

Rev. Mus. Argentino Cienc. Nat., n.s.
20(2): 239-250, 2018
ISSN 1514-5158 (impresa)
ISSN 1853-0400 (en línea)

Evaluación del impacto de las actividades rurales en la calidad del agua de la microcuenca del arroyo Burgos (San Pedro, Provincia de Buenos Aires)

Anahí MAGDALENO^{1*}, Marta PAZ¹, Julián MANTOVANO¹, Laura de CABO², Sabrina BOLLANI¹, Celio CHAGAS³, Lidia NÚÑEZ¹, Carina TORNELLO¹ & Juan MORETTON¹

¹ Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Salud Pública e Higiene Ambiental, Junin 956, 4° Piso, C1113AAC, Buenos Aires, Argentina. ²Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (MACN -CONICET). Av. Ángel Gallardo 470, CP 1405, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. ³Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Cátedra de Manejo y Conservación de Suelos, Av. San Martín 4453, Buenos Aires, Argentina. * Autor a quien dirigir correspondencia: amagda@ffyb.uba.ar

Abstract: Water quality assessment of the Burgos stream micro-basin (San Pedro, Buenos Aires Province) impacted by rural activities. The Pampas region (Argentina) have suffered profound changes in the agroecosystems as a result of many pollutants generated by agricultural and livestock activities. The objective of this study was to evaluate the water quality of a microbasin belonging to the Burgos stream (San Pedro, Province of Buenos Aires) through the application of water quality indexes (ICAs), faecal contamination indicators and algae bioassays. Three samplings were carried out in 2015 and six sampling sites were selected, four along the tributary stream of order 1, and two in the stream. Two ICAs were used: ICA₁, whose variables were temperature, OD and NH₄⁺, and ICA₂, whose variables were pH, OD, temperature, nitrates, PRS and faecal coliforms. According to the ICA₁, water quality ranged from slight to very high pollution, and according to the ICA₂, from regular to dreadful quality. The concentration of faecal indicators microorganisms was similar in all the samples, while significant differences were observed in the concentrations of *Salmonella* spp. According to the correlation analysis, precipitation would participate in the transport of coliform microorganisms to surface waters through surface runoff processes. On the other hand, the inhibition of algal growth would not be related to glyphosate, whose concentrations were between 0.35 and 13.57 µg/L. The results suggest that the application of different indicators could be a very useful tool to evaluate the environmental quality of surface waters from the Pampas plain, in particular the use of indexes including coliform microorganisms in the calculation equation.

Key words: Agroecosystems, Water Quality Indices, enterococci, faecal coliforms, *Salmonella* spp, algal bioassays

Resumen: En la región Pampeana (Argentina) se han producido profundos cambios en los agroecosistemas como resultado de los diversos contaminantes generados por las actividades agrícolas y ganaderas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad de las aguas de la microcuenca del arroyo Burgos (San Pedro, Provincia de Buenos Aires) a través de la aplicación de índices de calidad de aguas (ICAs), indicadores de contaminación fecal y bioensayos con algas. Se llevaron a cabo tres muestreos en el año 2015 y se seleccionaron seis sitios de muestreo, cuatro a lo largo de un arroyo tributario de orden 1, y dos en el arroyo Burgos. Se utilizaron dos índices de calidad ambiental: el ICA₁, cuyas variables fueron temperatura, OD y NH₄⁺, y el ICA₂, cuyas variables fueron pH, OD, temperatura, nitratos, PRS y coliformes fecales. Según el ICA₁, la calidad del agua osciló entre polución leve a muy elevada, y según el ICA₂, fue de regular a pésima. La concentración de microorganismos indicadores de contaminación fecal fue similar en todas las muestras, mientras que se observaron diferencias significativas en las concentraciones de *Salmonella* spp. Según el análisis de correlación, las precipitaciones participarían en el transporte de microorganismos coliformes a las aguas superficiales a través de procesos de escorrentía superficial. Por otra parte, la inhibición del crecimiento algal no estaría relacionada con el glifosato, cuyas concentraciones fueron de entre 0,35 y 13,57 µg/L. Los resultados sugieren que la aplicación de diferentes indicadores podría ser una herramienta útil para evaluar la calidad ambiental de aguas superficiales de la llanura pampeana, en particular los índices que incluyan la concentración de microorganismos coliformes en su ecuación.

Palabras clave: Agroecosistemas, Índices de Calidad de Aguas, enterococos, coliformes fecales, *Salmonella* spp, bioensayos algales

INTRODUCCIÓN

En la región pampeana (Argentina), que concentra más del 50% de la población del país (21 millones de habitantes), su economía se basa principalmente en la producción e industrialización agrícola-ganadera. Actualmente, los cultivos de mayor importancia corresponden a sorgo, trigo, maíz, cebada, girasol y soja, los cuales representan más del 80% de la producción total de Argentina. En los últimos 40 años se registraron profundos cambios en los agrosistemas pampeanos debidos al crecimiento del sector agrícola y a la intensificación del sistema productivo ganadero (Viglizzo *et al.*, 2010). Las actividades agrícolas han desarrollado nuevas tecnologías debido en gran parte a la demanda mundial de alimentos. Sin embargo, estas tecnologías dependen del uso de fertilizantes y pesticidas, los cuales una vez incorporados al suelo, pueden llegar a las aguas superficiales y subterráneas a través de procesos de escorrentía, drenaje, lixiviación y deriva aérea (De Gerónimo *et al.*, 2011). El cultivo de soja lideró la incorporación y expansión de variedades transgénicas resistentes a glifosato, de manera que el uso de este herbicida aumentó tanto en frecuencia como intensidad en los últimos años (Aparicio *et al.*, 2013), sin tener en cuenta los efectos perjudiciales sobre los organismos de ambientes acuáticos (Romero *et al.*, 2011).

Simultáneamente al avance de la agricultura, en la zona de la Pampa ondulada se produjo una marcada intensificación de la actividad ganadera basada en la utilización de superficies reducidas de suelo con una alta densidad de animales sometidos a engorde intensivo o "feedlots" (Chagas *et al.*, 2014). Estos sistemas, utilizados principalmente para la cría de ganado vacuno, y otras actividades industriales, tales como la producción de huevos, cría de aves y ganado porcino, generan altas cantidades de heces, excretas y materia orgánica, que llegan a las aguas superficiales como efluentes puntuales (Hatano *et al.*, 2005). Junto con las heces, son eliminadas una alta cantidad de bacterias coliformes (Chagas *et al.*, 2010, Kraemer *et al.*, 2013), muchas de ellas patógenas, tales como *Escherichia coli* O157 (Sargeant *et al.*, 2001) y *Campylobacter jejuni* (Besser *et al.*, 2005). Asimismo, ciertos contaminantes traza, tales como antibióticos, hormonas, ectoparásitos, metales pesados y dioxinas, pueden ser vertidos a través de los efluentes agroindustriales a las aguas superficiales e incluso pueden contaminar las aguas subterráneas (Khan *et al.*, 2008).

Todos estos contaminantes generan efectos adversos sobre los ecosistemas y representan un riesgo potencial para la salud humana. En este sentido, evaluar la calidad del agua superficial desde el punto de vista de los distintos usos y de la vida acuática, a través de la utilización de índices, resulta fundamental para analizar cambios a través del tiempo y poder comparar diferentes tramos de un curso de agua (Brown *et al.*, 1970, Branco, 1984). Los índices de calidad del agua son instrumentos matemáticos que transforman una cierta cantidad de datos en un solo número (por ejemplo, un número del 1 al 10), que describe la calidad del agua en términos cualitativos simples (por ejemplo, calidad mala, regular, buena, etc.), de manera de poder clasificar un cuerpo de agua o un tramo del mismo que resulte comprensible tanto para la comunidad científica como para el público en general (Ott, 1978; Pesce & Wunderlin, 2000; Nasirian, 2007).

En nuestra región, Berón (1984) ha desarrollado el Índice de Calidad de Agua (ICA) basado en variables ambientales físicas (temperatura), químicas (cloruros, oxígeno disuelto y amonio) y biológicas (demanda bioquímica de oxígeno) orientado a la contaminación cloacal. El mismo ha sido aplicado por varios autores para clasificar ríos y arroyos de la provincia de Buenos Aires (Magdaleno *et al.*, 2001, García & Fabrizio de Iorio, 2005, Basílico *et al.*, 2015). Otros índices, utilizados en otros países, incluyen otras variables, tales como las variaciones en la cantidad de coliformes fecales (Brown *et al.*, 1970). La cuantificación de microorganismos indicadores de contaminación fecal, como *Escherichia coli*, permite obtener una mayor aproximación a este tipo de contaminación, que es relevante para la salud pública debido a que ciertos microorganismos de este grupo pueden ser patógenos para el hombre y animales de cría.

Otra forma de evaluar la calidad del agua, desde el punto de vista de la protección de la vida acuática, es mediante la utilización de bioensayos estandarizados monoespecíficos, que incluyen organismos representativos de las distintas cadenas tróficas (USEPA, 2002, Environmental Canada, 2007, ISO, 2004). Dado que los organismos vivos en los ambientes acuáticos se encuentran expuestos simultáneamente a una mezcla compleja de sustancias, estos ensayos constituyen una herramienta esencial para dar respuesta a los niveles de toxicidad debidos a las interacciones que pueden ocurrir entre dichas sustancias (Altenburger *et al.*, 2004). Las algas fotosintéticas, en particular, cumplen un rol crucial en los

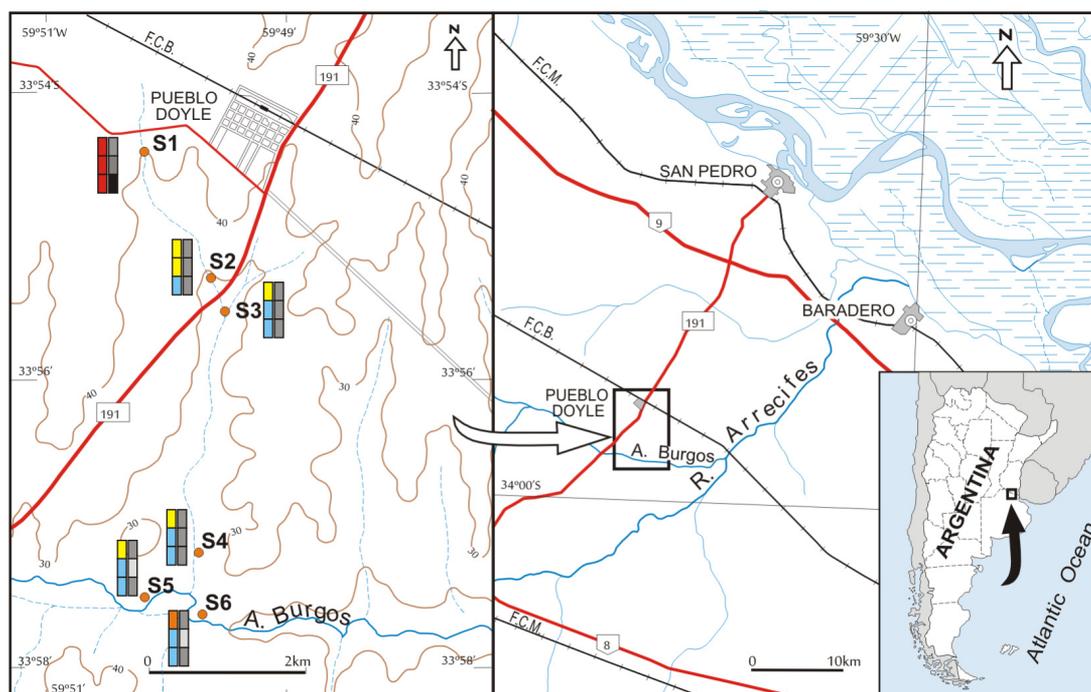


Fig. 1: Localización de los sitios de muestreo en el arroyo Burgos (Provincia de Buenos Aires). En cada sitio se indica la calidad del agua para cada mes en color, según el ICA1, y en escalas de grises, según el ICA2. Contaminación muy elevada: rojo, elevada: naranja, moderada: amarillo y leve: celeste, según ICA1. Calidad de agua pésima: negro, mala: gris y regular: blanco, según ICA2.

ecosistemas acuáticos debido a que representan la base de las cadenas tróficas y contribuyen a la producción de oxígeno. Estos organismos también muestran una alta sensibilidad a distintos compuestos, siendo utilizados como modelos biológicos para la evaluación de la toxicidad de contaminantes *in vivo* (OECD, 2006.). Por otra parte, el ensayo con algas permite medir la inhibición o estimulación del crecimiento debido tanto a la presencia de sustancias tóxicas como a una elevada concentración de nutrientes, respectivamente. La especie de microalga más ampliamente utilizada a nivel mundial es el alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata*.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la actividad agrícola ganadera sobre la calidad del agua de un arroyo pampeano a través de la aplicación de distintas técnicas. Para cumplimentar el objetivo se realizó el estudio de los ICA clásicos asociados con determinaciones físicas, químicas y microbiológicas, y bioensayos con el alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata*. También se consideró la influencia que sobre los parámetros analizados generan las variables climáticas, en particular las precipitaciones, importantes para la circulación de los contaminantes en la microcuenca utilizada como modelo.

MÉTODOS

Área de estudio

El área de estudio abarca una zona de microcuencas primarias de uso agropecuario que desaguan en el arroyo Burgos (GPS: 33°54'13.6"S 59°50'12.1"W), que pertenece a la cuenca del río Arrecifes, ubicadas en los partidos de San Pedro y Arrecifes al norte de la provincia de Buenos Aires (Argentina). El río Arrecifes desemboca en el río Paraná. Se desarrolla en su totalidad dentro de la Pampa Ondulada, cuyos ríos y arroyos presentan cauces bien definidos y redes de desagüe claramente desarrolladas. El relieve de esta región incluye planicies con suaves lomadas, con pendientes regionales de 1 m/km o levemente inferiores (Sala *et al.*, 1983). Los suelos de la región se han desarrollado en el loess pampeano y están caracterizados por una textura limosa y una composición mineralógica rica en nutrientes. En las zonas bajas cercanas a los arroyos, aparecen materiales aluvionales jóvenes y a veces suelos con engrosamiento de su horizonte superficial por el arrastre de partículas desde las partes más altas del relieve (Manassero *et al.*, 2004). Estos sectores se dedican a la ganadería extensiva.

El clima de la región es templado húmedo con precipitaciones promedio anuales de 1055 mm correspondientes a series de datos de las últimas tres décadas, con máximos en diciembre y mínimos en julio, y temperaturas medias anuales de 15 °C, con variaciones de entre 10 °C en invierno y 20 °C en verano. Los suelos, por sus características físicas, tienen buena capacidad de retención de humedad y en los meses húmedos la erosión hídrica se ve favorecida por la alta intensidad, frecuencia y duración de las lluvias (Chagas *et al.*, 2010).

Muestreo de aguas superficiales

En 2015, se colectaron muestras de agua en seis sitios de la cuenca del arroyo Burgos: cuatro sitios (S1, S2, S3 y S4) ubicados a lo largo del arroyo principal de la microcuenca bajo estudio, y dos sitios (S5 y S6) ubicados en el arroyo Burgos, aguas arriba y aguas abajo de la descarga de ese arroyo, respectivamente (Fig. 1). El sitio S1 corresponde a la salida del efluente de un *feedlot* de ganado vacuno (con una capacidad de 15000 animales); los sitios S2 y S3, ubicados a 2,49 y 3,07 km con respecto a S1, corresponden a actividades agropecuarias consistentes en cultivos extensivos con predominio de soja y algunas instalaciones para la producción avícola intensiva, y S4, ubicado a 5,45 km con respecto a S1, corresponde a un área de ganadería extensiva. Los cuatro sitios sobre el canal tienen una profundidad promedio de 0,5 m, y los dos sitios ubicados en el arroyo Burgos tienen una profundidad promedio de 1,5 m. La superficie aproximada de toda el área e estudio es de 30 km². Se seleccionaron tres meses de muestreo teniendo en cuenta tres épocas del año con temperatura y humedad contrastantes (fin de verano, invierno y fin de primavera). Además, se tuvieron en cuenta los momentos de aplicación del herbicida glifosato en los cultivos (principalmente de soja), así como durante los periodos de descanso entre cultivos.

La temperatura, la humedad relativa y las precipitaciones durante el período de estudio fueron registradas por los equipos meteorológicos de medición del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) localizados en San Pedro (GPS: 33°41'S 59°41'W). Los valores máximos de precipitaciones se registraron en marzo y diciembre, y el más bajo en junio, mientras que la humedad relativa se mantuvo constante (entre 70 y 80%). Los valores de temperatura del aire correspondieron a las variaciones estacionales (cercanas a 25 °C en verano y entre 10 y 15 °C en invierno).

Análisis físico-químicos del agua

Las siguientes mediciones se realizaron *in situ*: temperatura del agua (°C), pH y oxígeno disuelto (OD), en todos los casos con sensores marca Hanna®. En cada sitio se tomaron muestras por triplicado, que fueron filtradas a través de filtros Whatman GF/C y transportadas al laboratorio a 4 °C para su análisis dentro de las 48 h posteriores. Se midieron los siguientes nutrientes inorgánicos: fósforo reactivo soluble (PRS), nitritos (NO₂⁻), nitratos (NO₃⁻) y amonio (NH₄⁺), de acuerdo con Mackereth *et al.* (1989) y Strickland & Parsons (1972). El glifosato y su producto de degradación, el ácido aminometilfosfónico (AMPA), se midieron según Gosciny *et al.* (2012) y Nedelkoska & Low (2004). Las muestras de agua se filtraron a través de las membranas de acetato de celulosa de 0,45 µm y posteriormente se sometieron a un proceso de derivatización con 0,2 ml de fluorenilmetiloxycarbonilo (FMOC, 0,5 mM) y 0,3 ml de tampón borato hasta un volumen final de 4 ml. Después de 30 minutos de reacción a temperatura ambiente, se filtraron a través de filtros de nylon de 0,45 µm. Las muestras resultantes se midieron por cromatografía líquida usando un kit Agilent Series 1100. Se usaron dos tipos de disolventes: KH₂PO₄ (0,002 M) en acetonitrilo al 7% (10 min), ajustado a pH = 7, y acetonitrilo (10 min).

Análisis Microbiológico

Las muestras de agua superficial se colectaron en botellas de polipropileno de 500 ml y se almacenaron en oscuridad a temperaturas de 4 °C durante un máximo de 24 h. Se realizaron recuentos de bacterias coliformes totales, *Escherichia coli* y enterococos, según APHA (2012). Se utilizaron dos métodos de recuento: 1) siembra en placa en profundidad a partir de una serie de diluciones en solución fisiológica con Tween 80 al 3% y tiosulfato de sodio al 0,1%, y 2) filtración por membrana de acetato de celulosa de 0,45 µm. Se utilizó el medio CHROMagar™ ECC para el recuento de bacterias coliformes y de *Escherichia coli*, y el medio agar selectivo para enterococos Slanetz Bartley para el recuento de enterococos. En todos los casos, las placas se incubaron durante 48 h a 35 °C.

El recuento de *Salmonella* spp se realizó mediante el método del número más probable (NMP). Se inocularon cinco tubos por dilución de Peptona buffer fosfato (100 mL, 10 mL, 1 mL), y se incubaron durante 24 h a 35 °C. Los tubos con crecimiento se inocularon en tubos con Caldo Tetrationato y Caldo Rappaport, los que luego se

incubaron durante 18 h a 35 °C y a 44 °C, respectivamente. Después de la incubación se realizaron aislamientos en placas de agar xilosa-lisina-desoxicolato (XLD), que se incubaron 48 h a 37 °C. Las colonias características se sembraron en: medio triple azúcar hierro (TSI), lisina decarboxilasa y ureasa. La identificación a *Salmonella* spp se realizó mediante el análisis API 20E.

Índices de Calidad de Aguas

Para el análisis de la calidad de aguas en cada fecha y sitio de muestreo, se utilizaron dos índices: el ICA_1 , propuesto por Berón (1984) y el ICA_2 , propuesto por Brown *et al.* (1970). Para el cálculo del ICA_1 se utilizaron las variables temperatura, OD y NH_4^+ , de acuerdo a la siguiente expresión:

$$ICA = \frac{\sum_{i=1}^n q_i}{\sum_{i=1}^n w_i}$$

Ecuación 1

donde q_i es un valor ponderado que le corresponde a cada variable según el rango en que se encuentre, que se obtiene de tablas, y w_i es el peso relativo de cada variable de acuerdo a su importancia en relación a la calidad de las aguas: temperatura=1, OD=2 y NH_4^+ =3. El valor de ICA_1 puede oscilar entre 0 y 10 según el grado de contaminación, donde un valor de 10 indica pureza original, 8 se refiere a polución leve, 6 a polución, 3 a polución elevada, y 0 polución muy elevada con calidad semejante a un cloacal crudo y séptico.

El cálculo del ICA_2 utiliza más cantidad de variables que el ICA_1 . En este trabajo se utilizaron las siguientes variables: pH, OD, temperatura, nitratos, PRS y coliformes fecales (se reemplazó esta variable por el recuento de *E. coli* en UFC/mL), de acuerdo a la siguiente expresión:

$$ICA_2 = \sum_{i=1}^n Sub_i * w_i$$

Ecuación 2

donde Sub_i es un subíndice de la variable i , que se obtiene de gráficos a partir del valor obtenido para cada variable, y w_i es el peso relativo de cada variable (Sub_i) ponderado entre 0 y 1: pH=0,12, temperatura=0,1, OD=0,17, NO_3^- =0,1, PRS=0,1, *E. coli* UFC/mL=0,15. El valor de ICA_2 puede oscilar entre 0 y 100 según la calidad del agua: 91-100 (excelente), 71-90 (buena), 51-70 (regular), 26-50 (mala) y 0-25 (pésima).

Bioensayos con algas

Los bioensayos se llevaron a cabo utilizando el alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* (Koršhikov) Hindak (anteriormente conocida como *Selenastrum capricornutum* Printz). La cepa fue obtenida de la Colección de Cultivos de Algas y Protozoos del Reino Unido (CCAP No. 278/4). El inóculo inicial de cada ensayo se cultivó exénicamente en Erlenmeyer de 125 ml conteniendo 30 ml de medio mineral Bold's Basal Medium estéril (BBM) de acuerdo a Archibald & Bold (1970). Este cultivo se mantuvo durante 5 a 7 días a 22 ± 2 °C, en agitación a 80 rpm y luz continua fluorescente blanco fría (80 μ mol/m²/s), hasta obtener un crecimiento en fase exponencial (aproximadamente $2,5 \times 10^6$ células/mL). Las muestras de agua se filtraron a través de membranas de acetato de celulosa de 0,45 μ m de tamaño de poro. Los ensayos se realizaron utilizando microplacas estériles de 96 pocillos, según Environmental Canada (2007), con un volumen por pocillo de 200 μ L y una densidad celular inicial de $2,5 \times 10^4$ células/mL. Se usaron ocho réplicas del medio de cultivo BBM para los controles y cuatro réplicas para las muestras. Las microplacas se incubaron en las condiciones antes mencionadas durante 96 h. Las densidades celulares finales se estimaron mediante absorbancia a 620 nm. Los porcentajes de inhibición del crecimiento algal (%I) con respecto al control se estimaron mediante la siguiente ecuación:

$$\%I = \frac{C - M}{C} \times 100$$

Ecuación 3

donde C es la absorbancia promedio obtenida en los controles y M es la absorbancia promedio obtenida en las muestras. Asimismo, se estimaron los porcentajes de estimulación del crecimiento algal (%S), según la siguiente ecuación:

$$\%I = \frac{M - C}{M} \times 100$$

Ecuación 4

Análisis estadísticos

Los %I y los %S en los ensayos algales se calcularon para las muestras cuya densidad algal promedio mostró diferencias significativas con respecto al control ($p < 0,05$) utilizando ANOVA de un factor. Se compararon las abundancias de cada grupo de microorganismos en los diferen-

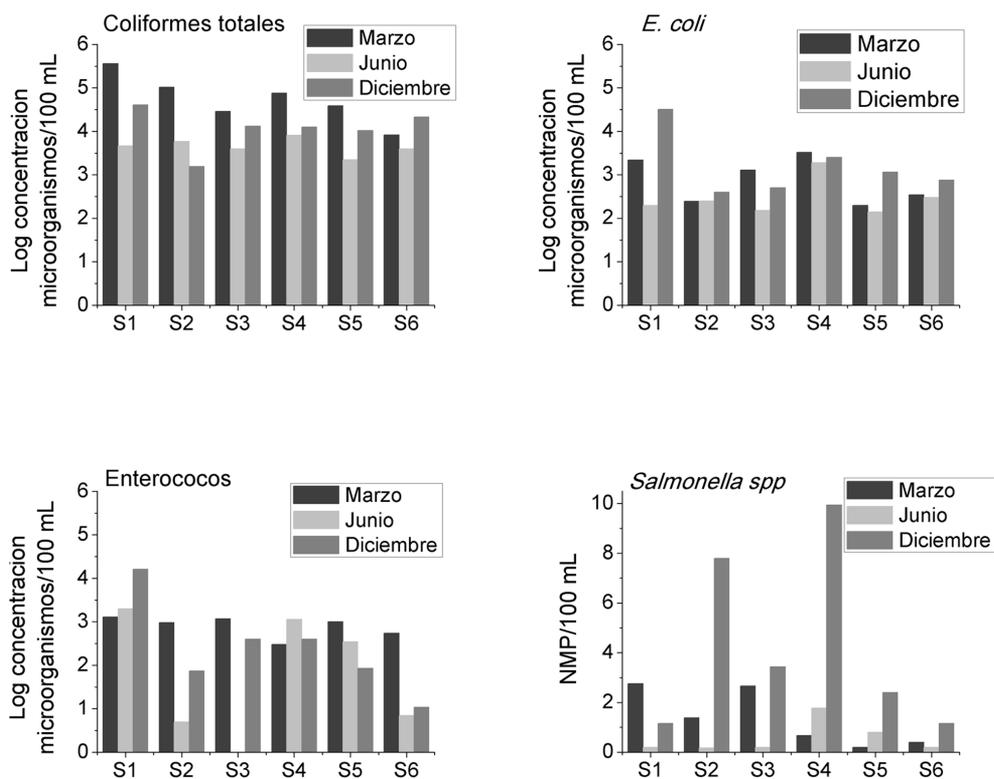


Fig. 2. Variación de la concentración de microorganismos indicadores de contaminación fecal y *Salmonella spp.* a lo largo de las estaciones y en los meses de muestreo

tes sitios y meses de muestreo a través de un ANOVA de un factor para cada variable. Para establecer las correlaciones entre las variables físicas y químicas, las variables microbiológicas, las precipitaciones, los ICAs, los %I y los %S, se aplicó la matriz de correlación de Spearman con un $p < 0,05$, mediante el programa InfoStat, versión estudiantil.

RESULTADOS

Los parámetros físicos y químicos obtenidos para las muestras de agua de los seis sitios de muestreo, en marzo, junio y diciembre se muestran en la Tabla 1. Los valores de temperatura oscilaron entre 9 °C y 29 °C, y siguieron un patrón de variación estacional. El pH fue similar para los 6 sitios del muestreo con valores cercanos a la neutralidad (entre 6,5 y 7,8), excepto en el sitio S1 en diciembre, cuyo valor fue alcalino (pH=9,5). Las mediciones de OD indicaron una suboxigenación del agua en el sitio S1 (% se saturación entre 17,2 y 29,1), mientras que en el resto de los sitios osciló entre 47,9 y 117,1 (Tabla 1). Por otro lado, los valores más altos de NH_4^+

(entre 7,89 y 13,5 mg/L) y PRS (entre 9,91 y 14,8 mg/L) se registraron en el sitio S1, mientras que las concentraciones de estas variables fueron considerablemente más bajas en el resto de los sitios (NH_4^+ : 0,00-0,44 mg/L) y PRS 0,08 y 3,76 mg/L). Las concentraciones de glifosato que se detectaron en marzo y diciembre oscilaron entre 0,35 y 5,57 $\mu\text{g/L}$ y entre 2,38 y 13,57 $\mu\text{g/L}$, respectivamente (Tabla 1). Por otro lado, se hallaron concentraciones de AMPA entre 0,82 y 9,75 $\mu\text{g/L}$.

En todas las muestras se encontraron los tres microorganismos indicadores de contaminación fecal: coliformes totales, *E. coli* y enterococos, en concentraciones que oscilaron entre 3,6 y 5,6; 2,2 y 4,5, y 0,7 y 4,2, respectivamente, expresados en logaritmo de la concentración en 100 mL (Fig. 2). Teniendo en cuenta las concentraciones medias para cada sitio (expresados en órdenes logarítmicos en 100 mL), en S1 se registraron los valores más altos: coliformes totales = 4,6; *E. coli* = 3,4 y enterococos = 3,5. En el trayecto del canal (sitios S2, S3 y S4) se observaron valores medios de coliformes totales = 4,1, de *E. coli* = 2,8 y de enterococos = 2,2 órdenes logarítmicos en 100 mL. Por otra parte, en el Arroyo Burgos (sitios S5 y

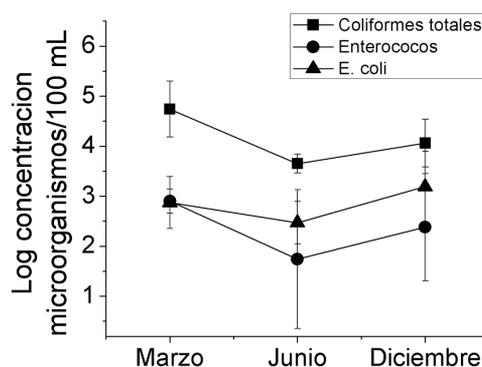


Fig. 3. Variación de las concentraciones medias de microorganismos indicadores de contaminación fecal en los meses de muestreo

S6) se observaron valores medios de coliformes totales = 4,0, de *E. coli* = 2,6 y de enterococos 2,0 órdenes logarítmicos en 100 mL. Si bien en S1 las concentraciones de los tres indicadores fueron las más elevadas, no hubo un descenso significativo a lo largo del trayecto del canal, ni en el arroyo Burgos (Fig. 2). Teniendo en cuenta los valores medios de cada mes de muestreo, los tres microorganismos mostraron un leve descenso en la concentración en el mes de junio con respecto a marzo y diciembre, siendo significativo ($p < 0,05$) en el caso de los coliformes totales (Fig. 3). Según el sistema de clasificación analizado por Lazar *et al.* (2015), el rango de concentración de microorganismos encontrado para los distintos sitios de muestreo, indicaría una calidad del agua entre crítica y moderada (Tabla 2).

En todos los sitios de muestreo se encontraron microorganismos patógenos de *Salmonella* spp, con recuentos que oscilaron entre 0,2 y 9,9 bacterias /100 mL (NMP) (Fig. 2). Los valores medios fueron: 0,9 a la salida del *feedlot*, 1,5 en el trayecto del canal y 0,6 en el arroyo Burgos, expresados en NMP/100 mL. Por otra parte, se observaron diferencias significativas entre los diferentes sitios de muestreo ($p < 0,05$).

Los valores de ICA_1 se calcularon a partir de los datos obtenidos de temperatura, OD y amonio, a excepción del mes de diciembre que se calculó solamente con valores de temperatura y amonio. Los valores más bajos se obtuvieron en el sitio S1 en los tres meses de muestreo (entre 1,00 y 2,33), lo que indica una condición de contaminación muy elevada (Tabla 3). A partir del sitio S2 la calidad del agua mejoró indicando condiciones de contaminación entre leve y moderada, a excepción del sitio S6 en el mes de marzo, que mostró

una contaminación elevada. Los valores de ICA_1 oscilaron entre 4,83 y 6,17 en el mes de marzo, entre 7,00 y 8,33 en el mes de junio y entre 7,75 y 8,75 en el mes de diciembre (Tabla 3). Por otra parte, los valores de ICA_2 indicaron peores condiciones de calidad del agua que el ICA_1 , con una calidad entre pésima y mala en S1 y entre mala y regular en el resto de los sitios (Tabla 3).

Los bioensayos con el alga verde *P. subcapitata* mostraron inhibición del crecimiento en seis de las 18 muestras analizadas, cuyos %I oscilaron entre 19,19 y 42,69. Por otra parte, en cuatro muestras se observó estimulación del crecimiento algal con valores de %S entre 38,75 y 58,94.

El análisis estadístico de los datos permitió establecer una correlación de Spearman positiva altamente significativa ($p < 0,01$) entre las variables microbiológicas: *E. coli* y *Salmonella* spp, coliformes totales y *E. coli*, y coliformes totales y enterococos. Por otra parte, los coliformes totales estuvieron correlacionados positivamente con las precipitaciones acumuladas de cada mes (Tabla 4).

DISCUSIÓN

La calidad del agua en el área de estudio osciló entre polución leve a muy elevada, según el ICA_1 propuesto por Berón (1984), y entre calidad regular a pésima, según el ICA_2 propuesto por Brown *et al.* (1970). Ambos índices mostraron las peores condiciones en el sitio S1, donde se encuentra la descarga del efluente de un *feedlot*. Estas descargas típicamente se caracterizan por tener bajos niveles de OD y altas concentraciones de amonio y fósforo, entre otros contaminantes, tales como materia orgánica, microorganismos patógenos y residuos de fármacos de uso veterinario (Uusi-Kämpä *et al.*, 2007; Khan *et al.*, 2008). En los tres meses de muestreo, se registraron los valores máximos de NH_4^+ y PRS en S1, como así también altos valores de coliformes totales, *E. coli* y enterococos. Cabe destacar que en Argentina no existe aún una ley nacional que regule tanto la localización y construcción de áreas destinadas a las prácticas de producción animal intensiva, como el manejo adecuado de los desechos que estas actividades producen. Por otra parte, a pesar del aumento de estas áreas a nivel regional en los últimos años, existen pocos estudios referidos a los efectos de los vertidos puntuales de “*feedlots*” sobre la calidad aguas superficiales. Algunos reportes hacen referencia a la importancia de factores climáticos, tales como las temperaturas y las precipitaciones, y a las características topográficas e hidrológicas de la zona de estudio, los

Tabla 1. Variables físicoquímicas, glifosato y ácido aminometilfosfónico (AMPA), determinados en los diferentes sitios del área de estudio en los meses de marzo, junio y diciembre de 2015. nd: no detectable

Variable	Marzo						Junio						Diciembre					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Temperatura (°C)	27	23	18	26	23	26	13	9	9	12	10	11	29	17	17	27	23	27
pH	7,2	7,3	7,3	7,5	7,8	7,8	7,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	9,5	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0
OD (mg/L)	1,3	5,2	4,3	8,3	7,9	6,0	2,9	6,4	8,3	9,2	9,6	12,2	-	-	-	-	-	-
OD (% Saturación)	17,2	63,8	47,9	107,6	97,0	77,8	29,1	58,7	76,1	90,3	90,1	117,1	-	-	-	-	-	-
NH ₄ ⁻ (mg/L)	7,89	nd	0,01	nd	0,39	0,17	13,55	0,03	0,01	0,01	0,28	0,09	13,45	0,38	0,44	nd	0,06	0,03
NO ₃ ⁻ (mg/L)	0,20	0,25	0,32	1,09	1,41	1,08	0,08	0,02	0,01	0,03	0,16	0,15	nd	0,02	0,08	0,03	0,12	0,05
NO ₂ ⁻ (mg/L)	0,02	0,01	nd	0,01	0,07	0,11	0,02	nd	nd	0,01	0,06	0,06	0,76	0,17	0,11	0,02	0,09	0,02
PRS (mg/L)	14,89	1,01	3,76	0,63	0,15	0,23	11,40	0,80	0,67	0,56	0,18	0,18	9,91	1,48	0,81	0,39	0,10	0,08
Glifosato (µg/L)	0,35	nd	5,58	nd	0,83	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	13,57	3,00	2,38	nd	nd	-
AMPA (µ/L)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	9,75	0,82	2,45	0,88	0,84	-

que pueden afectar notoriamente el transporte de nutrientes y otros contaminantes provenientes de "feedlots" hacia las aguas superficiales y subterráneas (García & Fabrizio de Iorio, 2005; Wyngaard *et al.*, 2011; Basílico *et al.*, 2015).

Según las concentraciones de OD y nutrientes (NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻ y PRS), existe una tendencia hacia una mejor calidad del agua desde el sitio S2 hacia el arroyo Burgos (Tabla 1). Esto se vio reflejado en los valores de ICA₂, que pasaron de una polución moderada a leve, a excepción del mes de marzo en el que en S6 la polución del agua resultó elevada (Tabla 3). Sin embargo, teniendo en cuenta los valores de ICA₂, la calidad del agua no mejoró a lo largo del canal y en el arroyo en los meses de marzo y diciembre (calidad mala en todos los sitios), y fue calidad mala en el canal y regular en el arroyo en el mes de marzo (Tabla 3). Esto se debe a que este índice aplica la concentración de microorganismos coliformes, como *E. coli*, en su fórmula de cálculo. Según puede observarse en la Fig. 2, la cantidad de estos microorganismos no siguió un patrón espacial, sino que se mantuvo más o menos constante en todos los sitios analizados. Esta baja variación afectó los valores de ICA₂. Por otra parte, según el sistema de clasificación de Lazar *et al.* (2015) basado en la concentración de microorganismos indicadores de contaminación fecal para calidad del agua superficial (Tabla 2), los seis sitios de muestreo mostraron una contaminación

crítica y moderada en todos los sitios. Según un informe de la Secretaría de Obras Públicas y la Dirección Nacional de Gestión de los Recursos Hídricos de la Argentina, el límite establecido para los coliformes totales en cuanto a la calidad del agua para uso en actividades agropecuarias es de 1000 NMP/100 mL, mientras que el límite para los coliformes fecales para el uso en actividades recreativas con contacto directo es de 200 NMP/100 mL (AA-AGOSBA-ILPLA-SIHN, 1997). Estos límites son superados en todos los meses y sitios de muestreo. En cuanto a las actividades recreativas, se ha observado que en el arroyo Burgos, las personas realizan actividades de pesca dentro de las aguas.

Las concentraciones promedio de los tres grupos de microorganismos fueron menores en el mes de junio que en los otros dos meses (Fig. 3), lo que podría estar relacionado con las menores precipitaciones registradas en ese mes. Según Tian *et al.* (2002), la intensidad y el volumen de las lluvias están asociados con la escorrentía, la erosión del suelo y el transporte microbiano. De este modo, las lluvias de baja intensidad, pero prolongadas durante un período de tiempo, pueden transportar parte de estos microorganismos hacia los canales y arroyos aledaños, mediante procesos de escorrentía superficial. Sin embargo, períodos cortos de intensas lluvias pueden reducir la concentración de estos microorganismos por el ingreso de aguas más limpias (Kraemer *et al.*, 2011; Chagas *et al.*, 2014). Se-

Tabla 2. Valores límite de indicadores de contaminación fecal para el sistema de clasificación la calidad de agua superficial, según Lazar *et al.* (2015).

Indicador de contaminación fecal (Log/100 mL)	Calidad de agua superficial				
	I Baja	II Moderada	III Crítica	IV Severa	V Excesiva
Coliformes totales	<2,7	>2,7-4	4-5	5-6	>6
Coliformes fecales	<2	>2-3	3-4	4-5	>5
Enterococos	<1,7	>1,7-2	2-3	3-4	>4

Tabla 3. Valores obtenidos para los Índices de Calidad de Aguas ICA_1 (Berón, 1984) e ICA_2 (Brown *et al.*, 1970), y los porcentajes de inhibición (%I) y estimulación (%S) del crecimiento del alga verde *P. subcapitata* en cada sitio y mes de muestreo.

Mes	Sitio	ICA_1	ICA_2	%I	%S
Marzo	S1	1,33	24,98	-	58,94
	S2	5,50	38,13	-	53,16
	S3	6,17	33,24	29,91	-
	S4	6,17	43,71	23,88	-
	S5	5,83	49,36	-	-
	S6	4,83	44,53	-	47,14
Junio	S1	2,33	32,30	42,69	-
	S2	7,00	46,44	-	-
	S3	7,67	49,46	19,19	-
	S4	8,33	48,29	-	-
	S5	8,00	51,65	-	-
	S6	8,33	50,10	-	-
Diciembre	S1	1,00	17,71	26,51	-
	S2	8,50	29,50	-	-
	S3	8,50	35,50	19,24	-
	S4	7,75	34,15	-	-
	S5	8,75	34,45	-	38,75
	S6	7,75	35,05	-	-

Tabla 4. Correlaciones significativas no paramétricas entre las variables bióticas y abióticas; n=número de variables para cada par de variables, R=coeficiente de Spearman.

Par de variables	n	R	Nivel p
Nitratos-Precipitaciones	15	0,66	0,0027
Coliformes totales-Precipitaciones	15	0,77	0,0001
PRS-Enterococos	15	0,52	0,0300
<i>E. coli</i> - <i>Salmonella</i> spp	15	0,57	0,0100
Coliformes totales- <i>E. coli</i>	15	0,53	0,0200
Coliformes totales-Enterococos	15	0,51	0,0300

gún el análisis de correlación, solamente los microorganismos coliformes totales estuvieron positivamente correlacionados con las precipitaciones durante el período de estudio (Tabla

4). Es decir que las mayores precipitaciones registradas en los meses de marzo y diciembre produjeron un efecto de escorrentía superficial con transporte de microorganismos coliformes.

Los diferentes microorganismos pertenecientes al género *Salmonella* son patógenos intestinales del hombre y de animales (aves y mamíferos). En la zona de estudio, este microorganismo estuvo presente en todos los sitios y meses de muestreo, lo que constituye un riesgo para la salud humana y animal. Las aguas del canal suelen ser utilizadas como agua de bebida por los animales de cría y las aguas del arroyo suelen ser utilizadas con fines recreacionales por parte de los residentes de la zona.

Las mayores concentraciones de glifosato y su producto de degradación AMPA se detectaron en el mes diciembre (Tabla 1), en coincidencia con la época cercana a la aplicación de glifosato en el cultivo de soja, que abarca los meses de septiembre a enero. El glifosato puede ser adsorbido en las partículas del suelo y transportado desde las áreas terrestres a las aguas superficiales por escorrentía terrestre (Aparicio *et al.*, 2013). Este transporte está determinado por la degradación y lixiviación del glifosato en los suelos y por factores que determinan la erosión de los suelos, como la intensidad de la lluvia, la composición del suelo, las características de la pendiente y la cobertura de vegetación. Asimismo, las altas temperaturas favorecen una mayor tasa de degradación de glifosato a AMPA (Borggaard & Gimsing 2008).

El glifosato y sus diferentes formulaciones, como Roundup® y Atanor®, pueden resultar tóxicos para diferentes organismos acuáticos, según la concentración en que se encuentre en el agua, siendo los coadyuvantes utilizados en las formulaciones aún más tóxicos que el herbicida (Tsui & Chu, 2003; Relyea, 2005; Romero *et al.*, 2011). Los bioensayos con el alga verde *P. subcapitata* mostraron que solamente se observó inhibición del crecimiento algal en 6 de las 18 muestras analizadas, siendo el sitio S3 el que mostró inhibición en los tres meses de estudio (Tabla 3). Este sitio, en particular, se caracteriza por ser una zona de cultivos con mayor predominio de soja que los restantes sitios estudiados. Por otra parte, en S1 se observó inhibición del crecimiento algal en junio y diciembre. No se encontró una correlación positiva entre el glifosato y los %I, de manera que la inhibición observada pudo deberse a otros tóxicos presentes en las muestras. Estudios previos mostraron la presencia de metales pesados (Cu, Pb y Zn) en el área de estudio (Bollani, 2016). Por otra parte, según Defarge *et al.* (2018) algunas formulaciones, como el Roundup presentan metales pesados, tales como arsénico, cobalto, cromo, níquel y arsénico.

En conclusión, la microcuenca del Arroyo Burgos se encuentra altamente contaminada y la presencia de microorganismos de contaminación fecal y de especies del género *Salmonella* en las aguas de este arroyo y en sus afluentes representa un riesgo para la salud humana y animal. Los índices de calidad de agua aplicados en este trabajo resultan de interés y podrían ser aplicados para el monitoreo de la contaminación hídrica y del estado ecológico de ríos y arroyos de la llanura pampeana. Los bioensayos de inhibición del crecimiento algal podrían ser utilizados como una herramienta adicional a los índices de calidad para evaluar la presencia de sustancias tóxicas en las aguas superficiales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo desean agradecer a la Universidad de Buenos Aires y la Secretaría de Ciencia y Técnica por el financiamiento del presente trabajo a través del proyecto UBACyT N° 20020130100601BA, y al Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”-CON ICET. Los autores agradecen especialmente a Amalia González por el diseño de la Figura del área de estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- AA-AGOSBA-ILPLA-SIHN. 1997. Calidad de la Franja Costanera Sur del Río de la Plata (San Fernando - Magdalena), 157 pp.
- Altenburger, R., Walter, H. & M. Grote. 2004. What contributes to the combined effect of a complex mixture? *Environmental and Science Technology* 38 (23): 6353-6362.
- Aparicio, V.C., De Gerónimo, E., Marino, D., Primost, J., Carriquiriborde, P & J.L. Costa. 2013. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere*. 93: 1866-1873.
- APHA, AWWA & WPCF. 2012. *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 22nd Edition. USA.
- Archibald, P.A. & H.C. Bold. 1970. *Phycological studies. XI. The Genus Chlorococcum Meneghini*. Univ. Texas Public., N°7015, Austin, Texas. 1970;86 p.
- Basilico, G.O., de Cabo, L. & A. Faggi. 2015. Adaptación de índices de calidad de agua y de riberas para la evaluación ambiental en dos arroyos de la llanura pampeana. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales* 17(2): 119-134.
- Berón, L. 1984. *Evaluación de la Calidad de las Aguas de los ríos de La Plata y Matanza-Riachuelo, mediante la utilización de índices de calidad de agua*. Secretaría de Vivienda y Ordenamiento Ambiental, Ministerio de Salud y Acción Social, Argentina, 38 pp.

- Besser, T.E., LeJeune, J.T., Rice, D.H., Berg, J., Stillborn, R.P., Kaya, K., Bae, W. & D.D. Hancock. 2005. Increasing Prevalence of *Campylobacter jejuni* in Feedlot Cattle through the Feeding Period. *Applied and Environmental Microbiology* 71(10): 5752–5758.
- Bollani, S. 2016. Estudios de toxicidad y genotoxicidad en muestras de agua de canales y arroyos asociados a zonas con actividad ganadera. Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas. DBBE, FCEN-UBA.
- Borggaard, O.K. & A.L. Gimsing. 2008. Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. *Pest Management Science* 64: 441–456.
- Branco, S.M. 1984. Limnología sanitaria. Estudio de la polución de aguas continentales. Secretaría General de la Organización de Estados Americanos, Washington, 120 pp.
- Brown, R.M., McClelland, N.I., Deininger, R.A. & R.G. Tozer. 1970. A water quality index: do we dare? *Water & Sewage Works* 117: 339-343.
- Chagas, C.I., O. J. Santanatoglia, J. Moretton, M. Paz & F.B. Kraemer. 2010. Surface movement of cattle-borne biological contaminants in the drainage network of a basin of the Rolling Pampas. *Ciencia del Suelo, Argentina* 28: 23-31.
- Chagas, C.I., F.B. Kraemer, O.J. Santanatoglia, M. Paz & J. Moretton. 2014. Biological water contamination in some cattle production fields of Argentina subjected to runoff and erosion. *Spanish Journal of Agricultural Research* 12(4): 1008-1017.
- De Gerónimo, E., Aparicio, V.C., Bárbaro, S., Portocarrero, R., Jaime, S. & J.L. Costa. 2014. Presence of pesticides in surface water from four sub-basins in Argentina. *Chemosphere* 107: 423-431.
- Defargea, N., J. Spiroux de Vendômois & G.E. Séralinia. 2018. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. *Toxicology Reports* 5: 156-163.
- Environmental Canada. 2007. Biological test method: growth inhibition test using a freshwater algae. EPS 1/RM/25, Second Ed, p. 53.
- García, A.R. & A. Fabrizio de Iorio. 2005. incidencia de la descarga de efluentes de un feedlot en la calidad de agua del arroyo Morales, Buenos Aires-Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía UBA* 25 (2): 167-176.
- Gosciny, S., Unterluggauer, H., Aldrian, J., Hanot, V. & S. Masselter. 2012. Determination of glyphosate and its metabolite AMPA (aminomethylphosphonic acid) in cereals after derivatization by isotope dilution and UPLC-MS/MS[®]. *Food Anal Methods* 5: 1177–1185.
- Hatano, R., T. Nagumo, H. Hata & K. Kuramochi. 2005. Impact of nitrogen cycling on stream water quality in a basin associated with forest, grassland, and animal husbandry, Hokkaido, Japan. *Ecological Engineering* 24: 509-515.
- ISO. 2004. Water Quality—Freshwater Algal Growth Inhibition Test with Unicellular Green Algae. International Standardisation Organization, Brussels (ISO 8692).
- Khan, S.J., Roser, D.J., Davies, C.M., Peters, G.M., Stuetz, R.M., Tucker, R. & N.J. Ashbolt. 2008. Chemical contaminants in feedlotwastes: concentrations, effects and attenuation. Review article. *Environmental International* 34: 839–859.
- Kraemer, F.B., C.I. Chagas, C. Iurrtia & L.A. Garibaldi. 2011. Bacterial retention in three soils of the Rolling Pampa, Argentina, under simulated rainfall. *Journal of Soil Science and Environmental Management* 2(11): 341-353.
- Kraemer, F.B., C.I. Chagas, D.J. Cosentino & L.A. Garibaldi. 2013. Adsorption and affinity of *Escherichia coli* to different aggregate sizes of a silty clay soil. *International Journal of Sediment Research* 28: 535-543.
- Lazar, V., Curutiu, C., Ditu, L.M., Holban, A., Gheorghe, I., Marinescu, F., Ilie, M., Marcu, E., Ivanov, E., Dobre, D., Chifriuc, M.C. 2017. Physico-chemical and microbiological assessment of organic pollution in plain salty lakes from protected regions. *Journal of Environmental Protection* 8:1474-1489.
- Mackereth, F., Heron, J. & J. Talling. 1989. *Water analysis: some revised methods for limnologists* (2nd ed.). Cumbria: Freshwater Biological Association. Scientific publication No. 36.
- Magdaleno, A., Puig, A., de Cabo, L., Salinas, C., Arreghini, S., Korol, S., Bevilacqua, S., López, L. & J. Moretton. 2001. Water Pollution in an Urban Argentine River. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 67: 408-415.
- Manassero, M., Camilión, C. & A. Ronco. 2004. Análisis textural de sedimentos fluviales distales de arroyos de la pampa ondulada, Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Revista de la Asociación Argentina de Sedimentología* 11 (2): 57-68.
- Nasirian, M. 2007. A new water quality index for environmental contamination contributed by mineral processing: a case study of amang (Tin Tailing) processing activity. *Journal of Applied Sciences* 7(20): 2977-2987.
- Nedelkoska, T.V. & G.K.-C Low. 2004. High-performance liquid chromatographic determination of glyphosate in water and plant material after pre-column derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate. *Anal Chim Acta* 511: 145–153.
- OECD. 2006. Guidelines for the testing of chemicals. Proposal for updating guideline 201: Freshwater alga and Cyanobacteria, growth Inhibition Test. OECD Publications Service, Paris.
- Ott, W.R. 1978. Water Quality Indices: a survey of indices used in the United States. Washington: U.S. Environmental Protection Agency Office of Research and Development.
- Peruzzo, P.J., Porta, A.A., Ronco, A.E. 2008. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. *Environmental Pollution* 156:61–66.
- Pesce, S.F. & D.A. Wunderlin. 2000. Use of Water Quality Indices to verify the impact of Córdoba City (Argentina) on Suquia River. *Water Research* 34: 2915-2926.
- Relyea, R.A. 2005. The impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities. *Ecological Applied* 15: 618–627.
- Romero, D.M., M.C. Ríos de Molina & A.B. Juárez. 2011.

- Oxidative stress induced by a commercial glyphosate formulation in a tolerant strain of *Chlorella kessleri*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74: 741–747.
- Sala, J.M., N. Gonzalez & E. Kruse, 1983. *Generalización hidrológica de la provincia de Buenos Aires*. Coloquio Internacional sobre Hidrología de Grandes Llanuras: 976–1009.
- Sargeant, J.M., Sanderson, M.W., Dee Griffin, D. & R.A. Smith. 2004. Factors associated with the presence of *Escherichia coli* O157 in feedlot–cattle water and feed in the Midwestern USA. *Preventive Veterinary Medicine* 66: 207–237.
- Strickland, J. & T. Parsons. 1972. *A practical handbook of seawater analysis* (2nd ed.). Ottawa: Fisheries Research Board of Canada. Bulletin No. 167.
- Tian, Y.Q., P. Gong, J.D. Radke & J. Scarbrough. 2002. Spatial and temporal modeling of microbial contamination on grazing farmlands. *Journal of Environmental Quality* 31: 860–869.
- Tsui, M.T. & L.M. Chu. 2003. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere* 52: 1189–1197.
- USEPA. 2002. United States Environmental Protection Agency, *Selenastrum capricornutum* growth test. In: Short-term method for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving water to freshwater organisms.
- Uusi-Kämpä, J., L. Jauhiainen & A. Huuskonen. 2007. Phosphorus and nitrogen losses to surface waters from a forested feedlot for bulls in Finland. *Soil Use and Management* 23(1): 82–91.
- Viglizzo, E.F., L.V. Carreño, H. Pereyra, F. Ricard, J. Clatt & D. Pincén. 2015. **Dinámica de la frontera agropecuaria y cambio tecnológico**. En: E.F. Viglizzo y E. Jobbágy (eds.) *Expansión de la Frontera Agropecuaria en Argentina y su Impacto Ecológico-Ambiental*, 9-16 pp. INTA, Ministerio de agricultura, ganadería y pesca.
- Wyngaard N, L. Picone, C. Videla, E. Zamuner & N. Maceira. 2011. Impact of feedlot on soil phosphorus concentration. *Journal of Environmental Protection*. 2: 280–286. doi:10.4236/jep.2011.23031 (<http://www.scirp.org/journal/jep>).

Doi: 10.22179/REVMACN.20.588

Recibido: 11-VI-2018

Aceptado: 9-X-2018