	3,1	11,4
10	65,5	25,5	6,2	1,1	0,8	0,9
11	47,1	16,4	15,9	9,3	5,1	6,3
12	72,4	12,9	6,2	1,9	1,6	5,0
13	17,9	6,8	7,7	8,3	7,1	52,3
14	89,6	5,2	1,9	1,0	0,8	1,5
15	42,2	34,3	13,8	3,9	2,1	3,8
16	91,4	5,8	1,5	0,3	0,5	0,6
17	42,5	39,8	14,6	0,9	1,5	0,8
18	76,6	18,2	2,9	0,4	1,3	0,7
19	90,0	8,8	0,3	0,1	0,3	0,5

Tabla 22. Sitios de muestreos, fracción de carbono orgánico calculado (FOC), coeficiente de sorción lineal (kd) para los diferentes plaguicidas en cada sitio.

Sitios	Foc	kd Azoxistrobin	kd Atrazina	kd Piraclostrobin	kd Clorpirifós	kd Diazinón	kd Etión	kd Carbendazim	kd Sulfentrazone
1	0.295	57.520	80.135	680.177	2207.100	413.640	4075.886	10.603	4.713
2	0.49	95.542	133.106	1129.786	3666.031	687.062	6770.116	17.611	21.070
3	2.24	436.765	608.482	5164.735	16758.997	3140.856	30949.100	80.510	35.791
4	0.43	83.843	116.807	991.445	3217.129	602.932	5941.122	15.455	18.490
5	1.65	321.724	448.212	3804.380	12344.797	2313.577	22797.328	59.304	26.364
6	0.25	48.746	67.911	576.421	1870.424	350.542	3454.141	8.985	10.750
7	0.48	93.593	130.389	1106.729	3591.214	673.041	6631.950	17.252	7.669
8	0.61	118.941	165.703	1406.468	4563.834	855.322	8428.103	21.925	26.230
9	0.56	109.191	152.121	1291.184	4189.749	785.214	7737.275	20.127	8.948
10	2.8	545.956	760.603	6455.918	20948.746	3926.070	38686.374	100.637	120.400
11	1.13	220.332	306.958	2605.424	8454.315	1584.450	15612.715	40.614	18.055
12	0.28	54.596	76.060	645.592	2094.875	392.607	3868.637	10.064	12.040
13	0.25	48.746	67.911	576.421	1870.424	350.542	3454.141	8.985	3.994
14	2.75	536.207	747.021	6340.634	20574.661	3855.962	37995.546	98.840	118.250
15	0.51	99.442	138.538	1175.899	3815.664	715.106	7046.447	18.330	8.149
16	0.67	130.640	182.001	1544.809	5012.736	939.452	9257.097	24.081	28.810
17	0.16	31.198	43.463	368.910	1197.071	224.347	2210.650	5.751	2.556
18	0.72	140.389	195.584	1660.093	5386.820	1009.561	9947.925	25.878	30.960
19	0.21	40.947	57.045	484.194	1571.156	294.455	2901.478	7.548	3.355

Tabla 23. Mínima concentración sin efecto observada a los 21 días (NOEC) para la especie más sensible (peces, invertebrados acuáticos y algas) y concentración prevista sin efecto (PNEC) para los diferentes plaguicidas identificados en sedimento de la cuenca.

	NOEC	PNEC
Azoxistrobin	0.044	0.0044
Atrazina	0.1	0.01
Piraclostrobin	0.004	0.00008
Clorpirifós	0.00014	0.000014
Diazinón	0.00056	0.000056
Etión	0.000025	0.00000025
Carbendazim	0.0015	0.00003
Sulfentrazone	0.2	0.004

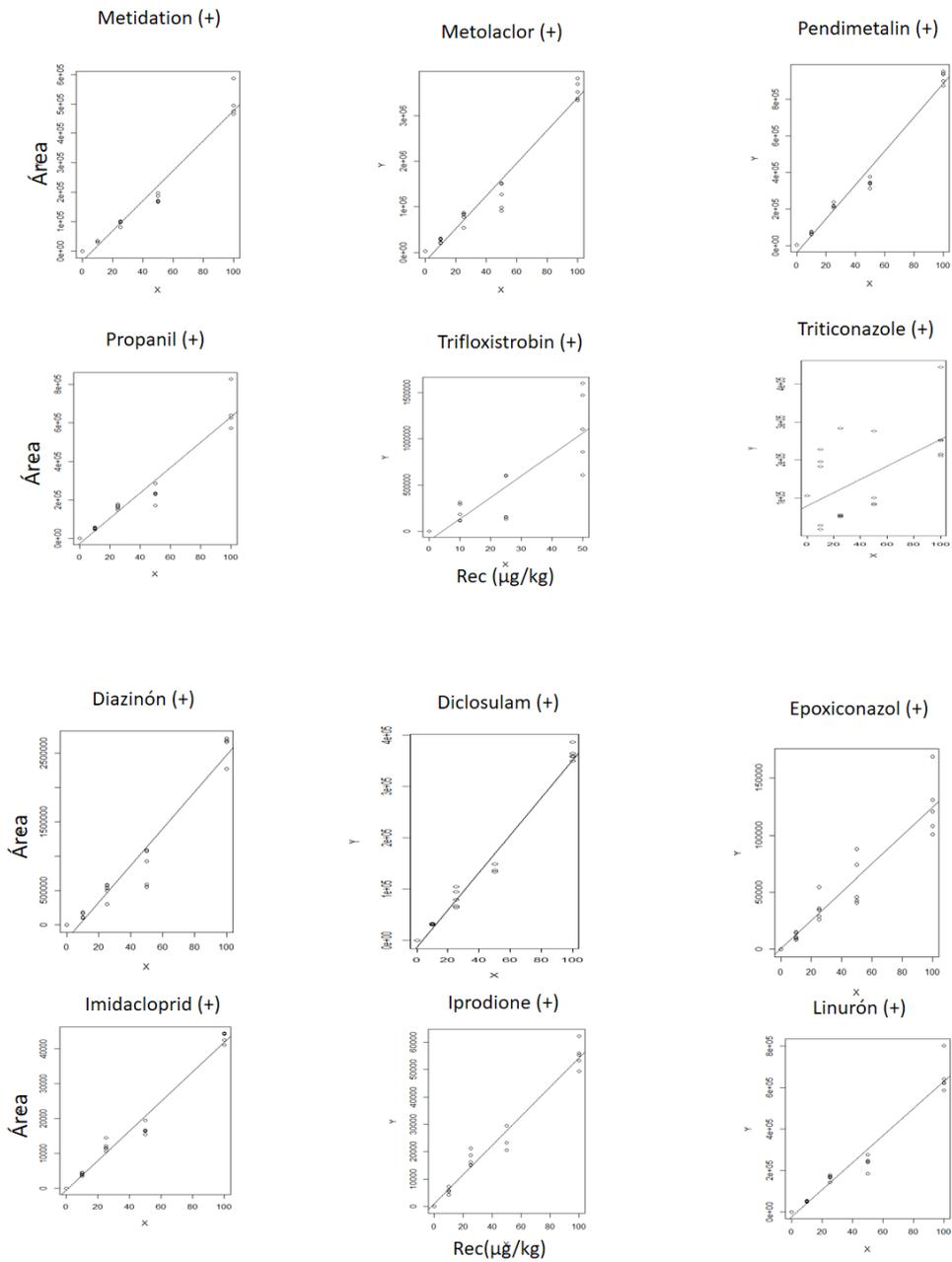


Figura 25. Curvas generadas con las concentraciones realizadas para hacer la curva matriz y el área de las curvas de recuperación. Compuestos validados (+), parcialmente validados (+/-), y no validados (-), para extracción de agroquímicos en sedimento de la cuenca del arroyo Maldonado con QuEChERS.

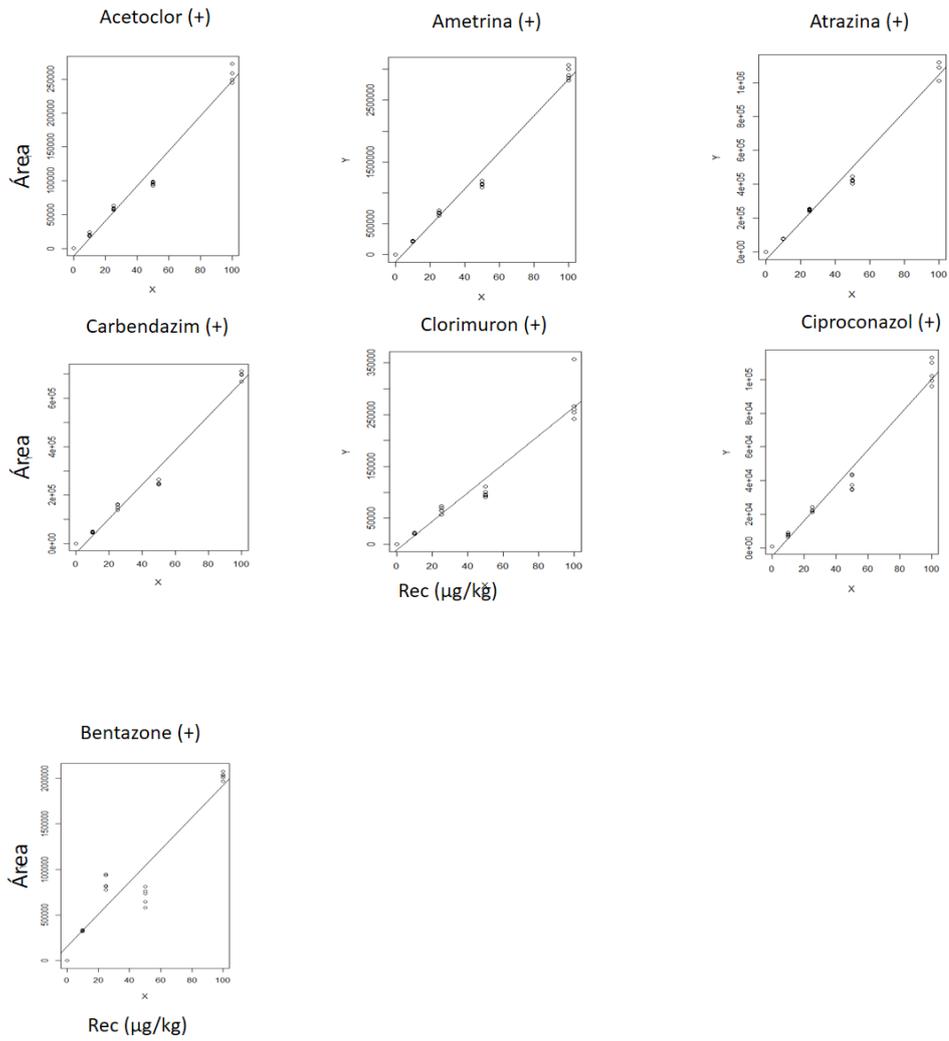


Figura 25. (Continuación)

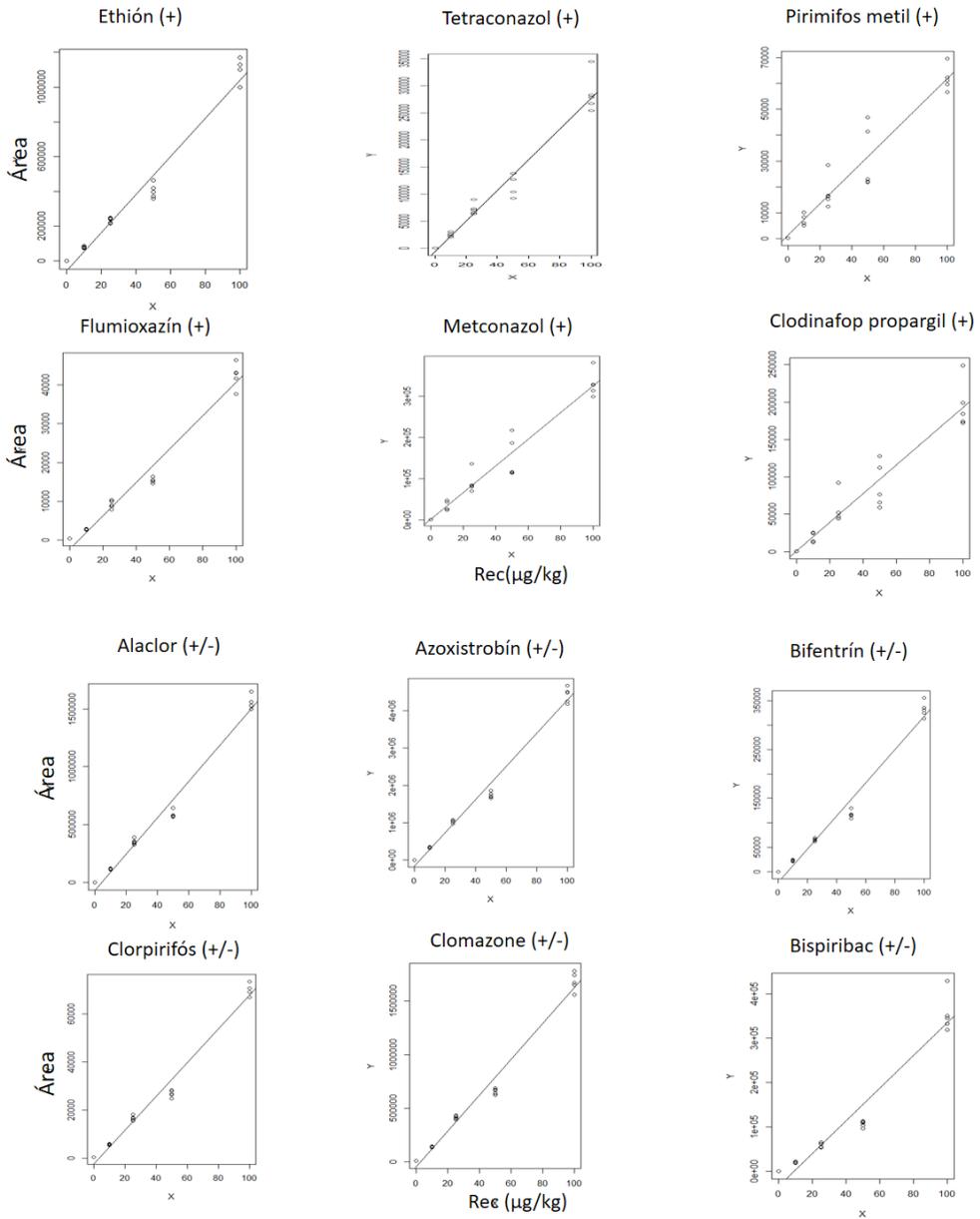


Figura 25. (Continuación)

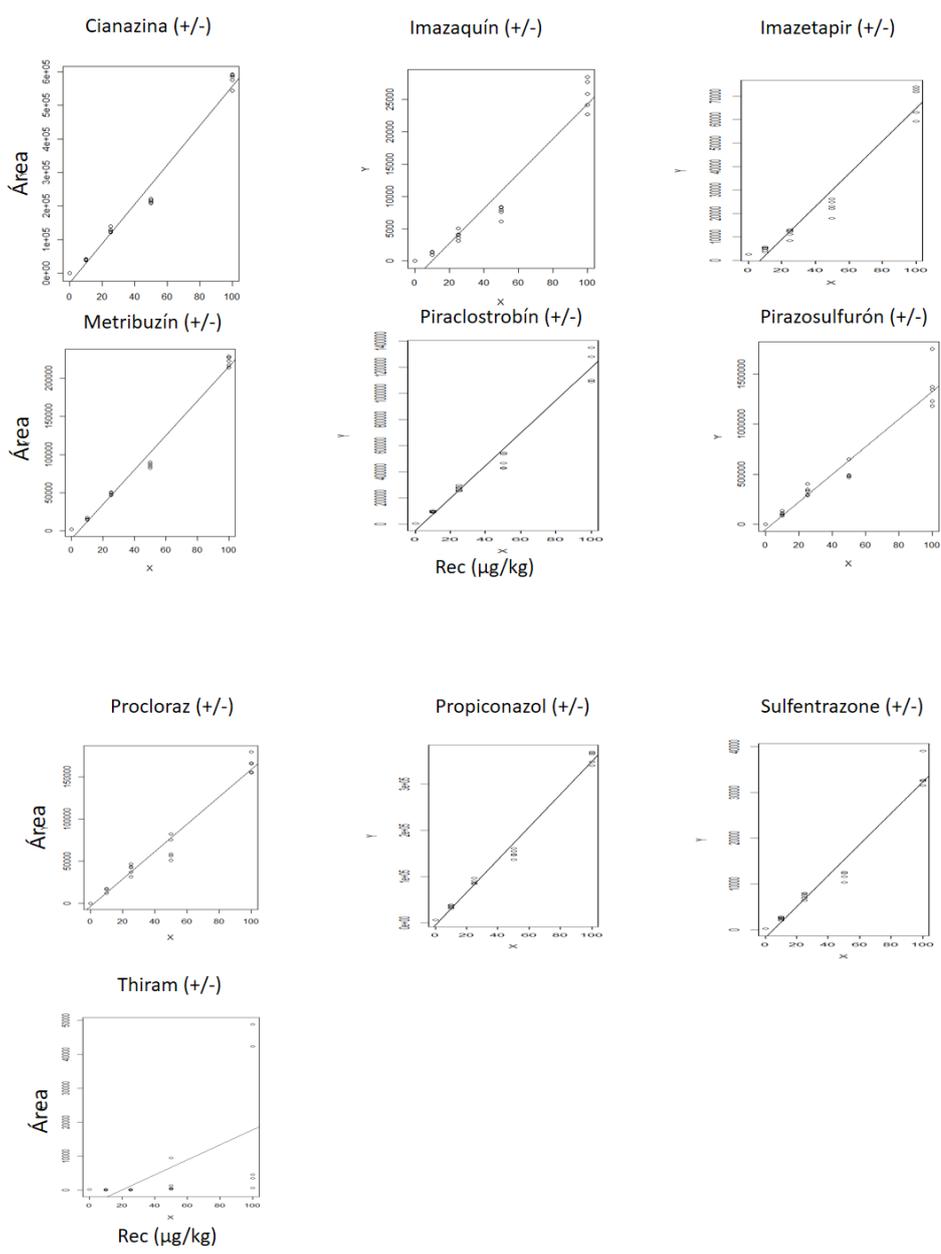


Figura 25 (Continuación)

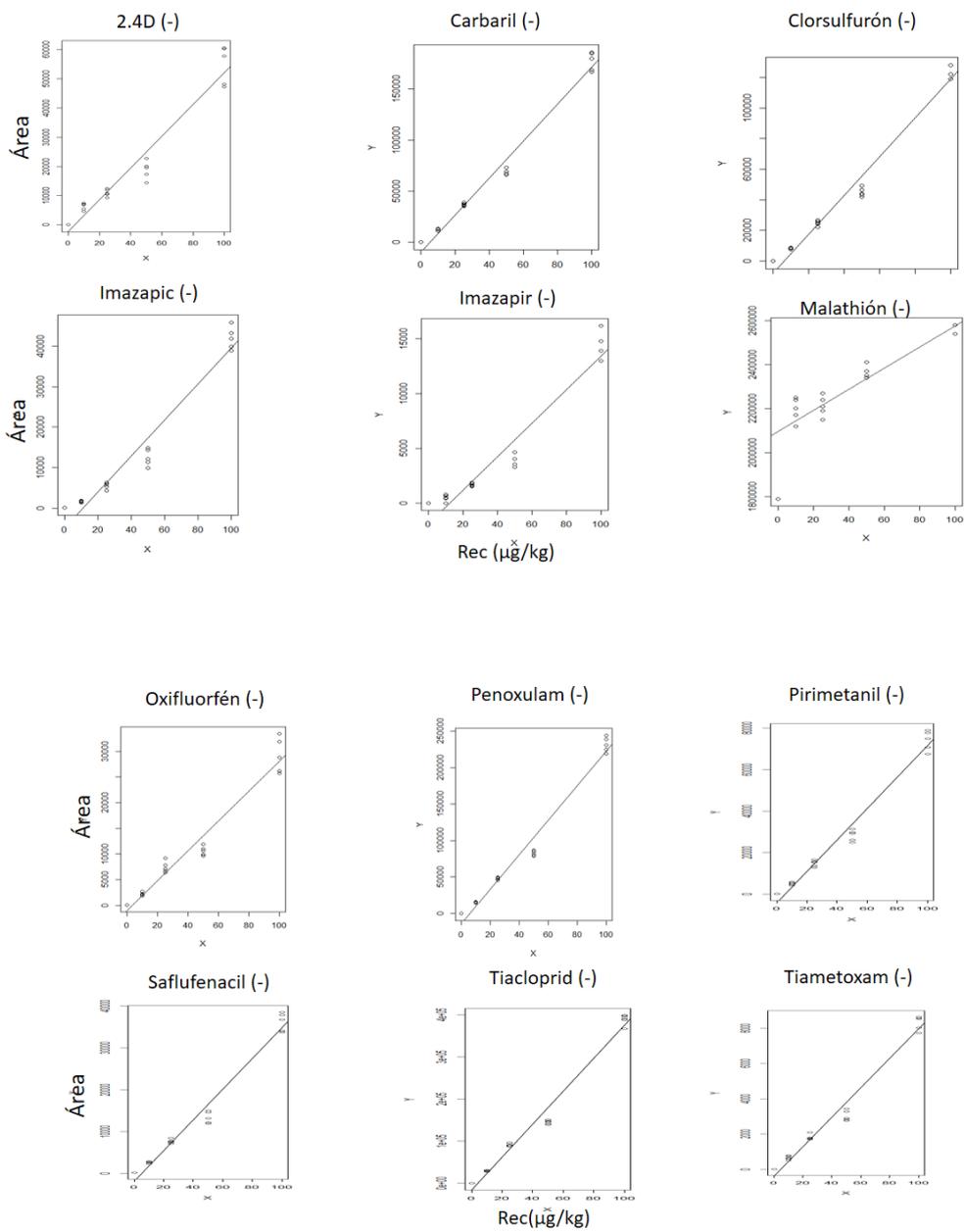


Figura 25 (Continuación)