

ESTUDIO EN MICROCOSMOS DE LOS EFECTOS DEL PLAGUICIDA TRIFLOXISTROBINA SOBRE EL PLANCTON

VIVIANA CLAUDIA FERNÁNDEZ,¹ WANDA MARINA POLLA,¹
EDUARDO LORENZATTI²

¹Facultad de Humanidades y Ciencias, Universidad Nacional del Litoral. Paraje El Pozo (S/N), 3000, Santa Fe, Argentina. ²Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de Universidad Nacional del Litoral. Paraje El Pozo (S/N) 3000, Santa Fe, Argentina. E-mail: valgas@fhuc.unl.edu.ar

RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar el impacto del fungicida Trifloxistrobina sobre el plancton. Se realizaron ensayos de toxicidad a nivel de microcosmos, utilizando 32 tanques inoculados con plancton. Las concentraciones de Trifloxistrobina aplicadas fueron de: 0,01 mg/L (C1); 0,1 mg/L (C2) y 1 mg/L (C3) y dos controles (Co). Los muestreos del plancton se realizaron a las 3, 6, 24 y 72 horas. Se midieron y analizaron variables biológicas y físico-químicas *in situ* y en laboratorio. Los análisis estadísticos no dieron diferencias significativas para la abundancia del fitoplancton y fueron significativas para el zooplancton a la mayor concentración.

Palabras clave:

Fungicida, diversidad, test de toxicidad.

THE EFFECT OF PESTICIDE TRIFLOXISTROBIN ON PLANKTON: A MICROCOSM STUDY

**VIVIANA CLAUDIA FERNÁNDEZ,¹ WANDA MARINA POLLÁ,¹
EDUARDO LORENZATTI²**

¹Facultad de Humanidades y Ciencias, Universidad Nacional del Litoral. Paraje El Pozo (S/N), 3000, Santa Fe, Argentina. ²Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de Universidad Nacional del Litoral. Paraje El Pozo (S/N) 3000, Santa Fe, Argentina. E-mail: valgas@fhuc.unl.edu.ar

ABSTRACT

The aim of this work was to study the impact of pesticide Trifloxistrobin on plankton. Toxicity tests were conducted at the microcosm level, using 32 tanks inoculated with plankton. The concentrations of Trifloxistrobin applied were: 0.01 mg/L (C1); 0.1 mg/L (C2) and 1 mg/L (C3), and two controls (Co). Plankton samples were taken at 3, 6, 24 and 72 hours. Biological and physicochemical variables were measured and analyzed in situ and in the laboratory. Statistical analyses did not show remarkable differences for phytoplankton, whereas abundance differences were significant for zooplankton at the highest concentration.

Key words:

Fungicide, diversity, toxicity test.

INTRODUCCIÓN

Los bioensayos son mediciones experimentales que se usan para diferenciar los efectos de contaminantes específicos de aquellos inducidos por otras perturbaciones, y son capaces de descubrir concentraciones muy bajas de contaminantes (USGS, 2001), permitiendo de este modo evaluar sus efectos sobre poblaciones acuáticas, extrapolando estos resultados a nivel de comunidad y ecosistema (Encina & Díaz, 2000).

La entrada de pesticidas a los cuerpos de agua son derivadas de las prácticas agrícolas. Aunque su aplicación está prohibida en los sistemas acuáticos (BASF Corporation, 2008 Bayer Crop Science, 2008; Syngenta Crop Protección, 2009), la contaminación puede ocurrir por vía del escurrimiento, lavado o pulverización de áreas adyacentes (Matta *et al.*, 2002). Particularmente se produce en cultivos intensivos de grandes llanuras (Smith *et al.*, 2008), donde las prácticas agrícolas a menudo se extienden hasta el borde o por el centro de los humedales (O'Connell *et al.*, 2012).

En los últimos años, los fungicidas han ganado popularidad en todo el mundo en el control de las enfermedades de fin de ciclo en plantas de soja (*Glycine seprarlamax* (L) Merr.), en especial la roya asiática, causada por un hongo patógeno *Phakopsora pachyrhizi* (Sconyers *et al.*, 2006; Battaglin *et al.*, 2010; Deb *et al.* 2010). Recientemente se ha desarrollado estrobilurina, fungicida considerado el único medio eficaz para la lucha contra esta enfermedad (Shaner *et al.*, 2005). En la última década, Gran Bretaña y los Estados Unidos experimentaron un aumento en el uso de fungicidas estrobilurinas, de casi el doble entre 2007 y 2008, de 72,836 a 123,330 kg (Hooser *et al.*, 2012). El aumento en la aplicación de fungicidas podría conducir a una mayor carga sobre el ambiente en los próximos años, lo que representa un riesgo para la biota (Debjani *et al.*, 2009; Ochoa-Acuña *et al.*, 2009). En Argentina, el 91% de la producción de soja se concentra en la Pampa Húmeda (Viglizzo *et al.*, 2009). Triazoles (ciproconazol, difenoconazol, epoxyconazole, y tebuconazol) y fungicidas a base de estrobilurinas (azoxistrobin, piraclostrobina y trifloxistrobina) son los más utilizados para control de la roya de la soja y otras enfermedades que atacan el cultivo en esta zona (Sillon *et al.*, 2005; Attademo *et al.*, 2012; Junges *et al.*, 2012).

El fitoplancton ocupa un rol clave en los ecosistemas acuáticos debido al carácter de productor primario; es el alimento del zooplancton, de larvas y juveniles de peces. El zooplancton transfiere la energía desde los productores (fitoplancton) hacia los organismos que ocupan niveles mas altos en la cadena trófica y su estructura de comunidad, biomasa y producción, e influye sobre la red alimentaria en los ecosistemas, a través de las interacciones tróficas (Mills & Forney, 1988).

Entre el fitoplancton y zooplancton ocurren una serie de interacciones bióticas, analizadas principalmente en el marco de los modelos del *top-down* y *bottom-up* (McQueen & Post, 1988; Allende & Pizarro, 2006; Junges *et al.*, 2012) que resultan insoslayables al momento de hacer un análisis sobre estas comunidades. Además, la presencia de xe-

nobióticos puede alterar la intensidad de estas interacciones predador–presa (Reeves *et al.*, 2011). De este modo, los organismos del plancton son sumamente útiles como indicadores de cambios ambientales. Las comunidades planctónicas pueden ser utilizadas como sensores biológicos de perturbaciones, traducidas en alteraciones de los flujos de materia y energía de la red trófica (Vaqué *et al.*, 2004).

La clasificación toxicológica IV (CASAFE, 2007) del producto comercial Flint® 50 % WG (Bayer Argentina), tiene un alto potencial de bioconcentración en crustáceos y algas. Bayer CropScience señala la toxicidad en algas verde (*Desmodesmus subspicatus*) $CE_{50} = 0,016$ mg/L (72 h) y en crustáceos (*Daphnia magna*) $CE_{50} = 0,016$ mg/L (48 h) (Bayer Crop Science, 2008).

Los antecedentes sobre la incidencia de los plaguicidas en el plancton son escasos en la región (Fernandez *et al.*, 2007; José de Paggi & Devercelli, 2011). Por otra parte, con respecto a la respuestas de organismos al fungicida Trifloxistrobina, se encontraron solo dos trabajos referidos a anfibios de la región (Attademo *et al.*, 2012; Junges *et al.*, 2012).

Este estudio está orientado a investigar experimentalmente el impacto que pueda tener el el formulado comercial del fungicida Trifloxistrobina (Flint® 50 % WG) con 50 % de principio activo de trifloxistrobina, sobre la composición y abundancia del plancton.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron ensayos de toxicidad a nivel de microcosmos en el mes de septiembre de 2009. Para ello se utilizaron 32 tanques de plástico blanco opaco, con una capacidad de 9 litros, expuestos a la luz natural. El agua y el plancton se extrajeron de una laguna ubicada a los 31°39'36"S y 60°35'26"O perteneciente a la cuenca del río Paraná. Esta laguna se encuentra fuera de toda influencia antrópica. Los tanques fueron inoculados con plancton y para evitar el ingreso de insectos, los recipientes se cubrieron con tela metálica de malla de 1 mm y se colocaron al aire libre.

Luego de un período de aclimatación, se aplicó una solución acuosa del producto comercial Flint® 50 % WG (Bayer Argentina), formulado de 50 % de principio activo trifloxistrobina (TFS) y excipientes (Gisi *et al.*, 2000). Flint es el primer fungicida del grupo de estrobilurinas comercializado por Bayer Crop Science desde el año 2007 (Número de registro CAS 141517–21–7; nombre químico: (E, E)–metoxiimino {2 – [1 – (3–trifluorometil–fenil) – ethylideneaminoxymethyl] fenil–acético} éster metílico del ácido (IU–PAC). TFS es considerado no tóxico para aves, mamíferos, abejas, otros insectos benéficos y lombrices de tierra (CASAFE, 2007).

Las concentraciones de Flint utilizadas en los experimentos fueron: 0,01 (C1); 0,1 (C2) y 1 (C3) mg/L con sus respectivas réplicas; se utilizaron dos controles (Co) a los que no

se les agregó el fungicida. Estas concentraciones fueron seleccionadas según la toxicidad para *Daphnia magna*: CE50 – 0,01 mg/L (tiempo de exposición 48 horas) y para *Desmodesmus subspicatus*: CE50 0,064 mg/L (tiempo de exposición 72 horas).

Una vez aplicado el fungicida, los muestreos se realizaron a las 3, 6, 24 y 72 horas. Se extrajeron muestras de fitoplancton, para lo cual se tomaron 100 cc de agua superficial; las muestras se fijaron *in situ* con solución ácida de Lugol (Jones, 1979). A fin de obtener información del nivel trófico superior, se tomaron muestras de zooplancton juntamente con la extracción de las de fitoplancton. Para el zooplancton se filtraron 7 litros de cada tanque con una red de 40 μm de abertura de malla. Las muestras de zooplancton se fijaron con formol al 10%. No se filtró la totalidad del volumen de los tanques, para evitar incluir los individuos muertos y sobreestimar la muestra. Por lo expuesto, la extracción de las muestras fue sin reposición.

In situ se midió oxígeno disuelto, conductividad y pH con medidor multiparamétrico HANNA y la temperatura del agua con termómetro de columna de mercurio. Los tanques fueron aireados mediante agitación superficial, para evitar estratificación térmica y del plancton. Se extrajeron muestras de agua al inicio del estudio y de cada microcosmos al final de la experiencia, para la determinación de nitrato amoniacal y fosfatos. El análisis se realizó por el método espectrofotométrico 4500 –NH₃ F para el amonio y 4500 – PC, de acuerdo a APHA (2005), con espectrofotómetro de ultravioleta–marca Perkin Elmer, Lambda 40.

En laboratorio, las muestras de fitoplancton se analizaron cualitativamente con microscopio binocular y cuantitativamente bajo microscopio invertido (450X) (Utermöhl, 1958). El zooplancton fue analizado cualitativamente y cuantitativamente bajo microscopio binocular (100X).

La diversidad específica (H') se calculó en base al Índice de Shannon–Weaver (1949). Para el análisis de la varianza se aplicó un ANOVA, previa verificación que los datos tengan distribución normal y se realizaron comparaciones Post–Hoc mediante la aplicación de t de Dunnett, que trata un grupo como control y lo compara con todos los demás grupos (Dunnett, 1955).

RESULTADOS

Las variables físico–químicas no registraron diferencias significativas entre los distintos microcosmos ($p = 0,99$), por lo que no es de esperar una influencia negativa sobre los organismos planctónicos (Tabla 1).

En cuanto al análisis del fitoplancton, la riqueza específica estuvo distribuida en las siguientes clases: Clorofitas (30), Cianobacterias (9), Diatomeas (5), Criptofitas (4) y

Euglenofitas (2). La diversidad específica y la equitabilidad oscilaron respectivamente entre: 2,272 bits 0,346 (Co-72hs) y 3,027 bits 0,764 (Co-3hs). La abundancia total de las clases registradas fue: Clorofitas 70853 ind/l; Cianobacterias 31455 ind/l, Criptofitas 21583 ind/l; Euglenofitas 2351 ind/l y Diatomeas 1595 ind/l. La abundancia del fitoplancton no mostró una disminución como consecuencia del agregado del fungicida, en algunos casos incluso se incrementó, como en Clorofitas que registraron su mayor abundancia en los tratamientos. A las 3 hs y 6 hs de exposición las Clorofitas se incrementaron progresivamente de la menor concentración a la mayor, siendo el control el valor más bajo de abundancia. A las 24 hs el control registró la mayor abundancia seguida de: C2-24hs, C3-24hs y C1-24 hs. A las 72 horas el Control presentó el menor valor y siendo los tratamientos: C2-72hs, C3-72hs y C1-72hs, los que registraron mayor abundancia de Clorofitas (Figura 1). Este hecho puede ser consecuencia de la disminución en la presión de pastoreo. Las Clorofitas presentes fueron las de menor talla como: *Chlorella vulgaris*, *Crucigeniella rectangularis*, *Monoraphidium minutum*, *Monoraphidium pussillum* y *Scenedesmus ecornis*.

Por el contrario, la densidad de cladóceros y copépodos decayó a medida que pasaba el tiempo de exposición; estando ausentes a partir de la hora 24, excepto los copépodos en el microcosmos control a las 72 hs, que estuvieron presentes aunque en densidades bajas (Figura 2).

La disminución en el zooplancton observada en los microcosmos con Trifloxistrobina, particularmente de los de mayor talla (copépodos y cladóceros) redujo la presión de pastoreo sobre el fitoplancton, y con ello provocó un incremento algal (de este modo la disminución del zooplancton provocó aumento del fitoplancton). En general en los controles, a excepción de la hora 24, se registraron los mayores valores de densidad del zooplancton y una disminución del fitoplancton (efecto *top-down*). Los rotíferos (microzooplancton) presentaron igual comportamiento que el macrozooplancton pero su abundancia en todo el período de estudio fue mayor (Figura 3).

Las densidades fitoplanctónicas en función del tiempo no son estadísticamente significativas. La interacción entre concentración*tiempo, no dio significativo ($p = 0,906$), lo cual indicaría que dicha interacción no tiene un efecto significativo sobre la densidad.

Al aplicar el estadístico de Dunnett, no se observan diferencias significativas en los valores promedio de densidad fitoplanctónica entre las distintas concentraciones y el control (Tabla 2).

Las densidades zooplanctónicas en función del tiempo no son estadísticamente significativas. La interacción entre concentración*tiempo, no da significativo ($p = 0,846$), lo cual indicaría que dicha interacción no tiene un efecto significativo sobre la densidad.

Se realizó una prueba post-hoc aplicando t de Dunnett, el cual contrasta el control con las distintas concentraciones (Tabla 3).

En la comparación de medias entre el control y la concentración C1 no existieron diferencias significativas ($p = 0,866$) al igual que para el control y la concentración C2 ($p = 0,72$) aunque sí existieron entre el control y la concentración C3 ($p = 0,02$), lo cual podría indicar el efecto del plaguicida a mayor concentración sobre el zooplancton.

La mayor abundancia de zooplancton se observó en el control y en concentración C1. A las concentraciones más altas C2 y C3, la abundancia disminuye; es decir que a medida que aumenta la concentración de Trifloxitrobina, los valores de densidad de zooplancton disminuyen.

Microcosmos	pH	Conductividad (uS/cm)	Oxígeno (mg/L)	Temperatura (°C)	Amonio (mg/L)	Fosfatos (mg/L)
Co	7,92	186	8,31	13	<0,3	2,3
C1	7,94	187	8,42	13	<0,3	1,2
C2	7,95	187	8,34	13	No detecta	0,9
C3	7,9	183	8,30	13	No detecta	1,3

Tabla 1. Promedios de variables físico-químicas en los microcosmos con diferentes concentraciones de trifloxitrobina.

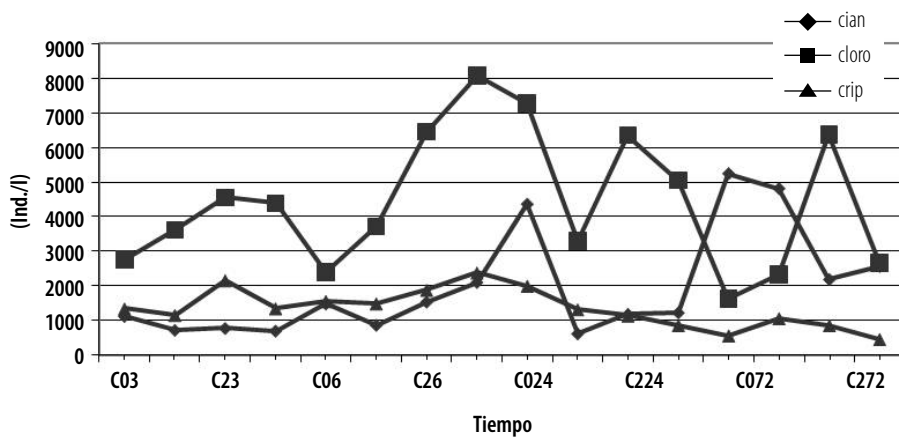


Figura 1. Abundancia de las clases a lo largo de la experiencia. C03 = control hora 3; C13 = concentración 1 a la hora 3; C23= concentración 2 a la hora 3; C33 = concentración 3 a la hora 3, hasta la hora 72. Cian = Cianobacterias, Cloro = Clorofitas, Crip = Criptofitas

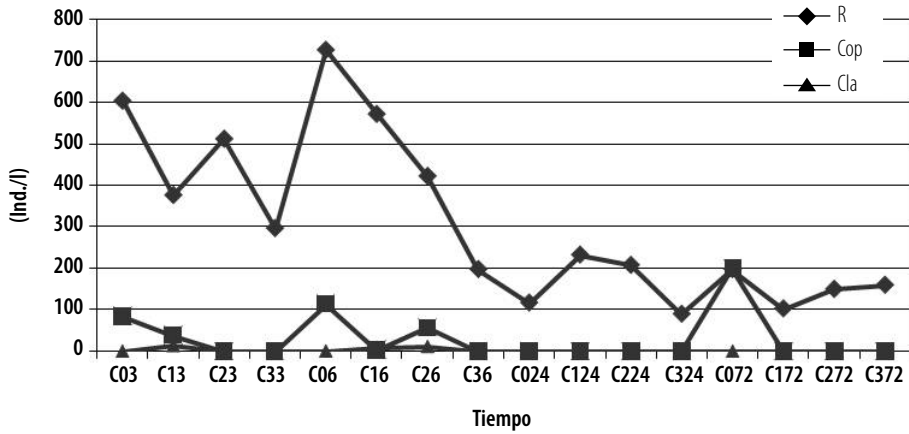


Figura 2. Abundancia de los grupos del zooplancton a lo largo de la experiencia. C03 = control hora 3; C13 = concentración 1 a la hora 3; C23= concentración 2 a la hora 3; C33 = concentración 3 a la hora 3 y así sucesivamente en todos los controles y concentraciones hasta la hora 72. R = Rotíferos, Cop = Copépodos, Cla = Cladóceros

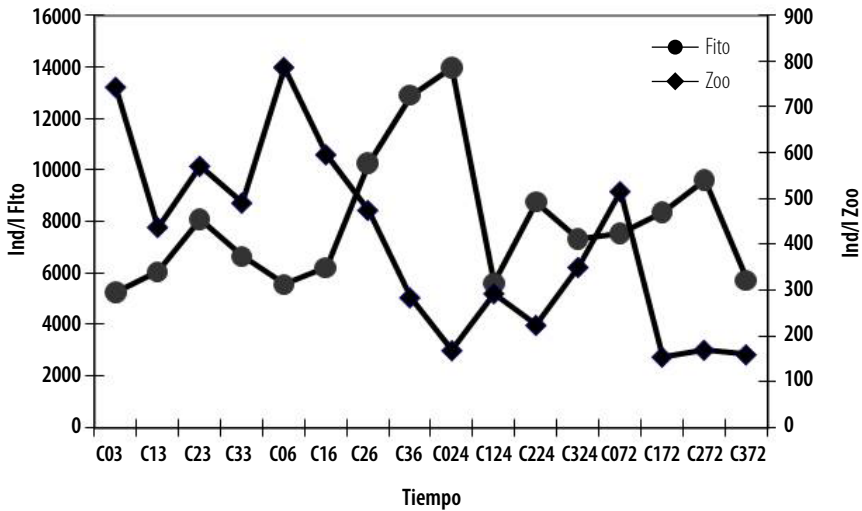


Figura 3. Abundancia de organismos planctónicos a lo largo de la experiencia. C03 = control hora 3; C13 = concentración 1 a la hora 3; C23= concentración 2 a la hora 3; C33 = concentración 3 a la hora 3, hasta la hora 72. Fito = Fitoplancton, Zoo = Zooplancton

(I) Tratam	(J) Tratam	Diferencia de medias (I-J)	P	Intervalo de confianza 95%	
				Límite inferior	Límite superior
C1	Control	-1725,00	0,953	-6007,93	8519,68
C2	Control	895,25	0,555	-3387,68	1068,11
C3	Control	-126,25	0,773	-4409,18	1330,51

Tabla 2. Estadístico t – Dunnett aplicado a los valores promedios de densidad fitoplanctónica. Control vs Concentraciones.

(I) Tratam	(J) Tratam	Diferencia de medias (I-J)	P	Intervalo de confianza 95%	
				Límite inferior	Límite superior
C1	Control	-55,0000	0,866	-282,5866	172,5866
C2	Control	-210,6250	0,072	-438,2116	16,9616
C3	Control	-263,1250	0,022	-490,7116	-35,5384

Tabla 3. Estadístico t – Dunnett aplicado a los valores promedios de densidad zooplanctónica. Control vs Concentraciones.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El fungicida no tuvo un efecto directo sobre el fitoplancton. Los cambios que se produjeron en las densidades algales pueden atribuirse a un efecto indirecto causado por el impacto trófico del zooplancton (Lynn *et al.*, 2007; Rosa *et al.*, 2007). El mayor impacto del fungicida sobre el zooplancton se observó a la mayor concentración del mismo, con una disminución de la abundancia y diferencias significativas con respecto al control. El macrozooplancton (copépodos y cladóceros) a la concentración 0,1 (C2) y 1 (C3) mg/L a la hora 3 estuvieron ausentes. En otros organismos acuáticos, los efectos tóxicos de TFS por ejemplo en renacuajos de *Bufo cognatus* se observó que la concentración letal (CL50 en 96 hs) es de 0,004 mg/L (Belden *et al.*, 2010). En la trucha *Oncorhynchus mykiss* osciló entre el 0,0015 y 0,0078 mg/L. Para el crustáceo marino *Mysidopsis bahia* la concentración efectiva (CE50) varió 0,009 a 0,0034 mg/L (APVMA, 2000). Por otra parte, los

datos de toxicidad sugieren que TFS no es igualmente tóxico para todas las especies. Junges *et al.*, (2012) estudió cuatro especies de renacuajos y encontró que algunas especies eran más sensibles que otras; lo que indica que las especies tienen sensibilidad diferencial a TFS. En nuestro estudio, el macrozooplancton fue más sensible que los Rotíferos y que el fitoplancton.

Es conocido que la presencia de agroquímicos en el agua provoca cambios en la estructura de tamaño de los planctones. El macrozooplancton reduce su número o desaparece y los rotíferos, salvo pocas excepciones, serían los más tolerantes (José de Paggi, 1997; Chang *et al.*, 2005; Fernández *et al.*, 2007). La remoción de los organismos de tallas mayores por acción del plaguicida, pudo haber generado la independencia entre la abundancia de fitoplancton y la del zooplancton, ya que al ser eliminados los consumidores de tallas mayores (cladóceros y copépodos), se ejerció una menor presión sobre la comunidad del fitoplancton (Merayo & González, 2010). Se ha indicado que los contaminantes pueden reducir el riesgo de depredación, cuando el depredador es más sensible que la presa (Mills & Semlitsch, 2004). Los rotíferos fueron los más resistentes, usualmente esta comunidad no exhibe un patrón regular a los cambios ambientales (Matsumura–Tundisi *et al.*, 1990) y geográficamente representan el grupo más extendido por tener estrategias como la reproducción partenogenética, ciclo de vida corto, tamaño pequeño y la posibilidad de colonizar rápidamente ambientes perturbados (Merayo & González, 2010). En tal sentido, los efectos de distintas sustancias químicas sobre los organismos zooplanctónicos provocan un efecto *top-down* en los ecosistemas, afectando indirectamente al fitoplancton en su abundancia total o en las estructuras de clases y tamaño (Takahachi *et al.*, 2007; Yeon & Adams, 2007). El conocimiento de especies sensibles a TFS, nos ayudará a anticipar los efectos indirectos que pueden ocurrir cascada arriba y abajo de la cadena trófica (Boone *et al.*, 2007).

En lo referente a la composición por tamaño en general predominaron las especies de tallas pequeñas, bastante menor de 37 μm . La clase Clorofitas aportó el mayor número de especies, en especial clorococales, con una sostenida presencia a lo largo de la experiencia. De este modo el zooplancton contó con recursos disponibles probablemente debido a que el rango de tallas de las especies fitoplanctónicas resultó acorde a sus preferencias alimentarias (DeMott, 1989).

No es frecuente detectar Trifloxistrobin (TFS) en hábitats acuáticos (Battaglin *et al.*, 2010), ya que se degrada rápidamente en agua y el suelo, con una vida media de 16,8–31,2 hs (Banerjee *et al.*, 2006). Sin embargo, su principal metabolito [(E, E)-trifloxistrobina ácido] es soluble en agua, por lo que los organismos acuáticos pueden estar en riesgo de exposición a estos productos a través de la deriva, directa pulverización, el transporte atmosférico, la escorrentía, y el movimiento de los animales través de los campos durante la aplicación (Belden *et al.*, 2010).

El modo de acción de fungicidas no es específico y la sensibilidad de los organismos no blancos (peces, invertebrados y los productores primarios) a fungicidas, afectan la producción de energía (por ejemplo, las estrobilurinas) siendo la respuesta aproximadamente la misma entre los grupos taxonómicos (Maltby *et al.*, 2009).

Puede ser interesante para futuras investigaciones, los estudios sobre el efecto de los fungicidas en el medio ambiente y de cómo estos plaguicidas pueden afectar a las especies en condiciones de campo.

Debido al avance de las fronteras agropecuarias y al uso indiscriminado de biocidas, el presente trabajo contribuye a determinar el impacto de las nuevas formulaciones a base de estrobilurinas y triazoles (TFS). Estas acciones permitirían contar con información actualizada sobre el efecto de estos nuevos productos, facilitando propuestas de manejo; lo que aportará información para pautas de protección a los recursos hídricos, la fauna y flora asociadas a ellos.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo experimental y de laboratorio se realizó en la Facultad de Humanidades y Ciencias (UNL). Este trabajo se llevó a cabo dentro del marco del Proyecto CAI+D 2009, 14–80 de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (UNL). Agradecimientos al Lic. Andrés Maximiliano Attademo por la lectura del manuscrito.

Recibido | Received: 03 de mayo de 2012

Aceptado | Accepted: 07 de septiembre de 2012

REFERENCIAS

- Allende, L. & H. Pizarro.** 2006. Top-down control on plankton components in an Antarctic pond: experimental approach to the study of low-complexity food webs. *Rev. Polar Biology*. 29: 10: 893–901.
- APHA (American Public Health Association).** 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, APHA, AWWA & WEF, 21st Edition. Washington DC.
- Attademo, A., C. Junges, R. Lajmanovich, P. Pelzer, M. Cabagna & E.A. Lorenzatti.** 2011. Effect of the fungicide trifloxystrobin on b-esterase activity in tadpoles of *Scinax nasicus* (anphibia anura). Second Joint Meeting of the Biology Societies from Argentina. San Juan. 2011. *Abstract Biocell* 35(3).
- Banerjee, K., A.P. Ligon & M. Spitteller.** 2006. Environmental fate of trifloxystrobin in soils of different geographical origins and photolytic degradation in water. *Agric. Food Chem.* 54: 9479–9487.
- BASF Corporation.** 2008. Headline fungicide label. NVA 2008-04-088-0262. Research Triangle Park, NC.
- Battaglin, W.A., M.W. Sandstrom, K.M. Kuivila, D.W. Kolpi & M.T. Meyer.** 2010. Occurrence of azoxystrobin, propiconazole, and selected other fungicides in US. *Water Air Soil Pollut.* 218: 307–322.
- Bayer Crop Science.** 2008. Stratego fungicide label. EPA Reg. No. 264–799. Research Triangle, NC.
- Belden, J.B., S.T. McMurry, L.M. Smith & P. Reilley.** 2010. Acute toxicity of fungicide formulations to amphibians at environmental relevant concentrations. *Environ. Toxicol. Chem.* 29: 2477–2480.
- CASAFE.** 2007. Guía de Productos Fitosanitarios para la República Argentina. Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes. Tomo II. Buenos Aires, Argentina.
- Chang, K.H., M. Sakamoto & T. Hanazato.** 2005. Impact of pesticide application on zooplankton communities with different densities of invertebrate predators: An experimental analysis using small-scale mesocosms. *Aquatic Toxicol.* 72: 373–382.
- Deb, D., B.A. Engel, J. Harbor, L. Hahn, K.J. Lim & T. Zhai.** 2010. Investigation potential water quality impacts of fungicides used to combat soybean rust in Indiana. *Water Air Soil Pollut* 207: 273–288.
- De Mott, W.R.** 1989. The role of competition in zooplankton succession. In *Plankton Ecology* (U. Sommer, Ed.) Brock Springer Series in Contemporary Bioscience. Springer-Verlag, Berlin. 195–252 pp.
- Debjani, D., B.A. Engel, J. Harbor, L. Hahn, K.J. Lim & T. Zhai.** 2009. Investigating potential water quality impacts of fungicides used to combat soybean rust in Indiana. *Water Air Soil Pollut.* 207: 273–288.
- Dunnnett, C.W.** 1955. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *J. Am. Stat. Assoc.* 70: 574–583.
- Encina, F. & O. Díaz.** 2000. Contaminación, estimación del riesgo ecológico y protección asociado de las algas bentónicas. *Universidad Católica de Temuco-Universidad de Chile.* 13 pp.
- Fernández, V.C, L. Moraña & S.B. José de Paggi.** 2007. Evaluación de los efectos de la cipermetrina (Piretroide) sobre el plancton en microcosmos. *FABI-CIB* 11:11–27.
- Gisi, U., K.M. Chin, G. Knapova, R. Küng Färber, U. Mohr, S. Parisi, H. Sierotzki & U. Steinfeld.** 2000. Recent developments in elucidating modes of resistance to phenylamide, DMI and strobilurin fungicides. *Crop Prot.* 19: 863–872.
- Hooser, E., B. Belden J.B., Smith L.M. & S.T. McMurry.** 2012. Acute toxicity of three strobilurin fungicide formulations and their active ingredients to tadpoles. Accepted: 27 March 2012 Springer Science+Business Media, LLC 2012. *Ecotoxicology.* 21:1458–1464
- Jones, J.G.** 1979. A guide to methods for estimating microbial numbers and biomass in freshwaters. *Scient. Pubs. Freshwat. Biol. Ass.* 39: 1–107.

- José de Paggi, S.B.** 1997. Efectos de los pesticidas sobre el zooplancton de las aguas continentales: análisis revisivo. *FABICIB* 1:103–113.
- José de Paggi, S.B. & M. Devercelli.** 2011. Land use and basin characteristics determine the composition and abundance of the microzooplankton. *Water Air Soil Pollut* 218: 93–108.
- Junges, C. M., P.M. Peltzer, R.C. Lajmanovich, A.M. Attademo, M.C. Cabagna Zenklusen & A. Basso.** 2012. Toxicity of the fungicide trifloxystrobin on tadpoles and its effect on fish–tadpole interaction. *Chemosphere* 87: 1348–1354.
- Lynn, S.G., D.J. Price, W.J. Birge, & S.S. Kilham.** 2007. Effect of nutrient availability on the uptake of PCB congener 2,2',6,6'-tetrachlorobiphenyl by a diatom (*Stephanodiscus minutulus*) and transfer to a zooplankton (*Daphnia pulex*). *Aquatic Toxicol* 83(1): 24–32.
- Maltby, L., T.C.M. Brock & P.J. Van den Brink.** 2009. Fungicide risk assessment for aquatic ecosystems: importance of interspecific variation, toxic mode of action, and exposure regime. *Environ. Sci. Technol.* 43:7556–7563.
- Martínez, I & M. Guzmán.** 2011. Guía básica para la preparación de mezclas, uso de fungicidas utilizados en el combate de la Sigatoka Negra. Dirección de Investigaciones Sección de Fitopatología. Hoja divulgativa nº 3–2011.
- Matsumura–Tundisi, T., S.N. Leitão, L.S. Aguiar & J. Miyahara.** 1990. Eutrofização da represa de Barra Bonita: Estrutura e organização da comunidade de Rotífera. *Rev. Brasil. Biol.* 50: 923–935.
- Matta, M.B., D. McKinnie, E Barraza & J. Sericano.** 2002. Hurricane Mitch reconstruction/Gulf of Fonseca contaminant survey and assessment. Seattle: Office of Response and Restoration, NOAA. Ocean Service 46 pp.
- McQueen, D.J. & J.R. Post.** 1988. Cascading trophic interactions: uncoupling at the zooplankton–phytoplankton link. *Hydrobiol.* 159: 277–296.
- Merayo, S. & E.J. González.** 2010. Variaciones de abundancia y biomasa del zooplancton en un embalse tropical oligotrófico del norte de Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 58 (2): 603–619
- Mills, E.L. & Forney, J.L.** 1988. Trophic dynamics and development of freshwater pelagic food webs. In: Carpenter, S.R. (Ed.), *Complex Interactions in Lake Communities*, Springer-Verlag, New York, pp. 11–30.
- Mills, N.E. & R.D. Semlitsch.** 2004. Competition and predation mediate the indirect effects of an insecticide on southern leopard frogs. *Ecol. Appl.* 14, 1041–1054.
- Ochoa–Acuña, H.G., W. Bialkowski, G. Yale & L. Hahn.** 2009. Toxicity of soybean rust fungicides to freshwater algae and *Daphnia magna*. *Ecotoxicology* 18: 440–446.
- O'Connell J. L., L.A. Johnson, L.M. Smith, S.T. McMurry & D.A. Haukos.** 2012. Influence of land–use and conservation programs on wetland plant communities of the semiarid United States Great Plains. *Biol. Conserv.* 146: 108–115.
- Reeves, M.K., M. Perdue, G.D. Blakemore, D.J. Rinnella & M. Holyoak.** 2011. Twice as easy to catch? A toxicant and a predator cue cause additive reductions in larval amphibian activity. *Ecosphere* 2: 1–20.
- Relyea, R.A. & K. Edwards.** 2010. What doesn't kill you makes you sluggish: How sublethal pesticides alter predator–prey interactions. *Copeia* 4: 558–567.
- Rosa, E., C. Barata, J. Damásio, M.P. Bosch, & A. Guerrero.** 2007. Aquatic ecotoxicity of a pheromonal antagonist in *Daphnia magna* and *Desmodesmus subspicatus*. *Aquatic Toxicol* 79(3): 269–303.
- Schindler, D.** 1987. Detecting ecosystem responses to anthropogenic stress. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44(1): 6–25.

- Sconyers, L.E., R.C. Kemerait, J. Brock, D.V. Phillips, P.H. Jost, E.J. Sikora, A. Gutiérrez-Estrada, J.D. Mueller, J.J. Marois, D.L. Wright & C.L. Harmon.** 2006. Asian Soybean Rust Development in 2005: A perspective from the southeastern United States. APSnet Feature Story. <<http://apsnet.org/online/feature/sbr/>>. 626
- Shaner G.E., C. Alexander, E. Christmas, S.P. Conley, C.L. Dobbins, C.A. Hurt, G.F. Patrick, K.K. Rane & G.E. Ruhl.** 2005. Preparing for Asian soybean rust. Purdue Extension. <http://www.extension.purdue.edu/extmedia/ID/ID-324.pdf>
- Shannon, C.E. & W. Weaver.** 1949. The mathematical Theory of communication. *The University of Illinois Press. Urbana*. 177 pp.
- Sillon, M., A. Ivancovich, J. Albrecht, E. Weber, J. Borsarelli, V. Gauchat & D. Escobar.** 2005. Soybean Rust Management using Fungicides in Central Areas of Santa Fe Province (Argentina) in Crop Season 2004/2005. National Soybean Rust Symposium Nashville, TN, US. Available on: http://www.plantmanagementnetwork.org/info_center/topic/soybeanrust/symposium/posters/
- Smith L.M., N.H. Euliss, D.A. Wilcox & M.M. Brinson.** 2008. Application of a Geomorphic and Temporal Perspective to Wetland Management in North America. *Wetlands* 28:563–577.
- Syngenta Crop Protection.** 2009. Quilt fungicide label. EPA Reg. No. 100–1178. SC P 1178A–L6D 0209. Greensboro, NC.
- Takahashi, Y., T. Houjyo, T. Kohjimoto, Y. Takagi, K. Mori, T. Muraoka, H. Annoh, K. Ogiyama, I. Funaki, K. Tanaka, Y. Wada & T. Fujita.** 2007. Impact of pretilachlor herbicide and pyridaphenthion insecticide on aquatic organisms in model streams. *Ecotoxicol. Environm. Safety* 67(2): 227–239.
- USGS.** 2001. Environmental Studies of the World Trade Center area after the September 11, 2001 attack.
- Utermöhl, H.** 1958. Zur Vervollkennung der quantitativen phytoplankton methodik. *Mitt. Int. Verein. Limnol.* 9: 1–38.
- Vallone S., L. Salines, L. Gadban & B. Masiero.** 2003. Comparación de la acción de una estrobirulina y un bencimidazol en distintos estadios fenológicos para el control de enfermedades de fin de ciclo. Campaña 2002/2003. Actualización 2003. *Información para la extensión NA 81*. INTA Marcos Juárez
- Vaqué, D., S. Agustí & C.M. Duarte.** 2004. Response of bacterial grazing rates to experimental manipulation of an Antarctic coastal nanoflagellate community. *Aquat. Microb. Ecol.* 36: 41–52.
- Viglizzo, E.F., E.G. Jobbágy, L. Carreño, F.C. Frank, R. Aragón, L. De Oro & V. Salvador.** 2009. The dynamics of cultivation and floods in arable lands of Central Argentina. *Hydrol. Earth Syst. Sc.* 13: 491–502.
- Wiggers, L.** 1999. Pesticider i vandløb, kilder og søer i Arhus Amt. Arhus Amt, *Natur og Miljøkontoret*, Arhus amts trykkeri. In Danish.
- Yeom, D.H. & S.M. Adams.** 2007. Assessing effects of stress across levels of biological organization using an aquatic ecosystem health index. *Ecotoxicol Environm Safety.* 67(2): 287–295.