

## Ecología trófica en larvas de *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) en agroecosistemas y sus posibles implicaciones para la conservación

Clarisa Bionda<sup>1,4</sup>, Noemi Gari<sup>2</sup>, Elisa Luque<sup>2</sup>, Nancy Salas<sup>1</sup>, Rafael Lajmanovich<sup>3</sup> & Adolfo Martino<sup>1</sup>

1. Ecología, Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, UNRC, ruta 36km 601, Río Cuarto, Córdoba, Argentina; cbionda@exa.unrc.edu.ar, nsalas@exa.unrc.edu.ar, amartino@exa.unrc.edu.ar
2. Botánica Sistemática, Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, UNRC; ngari@exa.unrc.edu.ar, mluque@exa.unrc.edu.ar
3. Ecotoxicología, Escuela Superior de Sanidad "Dr. Ramón Carrillo", Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Paraje "El Pozo" s/n, Santa Fe, Argentina; lajmanovich@hotmail.com
4. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

Recibido 01-VI-2011. Corregido 13-X-2011. Aceptado 15-XI-2011.

### **Abstract: Trophic ecology in tadpoles of *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) in agroecosystems and their possible implications for conservation.**

The progress of the agriculture border has led an important loss of natural habitats, with significant consequences for biodiversity. In this sense, the studies in anuran amphibian tadpoles inhabiting these environments are relevant, because the larval stage is a phase of population regulation. The aim of this study was to analyze the body condition and diet in *Rhinella arenarum*, tadpoles, an anuran species widely distributed in South America and that inhabit agroecosystems. Three sites were sampled, two agroecosystems with different alteration degrees (C1 and C2) and an uncultured (SM) third place. The captured tadpoles were anesthetized, fixed and preserved in formaldehyde (10%). Subsequently, body measurements were made and the complete intestine was removed and analyzed for food items under a binocular microscope. The diet in *R. arenarum* tadpoles has a dominance of algae Bacillariophyceae, followed by Cyanophyceae. In particular, the class Bacillariophyceae, due to the presence of the genus *Navicula*, *Nitzschia*, *Gomphonema* and *Hantzschia*, was important in the diet of the anurans in those agroecosystems. Class Cyanophyceae, mainly represented by genus *Oscillatoria* and Euglenophyceae represented by *Euglena* and *Strombomonas*, were predominant in the diet of the anurans in SM. Some differences in the total items consumed by tadpole were observed between the studied sites. Tadpoles that inhabit the modified sites (C1 and C2) recorded a significantly smaller amount of food. Moreover, the tadpoles that inhabit these sites showed a lower body condition. The presence of certain algae associated with eutrophic environments, could indicate some pollution in agroecosystems (C1 and C2). Food resources would be lesser in places with strong agricultural activity, possibly with a greater degree of eutrophication. A smaller food amount could have consequences at population level for the short and long time terms, because of its impact on individual growth. Larval diet is suggested as a potential bioindicator of environmental health for these areas. Rev. Biol. Trop. 60 (2): 771-779. Epub 2012 June 01.

**Key words:** larval diet, food availability, body condition, agroecosystems, *Rhinella arenarum*.

La proporción de bosques transformados en tierras agrícolas está ocurriendo rápidamente en algunas áreas Neotropicales. Particularmente, la región central de Argentina ha sido afectada por el desarrollo agrícola (Rossi 2006), con una clara tendencia de reemplazo

de la agricultura tradicional por una producción más especializada, principalmente en la obtención de soya (*Glycine max* L.). Este progreso de la agricultura ha convertido a la región en un importante productor, procesador y exportador de granos, aceite y harina de soya (Rossi 2006).

Sin embargo, la agricultura se ha convertido en la principal causa de reducción, fragmentación y deterioro del hábitat natural, y en consecuencia, es considerada un factor relevante en la declinación registrada en los anfibios en las últimas décadas (di Tada *et al.* 1996, Wake 1998, Davidson *et al.* 2002, GAA 2004, Stuart *et al.* 2004, Beebee & Griffiths 2005, Collins & Crump 2009).

En este contexto, resulta valioso el conocimiento sobre la ecología de larvas de anfibios, ya que los estadios larvales presentan un papel fundamental en la regulación de la fase adulta (Heyer 1974, Wilbur 1980). Las alteraciones de los ambientes acuáticos o el deterioro en la calidad de los mismos, puede influir en las larvas de anfibios tanto en el tiempo y tamaño alcanzado en la metamorfosis, como en su desarrollo normal, aumentando la mortalidad o la depredación (Carey & Bryant 1995, Taylor *et al.* 2005, Alitg *et al.* 2007). Sin embargo, los trabajos desarrollados acerca de la alimentación en anfibios que habitan los agroecosistemas, han sido realizados principalmente en estadios terrestres (Attademo *et al.* 2005, 2007) y poco se conoce sobre la alimentación en larvas. Algunos autores (Heyer 1974, Lajmanovich 2000, Rossa Feres *et al.* 2004) han demostrado que las larvas utilizan como recurso todo aquello que se encuentra disponible en su ambiente, ya que no necesariamente la alimentación constituye un factor para la segregación de las comunidades larvales. Asimismo, la alteración del hábitat, puede modificar la disponibilidad de alimento en un ambiente dado, lo cual puede afectar el crecimiento y el desarrollo de los organismos que se sustentan en dichos ambientes. De este modo, los estudios sobre la dieta en larvas de anfibios pueden representar una medida general de la oferta y disponibilidad trófica de los distintos hábitats y resultar una herramienta para la caracterización y monitoreo como bioindicador de la calidad ambiental (Jüttner *et al.* 1996, Blanco *et al.* 2004, Díaz Quirós & Rivera Rondón 2004).

En este trabajo nos proponemos explorar los posibles efectos de las modificaciones derivadas del establecimiento de agroecosistemas

sobre la dieta y la condición corporal de larvas de *Rhinella arenarum* Hensel 1867, una especie de anuro Neotropical con amplia distribución en Sudamérica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los sitios de muestreo se encuentran en los alrededores de la localidad de Río Cuarto (33°07'55.18" S - 64°21'08.96" W), provincia de Córdoba, Argentina. La región se caracteriza por tener clima semiseco, con tendencia a semihúmedo de las planicies. Las lluvias máximas se encuentran durante el periodo octubre-marzo, con una media anual de 800mm (Capitanelli 1979). La fisiografía del área de estudio corresponde a llanuras suavemente onduladas. La escasa pendiente favorece el estancamiento de las aguas, sumado al aporte subterráneo que junto con las precipitaciones, ayuda a mantener cursos de agua permanentes (Bridarolli & di Tada 1996).

La recolección de los especímenes fue realizada en tres sitios: dos de ellos se encuentran en zonas de cultivos de soja: Sitio Cultivo 1 (C1, 33°05'54.38" S - 64°26'04.76" W) y Sitio Cultivo 2 (C2, 33°05'39.29" S - 64°25'57.72" W). Ambos sitios presentan distintos grados de alteración en relación a la distancia de los cultivos a los cuerpos de agua. En C1, los cultivos estuvieron a escasos metros de los cuerpos de agua, mientras que en C2 se encontraban más alejados (200m aproximadamente). El tercer sitio de muestreo, llamado Sitio Semi-modificado (SM, 33°06'41.95" S - 64°18'14.71" W), correspondió a una zona periurbana no afectada por cultivos, cubierta por pastizales y formaciones boscosas de árboles autóctonos e introducidos (Doffo 1989).

Las larvas de *R. arenarum* presentan hábitos bentónicos, es decir, viven en el fondo de charcas y lagunas (Ceí 1980, Lajmanovich 2000). La captura se realizó en diciembre de 2007, a lo largo de una transecta desde el margen del cuerpo de agua hasta 2m dentro del mismo. Luego de identificadas, las larvas fueron anestesiadas (MS 222), fijadas y preservadas en formaldehído al 10%. Se midió la

longitud desde el rostro a la cloaca (LRC) con un calibre manual Vernier Somet Inox Extra (0.01mm precisión) y se obtuvo la masa con una balanza Mettler P11N 0-1000g. A partir de la LRC y la masa de las larvas, fue calculada la condición corporal (CC) de cada individuo. Para el cálculo de la CC, fueron utilizados índices residuales de acuerdo a lo sugerido por Jakob *et al.* (1996) y Lüddecke (2002).

Para un total de 10-12 larvas por sitio, entre los estadios 36-39 de Gosner (1960), se extrajeron los intestinos completos y el contenido del primer tercio fue analizado (Echeverría *et al.* 2007). Los recuentos de las algas se realizaron bajo microscopio óptico Zeiss a 400X, utilizando cámara porta y cubreobjeto de 24 x 50mm, se usó un volumen de 0.3mL de muestra para cada cámara; se recorrieron tres transectas, una central y dos equidistantes a la central, cada una con una longitud igual a la del cubreobjeto y una altura correspondiente al diámetro del campo visual. Se consideró como unidad de recuento al talo (unicelular, colonia, cenobio). Para la cuantificación de los filamentos, el equivalente a una longitud de 10µm fue considerado como una célula única (Hill *et al.* 2000). Para el cálculo de la abundancia de organismos se utilizaron las ecuaciones según Villafañe & Reid (1995). Con estos datos se obtuvieron los porcentajes de frecuencia de ocurrencia (FO%, porcentaje de individuos que consumieron determinada categoría de presa), se estimaron los totales y las frecuencias numéricas (N%) de los distintos ítems alimentarios

cuantificables. Para describir la diversidad en la dieta entre las distintas poblaciones, se calculó el índice de diversidad (H) con la fórmula Shannon & Weaver (1949). Además, se midió la equitatividad (E) en la dieta para cada población usando la ecuación de Magurran (1987). Para contrastar la diversidad media en la dieta de las poblaciones con distintos tamaños muestrales también se utilizó el método de Rarefacción (Magurran 1987).

Los resultados para las medidas corporales y la cantidad promedio de ítems consumidos por larva fueron comparados estadísticamente entre sitios utilizando un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía y la prueba *a posteriori* de comparaciones múltiples de Tukey. Los cálculos de rarefacción fueron realizados con el programa EstimateS versión 8.2.0 (Colwell 1997).

## RESULTADOS

En el cuadro 1 se muestran los resultados correspondientes a las medidas corporales realizadas en larvas de *R. arenarum*. Las larvas del sitio C1 registraron la menor LRC, masa y CC (Cuadro 1). La comparación estadística de las medidas corporales, indicó que la LRC y la masa de las larvas se diferencian significativamente entre los sitios (Tukey,  $p < 0.05$ ), con excepción de LRC entre C1 y SM (Tukey,  $p > 0.05$ ) (Cuadro 1). Por otra parte, la CC presentó diferencias significativas entre el C1 y el resto de los sitios (Tukey,  $p < 0.05$ ).

CUADRO 1

Medias y desviaciones estándar para la longitud rostro cloaca (LRC), masa y condición corporal (CC) de las larvas de *R. arenarum* de los sitios: Cultivo 1 (n=50), Cultivo 2 (n=47) y Semi-modificado (n=41)

TABLE 1

Means and standard deviations for length face cloaca (LRC), mass and body condition (CC) of tadpoles of *R. arenarum* of the sites: Culture medium 1 (n=50), Culture medium 2 (n=47) and Semi-modified (n=41)

	LRC (mm)	Masa (g)	CC
Cultivo 1	12.07±0.93 <sup>a</sup>	0.26±0.06 <sup>a</sup>	0.015±0.0043 <sup>a</sup>
Cultivo 2	14.06±0.81 <sup>b</sup>	0.57±0.11 <sup>b</sup>	0.020±0.0038 <sup>b</sup>
Semimodificado	12.54±2.37 <sup>ac</sup>	0.44±0.18 <sup>c</sup>	0.022±0.0044 <sup>b</sup>

Valores en una columna seguidos por distinta letra difieren significativamente (Tukey,  $p < 0.05$ ).

La dieta de las larvas de *R. arenarum* consistió principalmente en microalgas, particularmente diatomeas. En el cuadro 2 se muestran las clases y géneros de algas más abundantes registrados en la dieta de *R. arenarum*. En los sitios C1 y C2, las algas más consumidas fueron las de la clase Bacillariophyceae, representada por 29 y 18 géneros, y la clase Chlorophyceae con ocho y seis géneros, respectivamente. En el sitio SM, además de la clase Bacillariophyceae, con 13 géneros, otras como Cyanophyceae, con dos géneros y Euglenophyceae, con cinco géneros, fueron componentes principales en la dieta (Cuadro 2). En general, los géneros *Navicula* y *Nitzschia* fueron predominantes en todos los sitios estudiados (Cuadro 2). Por otra parte, *Gomphonema* sp. y *Hantzschia* sp. fueron dominantes solamente en la dieta de las larvas de

los ecosistemas agrícolas. Mientras que en el SM, los géneros más consumidos fueron: *Oscillatoria*, *Euglena* y *Strombomonas* (Cuadro 2).

La cantidad de alimento consumido por las larvas del sitio SM difiere significativamente del resto de los sitios (Tukey,  $p < 0.05$ ) (Cuadro 2). Las larvas de los ecosistemas agrícolas consumen menor cantidad de alimento. La abundancia total registrada para los sitios C1 y C2 representa tan sólo el 5% y 29% respectivamente, del total consumido por las larvas del SM (Cuadro 2). Sin embargo, la dieta en el C1 es más diversa (C1:  $H=2.39$ ; C2:  $H=1.55$  y SM:  $H=2.00$ ) y más equitativa (C1:  $E=0.64$ ; C2:  $E=0.43$  y SM:  $E=0.63$ ). La diversidad media en las distintas dietas calculadas según el método de rarefacción (C1= $2.30 \pm 0.08$ ; C2= $1.53 \pm 0.03$  y SM= $2 \pm 0.12$ ) también indica que la dieta del C1 es la más diversa.

CUADRO 2

Frecuencia numérica N (%) y frecuencia de ocurrencia FO (%) de los géneros de algas más abundantes registrados en el contenido intestinal de larvas de *R. arenarum* de los sitios: Cultivo 1 (n=12), Cultivo 2 (n=10) y Semi-modificado (n=10)

TABLE 2

Percent N (%) and occurrence frequencies FO (%) of the more abundant algal genera recorded in the gut contents of *R. arenarum* tadpoles of the sites: Culture medium 1 (n=12), Culture medium 2 (n=10) and Semi-modified (n=10)

	Cultivo 1		Cultivo 2		Semi-modificado	
	N (%)	FO (%)	N (%)	FO (%)	N (%)	FO (%)
Bacillariophyceae						
<i>Anomooneis</i>	2.23	92	2.08	100	-	-
<i>Gomphonema</i>	10.95	100	1.19	100	0.17	100
<i>Hantzschia</i>	2.45	100	7.36	100	0.02	50
<i>Navicula</i>	17.09	100	17.70	100	9.66	100
<i>Nitzschia</i>	22.18	100	61.45	100	8.90	100
Chlorophyceae						
<i>Oedogonium</i>	19.15	92	5.43	100	-	-
Cyanophyceae						
<i>Oscillatoria</i>	4.61	92	0.53	60	8.51	100
Euglenophyceae						
<i>Euglena</i>	0.39	33	-	-	38.64	100
<i>Strombomonas</i>	-	-	-	-	16.65	100
Cantidad promedio ( $\pm$ DE) de ítems de alimento consumido por larva	129 649.01 $\pm$ 59	406.74 <sup>b</sup>	710 728.57 $\pm$ 534	832.62 <sup>b</sup>	2 396 159.05 $\pm$ 1	864 899.42 <sup>a</sup>

Valores seguidos por distinta letra difieren significativamente (Tukey,  $p < 0.05$ ).

## DISCUSIÓN

Numerosos estudios utilizan a las algas diatomeas como bioindicadoras en diversos tipos de ambientes (Round *et al.* 1993, Jüttner *et al.* 1996, Blanco *et al.* 2004, Díaz Quirós & Rivera Rondón 2004). La dominancia en los cuerpos de agua de determinadas diatomeas, han sido asociadas a la contaminación por nitrógeno o fósforo (Blanco *et al.* 2004), componentes principales de los agroquímicos utilizados en los cultivos. En general, para todos los sitios estudiados, pero particularmente en los sitios agrícolas, las algas más consumidas fueron *Navicula* y *Nitzschia*. Estos mismos géneros son considerados indicadores de las condiciones ambientales en distintos cuerpos de agua (Díaz Quirós & Rivera Rondón 2004) y son particularmente resistentes a ambientes de conductividad alta y posible contaminación orgánica (Ramírez & Plata Díaz 2008, Yucra & Tapia 2008). La abundancia significativa registrada de *Nitzschia* en el C2, podría estar asociada a niveles altos de salinidad para este ambiente (Nather Khan 1990). Por otra parte, *Gomphonema* y *Hantzschia*, presentes en ambos sitios de cultivos, son tipos de algas asociadas a ambientes con contaminación, pero particularmente *Gomphonema*, es encontrada en ambientes con niveles elevados de fósforo (Nather Khan 1990, Díaz Quirós & Rivera Rondón 2004, Kelly *et al.* 2005). En el sitio SM, los géneros que predominaron fueron: *Oscillatoria*, *Euglena* y *Strombomonas*. La predominancia de los géneros *Oscillatoria* y *Euglena* en la dieta de las larvas del SM, podría estar asociado a la presencia de mayor cantidad de materia orgánica en la laguna de este sitio (Fabrizi 2010). Si bien no se registran cultivos en los alrededores del sitio SM y por tal motivo resulta un ambiente de referencia para ser comparado con los agroecosistemas, este ambiente presenta cierto grado de alteración ya que se encuentra rodeado por una matriz periurbana. La presencia de residencias aledañas a este ambiente podría ser la razón de un incremento en la cantidad de materia orgánica y por ello la predominancia de estos géneros. De este

modo, la presencia de ciertas algas registradas en la dieta de las larvas procedentes de distintos sitios podría estar corroborando sus niveles de alteración, lo que indica además, el estado de los sitios agrícolas estudiados.

La agricultura es uno de los factores principales de eutrofización de las aguas superficiales (USEPA 1994, Ongley 1997, Perdomo *et al.* 2001) y se conoce que los ambientes eutrofizados presentan menor calidad de alimento (Smol 2002). Las larvas de anuros normalmente muestran una alimentación poco especializada, raspando sobre superficies de plantas, por lo que sus dietas son indicadoras del tipo y abundancia del recurso alimenticio en sus ambientes (Heyer 1974, Lajmanovich 2000, Rossa Feres *et al.* 2004). En este sentido, los resultados obtenidos, sugieren que existe diversidad en la oferta alimenticia proporcionada por los distintos ambientes estudiados. Asimismo, podemos mencionar que de acuerdo a nuestros resultados la disponibilidad de alimento, en términos de cantidad, sería menor en aquellos sitios que registran un mayor grado de alteración por la actividad agrícola. La disponibilidad de alimento puede tener consecuencias poblacionales a corto y largo plazo. Una cantidad y calidad de alimento por debajo del valor óptimo, puede influir de manera significativa en el tiempo de metamorfosis y en el tamaño de las larvas (Carey & Bryant 1995, Altig *et al.* 2007), afectando de este modo las principales interacciones biológicas, como la competencia y la depredación (Kupferberg 1997). En este sentido, nuestros resultados han mostrado que las larvas de *R. arenarum* procedentes de ambientes más alterados, presentan una condición corporal más baja. La condición corporal es un indicador de la calidad o estado fisiológico de un organismo (Bagenal & Tesch 1978, Jakob *et al.* 1996), lo cual puede estar directamente relacionado a su alimentación. La dieta analizada para las larvas de estos sitios indicó que las mismas consumen una cantidad más reducida de alimento. Esto podría ser considerado la causa por la cual dichas larvas registran una condición corporal más baja. Estos posibles efectos de los ambientes

modificados sobre la disponibilidad de alimento y condición corporal de las larvas, pueden comprometer la persistencia de la población, debido a que el tamaño y el estado fisiológico alcanzado por los individuos, influye en su supervivencia, reproducción y reclutamiento (Wilbur 1980, Semlitsch *et al.* 1988, Gray & Smith 2005). Un estudio previo realizado con estas mismas poblaciones ha indicado que la condición corporal alcanzada por las hembras influye de manera significativa en su *output* reproductivo (Bionda *et al.* 2011). Es necesario de este modo un mayor entendimiento de aquellos factores que afectan las poblaciones y comunidades “ensambles” de anuros, ya que además se ha demostrado que la eutrofización de los cuerpos de agua por escurrentías desde los agroecosistemas, puede llevar a un incremento en la mortalidad, a una variación en el comportamiento y a una alteración de las características de las historias de vida de las larvas de anfibios (Carey & Bryant 1995, Boone & Semlicht 2001, Carr *et al.* 2003, Coady *et al.* 2005, Taylor *et al.* 2005, Peltzer *et al.* 2008). Este tipo de eventos, puede distorsionar de forma significativa los procesos de regulación natural de poblaciones y comunidades lo que puede dar lugar a una disminución local en el tiempo (Boone *et al.* 2004).

Sin embargo, teniendo en cuenta que la dieta registrada en uno de los cultivos, fue la de mayor diversidad y equitatividad, y que las larvas consumen escaso alimento, cabría preguntarse si puede existir algún motivo por el que las larvas se alimentan poco, independientemente de la disponibilidad trófica. Existe escasa documentación sobre el tema, pero el retardo en el crecimiento de algunas larvas de anuros en presencia de contaminantes, ha llevado a preguntarse si éstos pueden intervenir en la adquisición del alimento (Carey & Bryant 1995). Algunos estudios experimentales han demostrado que los fertilizantes nitrogenados, reducen la actividad de alimentación en larvas de algunas especies (Marco *et al.* 1999, Hatch & Blaustein 2000). Sin embargo, son necesarios más estudios para esclarecer este interrogante.

Este trabajo representa el primer aporte al conocimiento de la dieta de larvas de anuros en agroecosistemas del centro de Argentina. Asimismo, proponemos una nueva herramienta para el monitoreo de ambientes alterados, mediante el análisis de la dieta de estos organismos y los posibles efectos en las poblacionales en función de la disponibilidad de alimento. Por otra parte, la especie de anuro utilizada en este estudio presenta una amplia distribución en Sudamérica, sería interesante realizar estos estudios en otras regiones, para reconocer si el patrón de dieta registrado, es coincidente con otras poblaciones y/o ambientes.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y SCyT UNRC, PIP-CONICET N° 112-201001-00009. Los autores desean agradecer a dos revisores anónimos, cuyos comentarios permitieron mejorar este trabajo. Nuestro estudio fue autorizado por la Agencia Córdoba Ambiente (A.C.A.S.E.).

## RESUMEN

El crecimiento de la agricultura produce pérdida del hábitat natural, con consecuencias para la biodiversidad de los anfibios. Se analizó la dieta y condición corporal de larvas de anuros de *Rhinella arenarum* que habitan agroecosistemas. Los muestreos fueron realizados en dos agroecosistemas y en un tercer sitio, no afectado por cultivos. Las larvas capturadas fueron anestesiadas, fijadas y preservadas en formaldehído, se realizaron medidas corporales y se analizó la dieta de las larvas. Se registró diversidad en la oferta alimenticia proporcionada por los distintos ambientes. La dieta tuvo una predominancia de algas Bacillariophyceae, seguidas por Cyanophyceae. Particularmente, los géneros *Navicula*, *Nitzschia*, *Hantzschia* y *Gomphonema* (clase Bacillariophyceae), fueron importantes en los agroecosistemas. Los géneros *Osillatoria*, *Euglena* y *Strombomonas* (clases Cyanophyceae y Euglenophyceae), predominaron en la dieta de las larvas de anuros en el sitio menos alterado. Las larvas de los sitios más alterados consumen menor cantidad de alimento y registran una menor condición corporal. La presencia de determinadas algas, indicarían un mayor grado de contaminación en los agroecosistemas. La eutrofización de lagunas podría alterar la disponibilidad de alimento para larvas de anuros

que podría tener consecuencias poblacionales negativas. Se sugiere el análisis de dietas larvarias como un potencial bioindicador de salubridad ambiental.

**Palabras clave:** dieta larval, disponibilidad de alimento, condición corporal, agroecosistemas, *Rhinella arenarum*.

## REFERENCIAS

- Altig, R., M.R. Whiles & C.L. Taylor. 2007. What do tadpoles really eat? Assessing the trophic status of an understudied and imperiled group of consumers in freshwater habitats. *Freshwater Biol.* 52: 386-395.
- Attademo, A.M., P. Peltzer & R. Lajmanovich. 2005. Amphibians occurring in soybean and implications for biological control in Argentina. *Agr. Ecosyst. Environ.* 106: 389-394.
- Attademo, A.M., P. Peltzer & R. Lajmanovich. 2007. Feeding habits of *Physalaemus biligonigerus* (Anura, Leptodactylidae) from soybean field of Córdoba province, Argentina. *Russ. J. Herpetol.* 14: 1-6.
- Bagenal, T.B. & F.W. Tesch. 1978. Methods for assessment of a fish production in fresh waters, p. 101-136. In T.B. Bagenal (ed.). *Age and growth*. Blackwell, Oxford, Massachusetts, EEUU.
- Beebee, T.J.C. & R.A. Griffiths. 2005. The amphibian decline crisis: A watershed for conservation biology? *Biol. Conserv.* 125: 271-285.
- Bionda, C.L., R.C. Lajmanovich, N.E. Salas, A.L. Martino & I.E. di Tada. 2011. Reproductive Ecology of the Common South American Toad *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae): Reproductive Effort, Clutch Size, Fecundity, and Mate Selection. *J. Herp.* 45: 261-264.
- Blanco, S., L. Ector & E. Becares. 2004. Epiphytic Diatoms as water quality indicators in Spanish shallow lakes. *Vie Milieu* 54: 71-79.
- Boone, M.D. & R.D. Semlitsch. 2001. Interactions of insecticide with larval density and predation in experimental amphibian communities. *Conserv. Biol.* 15: 228-238.
- Boone, M.D., R.D. Semlitsch, J.F. Fairchild & B.B. Rothermel. 2004. Effects of an insecticide on amphibians in large-scale experimental ponds. *Ecol. Appl.* 14: 685-691.
- Bridarolli, M.E. & I.E. di Tada. 1996. Algunos aspectos de la geografía física de la provincia de Córdoba, p. 15-38. In I.E. di Tada & E.H. Bucher (eds.). *Biodiversidad de la provincia de Córdoba*. Fauna. Vol. 1. Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
- Díaz Quirós, C. & C.A. Rivera Rondón. 2004. Diatomeas de pequeños ríos andinos y su utilización como indicadoras de condiciones ambientales. *Caldasia* 26: 381-394.
- Doffo, N. 1989. Geomorfología del área urbana de la ciudad de Río Cuarto y de la cuenca del arroyo El I. Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
- Capitanelli, R.G. 1979. III. Clima, p. 45-138. In R.A. Vázquez, R.A. Miatello & M.E. Roqué (eds.). *Geografía Física de la provincia de Córdoba*. Boldt, Buenos Aires, Argentina.
- Carey, C. & C.J. Bryant. 1995. Possible interrelations among environmental toxicants, Amphibian development, and decline of Amphibian populations. *Environ. Health Persp.* 103: 13-17.
- Carr, J., A. Gentles, E.E. Smith, W. Goleman, L. Urquidi, K. Thuett, J.R. Kendall, J.P. Giesy, T.S. Gross, K.R. Solomon & G. Van Der Kraak. 2003. Response of larval *Xenopus laevis* to atrazine: assessment of growth, metamorphosis, and gonadal and laryngeal morphology. *Environ. Toxicol. Chem.* 22: 396-405.
- Cei, J.M. 1980. Amphibians of Argentina. *Monit. Zool. Ital. Monogr.* 2, Nuova Serie, Firenze, Italia.
- Coady, K.K., M.B. Murphy, D.L. Villeneuve, M. Hecker, P.D. Jones, J.A. Carr, K.R. Solomon, E.E. Smith, G. Van Der Kraak, R.J. Kendall & J.P. Giesy. 2005. Effects of atrazine on metamorphosis, growth, laryngeal and gonadal development, aromatase activity, and sex steroid concentrations in *Xenopus laevis*. *Ecotox. Environ. Safe.* 62: 160-173.
- Collins, J.P. & M. Crump. 2009. *Extinction in Our Time*. Oxford University, Nueva York, Nueva York, EEUU.
- Colwell, R.K. 1997. EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 5. User's Guide and application published. (Consultado: 22 agosto 2011, <http://viceroy.eeb.uconn.edu/estimates/>).
- Davidson, C., H.B. Shaffer & M.R. Jennings. 2002. Spatial tests of the pesticide drift, habitat destruction, UV-B, and climate-change hypotheses for California amphibian declines. *Conserv. Biol.* 16: 1588-1601.
- di Tada, I.E., M.V. Zavattieri, M.E. Bridarolli, N.E. Salas & A.L. Martino. 1996. Anfíbios Anuros de la provincia de Córdoba, p. 191-215. In I.E. di Tada & E.H. Bucher (eds.). *Biodiversidad de la provincia de Córdoba*. Fauna. Vol. 1. Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

- Bañado, algunas consideraciones aplicadas al manejo del medio natural. Tesis de grado, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
- Echeverría, D.D., A.V. Volpedo & V.I. Mascitti. 2007. Diet of tadpoles from a pond in Iguazú National Park, Argentina. *Gayana* 71: 8-14.
- Fabrizi, L. 2010. Eutrophication of water bodies introduction. Lenntech. Water treatment solutions. (Consultado: 12 agosto 2010, <http://www.lenntech.com/espanol/Eutroficacion-de-las-aguas/introduccion.htm>).
- GAA (Global Amphibian Assessment). 2004. Summary of key findings. (Consultado: 10 abril 2007, <http://www.globalamphibians.org>).
- Gosner, K.L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- Gray, M.J. & L.M. Smith. 2005. Influence of land use on postmetamorphic body size of playa lake amphibians. *J. Wildlife Manage.* 69: 515-524.
- Hatch, A.C. & A.R. Blaustein. 2000. Combined effects of UV-B, nitrate, and low pH reduce the survival and activity level of larval Cascades frogs (*Rana cascadae*). *Arch. Environ. Con. Tox.* 39: 494-499.
- Heyer, W.R. 1974. Niche measurements of frog larvae from a seasonal tropical location in Thailand. *Ecology* 55: 651-656.
- Hill, B.H., A.T. Herlihy, P.R. Kaufmann, R.J. Stevenson, F.H. McCormick & C.B. Johnson. 2000. Use of periphyton assemblage data as an index of biotic integrity. *JNABS* 19: 50-67.
- Jakob, E.M., S.D. Marshall & G.W. Uetz. 1996. Estimating fitness: a comparison of body condition indices. *Oikos* 77: 61-67.
- Jüttner, I., H. Rothfritz & S.J. Ormerod. 1996. Diatoms as indicators of river quality in the Nepalese Middle Hills with consideration of the effects of habitat-specific sampling. *Freshwater Biol.* 36: 475-486.
- Kelly, M.G., H. Bennion, E.J. Cox, B. Goldsmith, J. Jamieson, S. Juggins D.G. Mann & R.J. Telford. 2005. Common freshwater diatoms of Britain and Ireland: an interactive key. Environment Agency, Bristol, Inglaterra. (Consultado: 20 enero 2011, <http://craticula.ncl.ac.uk/EADiatomKey/html/index.html>).
- Kupferberg, S.J. 1997. The role of larval diet in anuran metamorphosis. *Am. Zool.* 37: 146-159.
- Lajmanovich, R.C. 2000. Interpretación ecológica de una comunidad larvaria de anfibios anuros. *Interciencia* 25: 71-79.
- Lüddecke, H. 2002. Variation and trade-off in reproductive output of the Andean frog *Hyla labialis*. *Oecologia* 130: 403-410.
- Magurran, A.E. 1987. Ecological diversity and its measurements. Vedral, Princeton, Nueva Jersey, EEUU.
- Marco, A., C. Quilchano & A.R. Blaustein. 1999. Sensitivity to nitrate and nitrite in pond-breeding amphibians from the Pacific Northwest. *Environ. Toxicol. Chem.* 18: 2836-2839.
- Nather Khan, I.S.A. 1990. Assessment of water pollution using Diatom community structure and species distribution. A case study in a tropical river basin. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* 75: 317-338.
- Ongley, E.D. 1997. Lucha contra la contaminación agrícola de los recursos hídricos. Cuadernos de Riego y Drenaje N 55. FAO, Roma, Italia. (Consultado: 15 septiembre 2010, <http://www.fao.org/docrep/W2598S/W2598S00.htm>).
- Peltzer, P.M., R.C. Lajmanovich, J.C. Sánchez Hernández, M. Cabagna, A.M. Attademo & A. Bassó. 2008. Effects of agricultural pond eutrophication on survival and health status of *Scinax nasicus* tadpoles. *Ecotox. Environ. Safe.* 70: 185-197.
- Perdomo, C.H., O.N. Casanova & V.S. Ciganda. 2001. Contaminación de aguas subterráneas con nitratos y coliformes en el litoral sudoeste del Uruguay. *Agrociencia* V: 10-22.
- Ramírez, C.A.M. & Y. Plata Díaz. 2008. Diatomeas perifíticas en diferentes tramos de dos sistemas lóticos de alta montaña (páramo de Santurbán, norte de Santander, Colombia) y su relación con las variables ambientales. *Acta Biol. Colomb.* 13: 199-216.
- Rossa Feres, D., J. Jim & M.G. Fonseca. 2004. Diets of tadpoles from a temporary pond in southeastern Brazil (Amphibia, Anura). *Rev. Bras. Zool.* 21: 745-754.
- Rossi, R.L. 2006. Impactos recientes de la soja en la Argentina. *Panorama productivo del cultivo. Agromercado* 129: 4-7.

- Round, F.E., R.M. Crawford & D.G. Mann. 1993. The diatoms. Biology & Morphology of the genera. Cambridge University, Cambridge, Massachusetts, EEUU.
- Semlitsch, R.D., D.E. Scott & H.K. Pechmann. 1988. Time and size at metamorphosis related to adult fitness in *Ambystoma talpoideum*. Ecology 69: 184-192.
- Shannon, C.E. & W. Weaver. 1949. The mathematical theory of communications. Universidad de Illinois, Urbana, Illinois, EEUU.
- Smol, J.P. 2002. Pollution of lakes and rivers: A paleoenvironmental perspective. Arnold, Londres, Inglaterra; copublicado por Oxford University, Nueva York, Nueva York, EEUU.
- Stuart, S.N., J.S. Chanson, N.A. Cox, B.E. Young, A.S.L. Rodrigues, D.L. Fischman & R.W. Waller. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. Science 306: 1783-1786.
- Taylor, B., D. Skelly, L.K. Demarchis, M.D. Slade, D. Galusha & P.M. Rabinowitz. 2005. Proximity to pollution sources and risk of amphibian limb malformation. Environ. Health Persp. 113: 1497-1501.
- USEPA, United States Environmental Protection Agency. 1994. National Water Quality Inventory. 1992 Report to Congress. EPA-841-R-94-001. Office of Water, Washington D.C., EEUU.
- Villafañe, V.E. & F.M.H. Reid. 1995. Métodos de microscopia para la cuantificación del fitoplancton, p. 169-185. In K. Alveal, M.E. Ferrario, E.C. Oliveira & E. Sar (eds.). Manual de Métodos Ficológicos. Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- Wake, D.B. 1998. Action on amphibians. Trends Ecol. Evol. 13: 379-380.
- Wilbur, H.M. 1980. Complex life cycle. Annu. Rev. Ecol. Syst. 11: 67-93.
- Yucra, H.A. & P.M. Tapia. 2008. El uso de microalgas como bioindicadoras de polución orgánica en Brisas de Oquendo, Callao, Perú. Biologist (Lima) 6: 41-47.