

Informe final publicable de proyecto

Determinantes naturales y antrópicos de la estructura y funcionamiento de las redes tróficas de charcos permanentes

Código de proyecto ANII: FCE_3_2020_1_162152

29/11/2023

GOBEL MAZZUCHELLI, Noelia Karen (Responsable Técnico - Científico)

ARIM IHLENFELD, Matías (Investigador)

GONZÁLEZ BERGONZONI, Iván (Investigador)

HLADKI, Ricardo (Investigador)

LAUFER GRUNVALD, Gabriel (Investigador)

LÓPEZ RODRÍGUEZ, Anahí (Investigador)

NIELL MENEGAZZI, María Silvina (Investigador)

PAIS VIMERCATTI, Joaquín (Investigador)

PEQUEÑO ACOSTA, Fiamma (Investigador)

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. CENTRO UNIVERSITARIO REGIÓN LITORAL NORTE (Institución Proponente) \\
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. CENTRO UNIVERSITARIO REGIONAL ESTE \\
MINISTERIO DE EDUCACIÓN Y CULTURA. MUSEO NACIONAL DE HISTORIA NATURAL Y ANTROPOLOGÍA \\
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. CENTRO UNIVERSITARIO REGIÓN LITORAL NORTE

Resumen del proyecto

Los charcos son pequeños ecosistemas lénticos de gran importancia global por sustentar alta biodiversidad y proveer servicios ecosistémicos. Sin embargo, resultan particularmente vulnerables al cambio global y desconocemos gran parte de su funcionamiento en nuestra región. El objetivo de este proyecto fue analizar la estructura y el funcionamiento ecológico de estos sistemas (mediante el estudio de sus redes tróficas) en charcos con bajo impacto y evaluar el impacto de dos factores del cambio global: las invasiones biológicas y la degradación del hábitat. Para esto nos centramos en amenazas que avanzan en la región, la invasión de rana toro (*Aquarana catesbiana*) y la intensificación agrícola. Mediante un diseño semi-experimental muestreamos estandarizadamente 50 charcos permanentes distribuidos en un gradiente de invasión de la rana toro (n=29), y un gradiente de agricultura en las cuencas (n=21). De cada comunidad analizamos su estructura comunitaria y redes tróficas (a través de isótopos estables y contenido estomacal de los consumidores), cuya variación es contrastada con variables ambientales y del gradiente de impacto. En los sistemas naturales variables locales como la profundidad, tamaño y heterogeneidad, así como el grado de aislamiento a nivel de paisaje determinaron la estructura de las comunidades y la conformación de las redes tróficas, mediado por la riqueza y abundancia de peces. Los sistemas impactados se caracterizaron por una respuesta negativa en el ensamble de anfibios y por una pérdida de redundancia trófica, atributo clave en la estabilidad de los ecosistemas. Nuestros resultados indican que la biodiversidad en estos sistemas depende del mantenimiento de la heterogeneidad en atributos locales y de paisaje, y que los factores de cambio analizados impactan sobre el funcionamiento de las comunidades de charcos.

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Ecología / Ecología de comunidades

Palabras clave: redes tróficas / charcos / comunidades /

Introducción

La pérdida de biodiversidad global caracteriza al Antropoceno (Rockström et al. 2009), con una magnitud y tasa de extinción de especies sin precedentes históricos (Barnosky et al. 2011). El cambio en el uso de la tierra representa la primera causa de dicha pérdida. La fragmentación y destrucción de ecosistemas degrada el hábitat, extinguiendo especies (Sala et al. 2000). La segunda causa son las invasiones biológicas (Sala et al. 2000; Gallardo et al. 2016); una serie de especies no nativas que arriban a nuevas comunidades fuera de sus rangos de distribución históricos, afectando a la biodiversidad nativa mediante depredación, competencia y transmisión de enfermedades, entre otros factores (Neill and Arim 2011). En orden de magnitud, luego se encuentran la sobreexplotación, los contaminantes químicos, el cambio climático y las enfermedades infecciosas, actuando incluso sinérgicamente en ciertas ocasiones (Sala et al. 2000; Kovalenko 2019).

En el contexto de esta crisis, determinados ecosistemas han llamado la atención de investigadores y gestores por su rol de sustento de la biodiversidad a escala local y global. Entre estos, resaltan pequeños sistemas lénticos (< 5 ha de superficie) naturales o artificiales, comúnmente denominados "charcos" o "tajamares", por su gran importancia biológica a nivel de paisaje y por su uso socio-económico (Oertli et al. 2005), que los hacen proveedores de servicios ecosistémicos esenciales (Son et al. 2014). Por ejemplo, juegan un rol preponderante en el ciclo de carbono, debido a que procesan grandes cantidades de carbono del suelo y la atmósfera (Downing et al. 2008). A escala regional, los charcos albergan una gran biodiversidad, muchas veces con especies únicas, resultando fundamentales como sitios de reproducción y forrajeo de numerosos vertebrados e invertebrados (Thiere et al. 2009). Sin embargo, estos sistemas resultan particularmente vulnerables a la degradación de su estructura y su funcionamiento ecológico por varias causas del cambio global (Nicolet et al. 2007). Nuestro país no escapa al fenómeno de degradación y pérdida de biodiversidad, siendo la introducción de especies no nativas invasoras (ENNI) y el avance e intensificación agrícola (IA) dos de las principales amenazas que afectan a los ecosistemas. Los charcos resultan altamente vulnerables a las ENNI por sufrir una fuerte presión de propágulos (Gallardo et al. 2016). En Uruguay una de las ENNI priorizadas por el Comité Nacional de Especies Exóticas Invasoras (MVOTMA), es la rana toro (*Aquarana catesbeiana* = *Lithobates catesbeianus*) que invade estos charcos como sitios de reproducción y forrajeo (Kraus 2009; Aber et al. 2012). Esta especie originaria de Norteamérica, ha invadido diferentes regiones del globo (Kraus 2009) y fue introducida en Uruguay para acuicultura (Laufer et al. 2018). Hasta la fecha, se han reportado tres poblaciones establecidas en Maldonado, Cerro Largo y Canelones. En estos ecosistemas, la rana toro afecta la diversidad, abundancia y la distribución de tallas de las especies nativas, siendo los anfibios y peces los grupos más afectados (Laufer et al. 2008; Laufer and Gobel 2017; Gobel et al. 2019a, b).

Los charcos resultan fuertemente afectados por el cambio del uso de la tierra, ya que actúan como receptores primarios de contaminantes, nutrientes y disturbios del paisaje agrícola periférico (Declerck et al. 2006). Dichas prácticas generan una pérdida de heterogeneidad ambiental a múltiples escalas y causan una reducción del carbono orgánico del suelo, así como un aumento de la erosión y de la concentración de agroquímicos, afectando finalmente a la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos (Benton et al. 2003; Modernel et al. 2016). Por ejemplo, el aumento en la carga de nutrientes (i.e. eutrofización) provoca un incremento en la productividad primaria (Withers et al. 2014), con probadas alteraciones sobre las vías de entrada y ciclado de materia y energía, y sobre la estructura de las comunidades y sus interacciones ecológicas (Vadeboncoeur et al. 2003). Asimismo, la presencia de residuos de pesticidas en agua es un problema ambiental, con alteraciones en la sobrevivencia, crecimiento y desarrollo de numerosas especies, afectando diferentes niveles tróficos y el ciclado de materia y energía en la red (Hu et al. 2010; Agostini et al. 2013). Uruguay no es ajeno a esta realidad, con registros de pesticidas concentrados en tejidos animales y en sistemas naturales (Ernst et al. 2018; Soutullo et al. 2020).

Estas problemáticas resaltan la necesidad de comprender el funcionamiento biológico integral de los charcos y como resulta afectado por los distintos forzantes del cambio global (Oertli et al. 2005; McCann 2007). Un abordaje de análisis de redes ecológicas—como lo son las redes tróficas—resulta una excelente herramienta para dicho propósito (Simberloff 2004; McCann 2007). Las redes tróficas son descripciones de las comunidades enfocadas en las interacciones entre los recursos basales y todas las especies (de Ruiter et al. 2005). Entre los atributos naturales que determinan la estructura y funcionamiento de una red trófica, se han postulado como fundamentales al área y productividad del ecosistema, así como su conectividad (Post 2002; Leibold et al. 2004).

Existen hipótesis que relacionan el área y productividad con el largo de cadena trófica, mediado por un incremento en la diversidad y heterogeneidad ambiental (Post 2002; Thompson and Townsend 2005; Arim et al. 2007). La hipótesis energética plantea que un aumento en la disponibilidad de recursos basales incrementaría el largo de cadena, ya que las bajas eficiencias de transferencia entre niveles tróficos, limitan la energía disponible para soportar los niveles superiores (Pimm 1982; Post 2002). La hipótesis del tamaño ecosistémico afirma que el incremento del tamaño del ecosistema aumenta la riqueza de especies, la disponibilidad y heterogeneidad de hábitats con un subsecuente aumento de la especialización trófica, lo que sustentaría mayores posiciones tróficas en la red (Post et al. 2000).

En el marco de la ecología de metacomunidades, la conectividad resulta clave en la diversidad y estabilidad de la red (Leibold et al. 2004; Mougi and Kondoh 2016). El flujo de individuos permite incrementos en la riqueza de especies por efecto de masa o disminuciones por favorecer la colonización de especies dominantes (depredadores, competidores) (Leibold et al. 2004; Borthagaray et al. 2015). Por ejemplo, la conectividad determina la presencia de peces (de Macedo-Soares et al. 2010; Borthagaray et al. 2015), que estructuran fuertemente la comunidad de los charcos, excluyendo a múltiples especies (e.g. González-Bergonzoni et al. 2014).

Otro aspecto clave del funcionamiento y estabilidad de estos ecosistemas está en los subsidios tróficos externos (alóctonos), los cuales sustentan una proporción importante de la biomasa por la vía de los detritos (Arim et al. 2010; Earl and Semlitsch 2013). Esta vía se caracteriza por su alta diversidad y número de cadenas, baja velocidad de flujo e interacciones débiles. Esto contrasta con la estructura de la vía de los productores, caracterizada por lo opuesto (Rooney and McCann 2012a). La integración de estas vías energéticas por los depredadores tope de gran tamaño corporal, estabilizaría las comunidades (Rooney et al. 2006; Ward et al. 2015). Si los procesos de extinción o invasión de especies afectan desproporcionadamente a una de estas vías, o los flujos de energía las afectan de manera desigual, se espera una alteración en la estructura y funcionamiento de toda la red. Estos grandes enfoques ecológicos permiten comprender la estructura y funcionamiento de una comunidad, resultando una herramienta clave para evaluar los cambios generados durante la incorporación de una ENNI o procesos asociados a la degradación de hábitats (Kovalenko 2019).

El objetivo general de este proyecto fue analizar el funcionamiento ecológico de charcos mediante el estudio de sus tramas tróficas, determinado los principales factores (naturales y antrópicos) forjadores de patrones. Como abordaje local, consideramos dos zonas con predominancia de diferentes amenazas a la biodiversidad, las invasiones biológicas (utilizando la invasión de rana toro como modelo) y el cambio en el uso del suelo (investigando efectos de la intensificación agrícola en el litoral nor-oeste). Es así que nos planteamos tres objetivos específicos con su hipótesis asociada.

Objetivo 1: Caracterizar la estructura y funcionamiento de las redes tróficas en charcos permanentes con bajo impacto antrópico relativo, y los atributos estructurales y ecológicos que las determinan.

Hipótesis 1: Las características estructurales y ecológicas de los charcos condicionan la topología de la red trófica. Es así que variables como el área y/o la productividad, condicionan los tamaños poblaciones, el número de interacciones y el largo de cadena trófica. Además, la conformación espacial del sistema, su heterogeneidad y área, puede afectar la tasa de encuentro depredador-presa (determinado la posibilidad de coexistencia), y su especialización trófica (por incremento en la riqueza de recursos). Finalmente, la conectividad del sistema afecta el flujo, condicionando la dinámica de

colonización-extinción local, afectando al número de especies. Debido a estos mecanismos, los charcos que presentan mayor área, productividad, heterogeneidad y conectividad presentan tramas tróficas más largas, diversas y complejas.

Objetivo 2: Avanzar en la comprensión fina de los mecanismos que explican cambios en la estructura comunitaria observada en charcos invadidos por rana toro.

Hipótesis 2: La rana toro se inserta en las redes actuando como dos trofoespecies. El adulto como depredador tope que acopla las vías energéticas y la larva afectando la vía de los detritos. La alta depredación de los adultos en un amplio rango de tamaños corporales y grupos funcionales disminuye la diversidad y complejidad del sistema (e.g. menor largo, redundancia y conectancia). Por otro lado, las larvas son importantes consumidores de detritos, canalizando un importante flujo de energía en esta vía, lo cual, combinado a los altos niveles de bioturbación, amplifican la vía detritívora en las redes tróficas. Esto determina la utilización y disponibilidad de más recursos, sustentando una mayor biomasa de consumidores secundarios detritívoros, y aumentando la biomasa relativa de los consumidores generados a partir de los detritos conforme aumenta el grado de invasión en los charcos.

Objetivo 3: Evaluar los cambios en la estructura y el funcionamiento de las redes tróficas asociados al uso del suelo agrícola.

Hipótesis 3: Los charcos insertos en una matriz de agricultura intensiva experimentan una degradación de hábitats por el uso de agroquímicos, entre otros, afectando negativamente al pool de especies sensibles. Esta pérdida de biodiversidad y alteración de hábitat, genera redes tróficas más simples (e.g. menor largo, diversidad y número de interacciones) conforme aumenta el impacto agrícola. Por otro lado, el aumento en la carga de nutrientes -eutrofización- (escorrentía de sistemas agrícolas fertilizados), determina una amplificación de la vía de los productores primarios (autóctonos), a consecuencia del incremento de su biomasa.

Metodología/diseño del estudio

Diseño de estudio

Para poner a prueba las hipótesis planteadas trabajamos analizando la estructura de las comunidades (patrones de riqueza y abundancias), e integrando dos abordajes metodológicos que permiten caracterizar la red trófica de cada charco, aplicando las metodologías de isótopos estables y análisis de contenido estomacal (Nielsen et al. 2018). Nos centramos en la asociación de detalladas métricas tróficas y comunitarias, con una adecuada caracterización ambiental de sistemas de charcos en Aceguá, con gradiente de invasión de rana toro, y en Paysandú, con gradiente de intensificación agrícola. Los datos de los sistemas menos impactados de ambas localidades, se utilizaron para estudiar los determinantes naturales de las redes tróficas.

Aceguá está ubicada en Cerro Largo, en la frontera norte con Brasil. Es una zona de paisaje serrano, de uso ganadero extensivo y escasa agricultura, con alta biodiversidad (Grattarola et al. 2020), donde existe una población silvestre de rana toro (reportada en 2007), que en 2012 comenzó su expansión, y a la fecha lleva 36 charcos invadidos (Laufer et al. 2018). En esta localidad, seleccionamos y muestreamos en noviembre de 2020, 29 cuerpos de agua, 15 invadidos por rana toro.

El litoral oeste de Uruguay ha experimentado una fuerte expansión de la frontera agrícola intensiva en los últimos 20 años (Baldi and Paruelo 2008), siendo la zona del país con mayor reemplazo de ecosistemas naturales. En esta zona, seleccionamos y muestreamos en noviembre de 2021, 21 cuerpos de agua, ubicados en las inmediaciones de la localidad de Constanza, departamento de Paysandú. De los 21 charcos muestreados, siete están insertos en campo natural, siete en praderas implantadas y siete en cultivos anuales intensivos.

La selección de sitios a muestrear en cada localidad siguió un minucioso análisis previo. Para el caso de Aceguá, a partir de la base de datos de muestreos previos del Proyecto Rana Toro en Uruguay, se realizaron análisis multivariados de variables comunitarias y fisicoquímicas de los charcos, de manera de seleccionar sistemas comparables, dentro del gradiente de invasión de rana toro. Para Paysandú realizamos un muestreo piloto en agosto de 2021 donde hicimos una caracterización morfológica, fisicoquímica (incluyendo nutrientes) y comunitaria de 38 cuerpos de agua. Además, a cada uno de estos sistemas se les determinó el área de drenaje mediante el software ArcGISPro (ESRI) y a través de las plataformas de GoogleEarth Engine evaluamos la variación en NDVI y el uso del suelo en los últimos 20 años. Con esta información, seleccionamos 21 sistemas comparables, distribuidos en campo natural, praderas y cultivos.

Metodología de campo y laboratorio

En cada charco medimos los diámetros húmedos para determinar su superficie. Para estimar heterogeneidad tomamos 10 medidas de profundidad y estimamos de forma visual los tipos de conformación de borde de cada charco. Asimismo, para determinar la productividad estimamos de forma visual el porcentaje de cobertura vegetal y medimos la fluorescencia como proxy de concentración de clorofila a. Simultáneamente medimos diferentes parámetros fisicoquímicos.

Para los análisis de isótopos estables tomamos muestras de las diferentes fuentes basales mediante colecta manual

(vegetación terrestre, material vegetal en descomposición, heces de vaca y algas filamentosas), lavado de macrófitas (epifiton) y corer (sedimento). Utilizando un filtro de 68µm de malla, filtramos 20 L de agua para extraer una muestra de zooplancton. Los consumidores fueron muestreados de manera estandarizada mediante la colocación de una nasa por charco durante 12 horas y un arrastre de red de entre 8 y 10 m. En caso de necesitar un mayor número de individuos, complementamos con pasadas de calderines en zonas específicas (i.e. plantas). Finalmente, obtuvimos muestras de depredadores colectados estandarizadamente en las nasas, mediante espineles (que también estuvieron colocados durante 12 horas) y la colecta manual nocturna de anfibios. Las muestras para las pruebas de isotopos se conservaron a -20°C y para estructura comunitaria y contenido estomacal en formol.

Caracterizamos las variables representativas de los forzantes en cada localidad. En Aceguá medimos la densidad de larvas y adultos de rana toro y en Paysandú muestreamos agua para analizar la concentración de nutrientes, clorofila a y pesticidas. En este último, colectamos cinco ejemplares de odonatos y peces depredadores (i.e. tarariras y anguilas) para análisis de residuos de pesticidas en tejidos.

Para determinar el aislamiento-centralidad de cada cuerpo de agua elaboramos la red de charcos utilizando teoría de grafos y partiendo de las capas disponibles en la IDE (Minor and Urban 2008; Borthagaray et al. 2014). Delimitamos cada zona (una por localidad) considerando un buffer de los charcos muestreados y luego establecimos el peso de las conexiones, como el inverso de la distancia euclidiana entre cada charco (nodo). A partir de esta red, determinamos la centralidad de grado, la cual estandarizamos para los análisis para corregir posibles diferencias entre las localidades muestreadas.

Análisis de laboratorio

Isótopos estables—Las muestras de recursos basales y zooplancton (aislando copépodos y cladóceros) fueron procesadas bajo lupa binocular, removiendo restos de otros organismos. Los macroinvertebrados fueron identificados (mayormente en géneros), medidos, y se removieron sus partes duras. Los renacuajos y peces fueron pesados, medidos, y se determinó el estadio de desarrollo de renacuajos, para finalmente extraer tejidos de músculo. Los anfibios adultos, tortugas y grandes peces fueron medidos y pesados en campo, donde se les extrajo tejido, que luego se procesó de igual forma. Posteriormente, cada una de las 1697 muestras fue secada (60°C-72 hs.), pesada (fraccionando y empacando entre 0,1 a 5 mg en cápsulas de estaño), acondicionadas y enviadas a los laboratorios de CSI, Universidad de Nuevo México y SIF del UC Davis, EEUU.

Contenido estomacal—Seleccionamos 5 individuos por especie, por charco, de peces y anfibios adultos para extraerles el contenido estomacal e identificarlo bajo lupa binocular (Domínguez and Fernández 2009). Cada ítem presa fue contabilizado, medido y pesado.

Estructura comunitaria—Los ejemplares colectados a través de métodos estandarizados (renacuajos, peces y macroinvertebrados) fueron determinados al mayor nivel taxonómico posible (especie en vertebrados y género o familia en invertebrados), contabilizados y pesados. A una submuestra de treinta individuos de cada especie por charco se les realizó mediciones, obteniendo las mismas variables morfológicas descritas arriba. A partir de estas mediciones, contamos con una base de datos de abundancias, biomasa, estructura de tamaños corporales y desarrollo (en renacuajos) en cada charco.

Análisis de pesticidas—El análisis de residuos de pesticidas en las muestras de agua (analizando la presencia de 121 compuestos), se realizó mediante inyección directa en un sistema de cromatografía líquida acoplado a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) (Pareja et al. 2011). El análisis de residuos de pesticidas en ninfas de odonatos (74 compuestos) y peces (94 compuestos) se llevó a cabo utilizando una metodología validada de tipo QuEChERS miniaturizado para la preparación de muestras y su posterior determinación por LC-MS/MS y GC-MS/MS (Jesús et al. 2018).

Análisis de datos

Para cada comunidad estimamos indicadores de nicho trófico usando datos de isotopos estables y de la dieta de los depredadores tope. Como métricas de nicho isotópico calculamos las métricas de Layman y las áreas de elipses bayesianas utilizando el paquete de R SIBER. Estas métricas dan cuenta de distintos atributos de las redes tróficas como el grado de diversidad trófica (área Convex Hull), el largo de cadena trófica (rango de nitrógeno), la diversidad de fuentes (rango de carbono), la redundancia trófica dentro de la red (distancia al vecino más cercano), y la equitatividad de dicha redundancia (desvío estándar de la distancia al vecino más cercano) (Layman et al. 2007; Jackson et al. 2011). Debido a que recientemente culminamos los análisis de contenido estomacal, tenemos pendiente para los próximos meses el cálculo de las métricas de nicho alimenticio. Estimaremos dichas métricas mediante análisis de grafos basados en matrices de dieta (Csardi and Nepusz 2006; Dormann et al. 2009; Lawrence et al. 2020). Además, estimamos las proporciones de biomasa proveniente de cada vía energética (autóctona vs alóctona) mediante modelos de mezcla bayesianos con el paquete de R SIAR. Estos modelos utilizan los valores isotópicos de d13C y d15N de las fuentes y consumidores, así como su tasa de fraccionamiento, para estimar la proporción más probable de biomasa generada a partir de las distintas

fuentes disponibles (Parnell et al. 2013). Finalmente, obtendremos la riqueza de cada ensamble (macroinvertebrados, peces y renacuajos) para cada charco utilizando el paquete iNEXT, estandarizados por tamaño de muestra (Hsieh et al. 2014), para poder hacer comparaciones robustas entre tipos de sistemas.

Modelos estadísticos

Objetivo 1—Seleccionamos variables ambientales que no mostraron correlaciones significativas superiores a $|0,7|$: área del charco, profundidad máxima, cobertura de macrófitas, heterogeneidad de borde y centralidad de grado (Zuur et al. 2011). Para evaluar el patrón general de estructura comunitaria de charcos con bajo impacto ($N=20$, 7 de Paysandú y 13 de Aceguá), realizamos un Análisis de Componentes Principales (PCA) considerando la abundancia y riqueza de especies de cada ensamble. Para este análisis, utilizamos abundancias corregidas por el esfuerzo de muestreo (volumen de agua filtrada para el zooplancton y distancia de arrastre para los otros ensambles). De este análisis, extrajimos los valores de las proyecciones en los ejes 1 y 2 del PCA para cada charco.

Para examinar qué variables ambientales determinaron la estructura de las comunidades y las redes tróficas de cada charco, aplicamos un procedimiento de selección de modelo automático a cada variable de respuesta utilizando la función `drop1` del paquete `lme4`, hasta alcanzar un modelo con un máximo de dos variables explicativas. Además, todos los modelos incluyeron la variable región para tener en cuenta posibles variaciones asociadas con los dos conjuntos de charcos estudiados. Se ajustaron modelos lineales para variables continuas (proyecciones de los ejes del PCA de estructura comunitaria, elipses y métricas Layman). Para las variables de conteo (abundancias y riqueza de especies), consideramos modelos con una distribución binomial negativa. Para los modelos de abundancia, el esfuerzo de muestreo se incluyó como `offset` (Zuur et al. 2007; Inchausti 2023).

Objetivo 2—Para evaluar los efectos de la invasión de rana toro en las comunidades de los charcos clasificamos los sistemas de Aceguá según un gradiente de invasión: charcos no invadidos (0), charcos con baja densidad de rana toro (1), charcos con densidad media de rana toro (2) y charcos con altas densidades de rana toro (3). Mediante modelos lineales generalizados con distribución binomial negativa evaluamos si la riqueza y abundancia de los diferentes ensambles comunitarios variaron según el gradiente de invasión. Además, mediante análisis bayesianos comparamos entre estas categorías de invasión tres métricas de nicho isotópico que dan cuenta del largo y ancho de la red, así como de su redundancia trófica. Finalmente, para un set de charcos, evaluamos la relación entre la posición trófica máxima ($\sim 15N$) y el acoplamiento de fuentes energéticas ($\sim 13C$) mediante una regresión cuartil, considerando el efecto de la invasión de rana toro. Además, mediante modelos lineales evaluamos la proporción de biomasa a nivel individual de macroinvertebrados y peces y su relación con la invasión de rana toro y con su tamaño corporal (metodología detallada en Gobel et al. 2023).

Objetivo 3—En primer lugar, comparamos los resultados obtenidos de concentración de nutrientes, clorofila *a*, cobertura de macrófitas (como proxy de eutrofización) y concentraciones de pesticidas en las diferentes matrices según el uso del suelo mediante ANOVAs. Asimismo, analizamos mediante modelos lineales generalizados con distribución binomial negativa si la riqueza y abundancia de los diferentes ensambles comunitarios variaron según el uso del suelo. Finalmente, mediante análisis bayesianos comparamos entre estas categorías de uso tres métricas de nicho isotópico que dan cuenta del largo y ancho de la red, así como de su redundancia trófica. Todos los análisis se realizaron en el software R, considerando un alfa de 0,05 (R Core Team 2023).

Resultados, análisis y discusión

Objetivo 1—Observamos un marcado patrón de estructura comunitaria: el primer eje PCoA, explicando el 48% de la varianza, separó los charcos con mayores abundancias de zooplancton, invertebrados y renacuajos, así como una mayor riqueza de especies de renacuajos, de los dominados por peces (con mayor abundancia y riqueza específica). Por el contrario, el segundo eje PCoA, explicando el 20% de la varianza, separó los charcos con mayor riqueza de especies de invertebrados de los dominados por peces (Figura 1).

El modelo seleccionado para explicar la variación en la estructura comunitaria (PC1) incluyó la profundidad máxima ($F=9,1$; $P=0,01$) y cobertura de macrófitas ($F=5,6$; $P=0,04$). Si bien la profundidad máxima afectó negativamente a las comunidades dominadas por anfibios e invertebrados, la cobertura de macrófitas se relacionó positivamente con dicho eje (Figura 2). Por otro lado, el eje de diversidad de macroinvertebrados (PC2) mostró una asociación negativa con la centralidad de grado ($F=5,8$; $P=0,03$). Los charcos más aislados estuvieron asociados a una mayor riqueza de macroinvertebrados, mientras que los más centrales estuvieron asociados con la riqueza y abundancia de peces (Figura 2).

Al evaluar los determinantes de la abundancia y riqueza de cada ensamble (zooplancton, macroinvertebrados, peces y renacuajos) de forma independiente, la cobertura de macrófitas mostró una asociación positiva con la abundancia de zooplancton, macroinvertebrados y renacuajos (Figura 3). Por otro lado, los modelos también retuvieron la variable

profundidad máxima, con un efecto negativo en la abundancia y riqueza de renacuajos, así como en la abundancia de macroinvertebrados, y con un efecto positivo en la abundancia y riqueza de peces. Además, la centralidad de grado afectó positivamente a la abundancia y riqueza de peces (Figura 3).

El área del charco fue la única variable retenida para explicar la diversidad de recursos (rango de Carbono; $F=5,0$; $P=0,04$) y el largo de cadena trófica (rango de Nitrógeno; $F=7,6$, $P=0,01$). Si bien el largo de cadena aumentó con el área, la diversidad de recursos asimilados disminuyó. Por otro lado, el promedio de la diversidad trófica (CD), el espaciamiento trófico (NND) y heterogeneidad del espaciamiento trófico (SDNND) mostraron una relación negativa con la centralidad de grado (Figura 4; $CD:F=15,8$; $P=0,001$; $NND:F=5,4$; $P=0,03$; $SDNND:F=6,1$; $P=0,03$). Aunque el área de las elipses bayesianas para toda la red no mostró relaciones significativas con ninguna variable, las SEAb del ensamble de anfibios mantuvieron una relación positiva con la cobertura de macrófitas ($F=7,7$; $P=0,02$). En los demás ensambles no encontramos asociación entre el nicho isotópico y las variables ambientales.

Nuestras observaciones resultaron congruentes con los patrones conocidos de estructura comunitaria de los charcos, ocurriendo sistemas dominados por peces y sistemas dominados por renacuajos, invertebrados y zooplancton (Hecnar and M'Closkey 1998; Holbrook and Dorn 2016). La profundidad fue determinante de la variación del patrón de estructura comunitaria (PC1) y de la ocurrencia de peces. Si bien nuestro trabajo se centró en charcos permanentes, es importante reconocer que, ante condiciones extremas, algunos charcos con profundidades medias y bajas pueden llegar a secarse, siendo no óptimos para los peces. Además, la cobertura de macrófitas mantuvo una asociación con el PC1 de estructura comunitaria y con las abundancias de los ensambles de zooplancton, macroinvertebrados y renacuajos. La presión de depredación de los peces se vería atenuada por la heterogeneidad ambiental; las macrófitas funcionarían como refugios. Por otro lado, las macrófitas funcionan como sustrato para el perifiton, recurso que sustenta buena parte de la comunidad (Montaña et al. 2019; Wolters et al. 2019). De hecho, nuestras observaciones reportan un incremento en el nicho trófico de los renacuajos conforme aumenta la cobertura de plantas.

Siguiendo nuestra hipótesis y evidencia previa, el área del charco determinó el largo y ancho de las redes tróficas (Takimoto and Post 2013). Los sistemas de mayor tamaño presentan una alta productividad neta y permiten una mayor coexistencia de especies, facilitando la presencia de grandes depredadores (Thompson and Townsend 2005), en este caso, los peces. Por otro lado, los sistemas mayores presentaron menor diversidad de recursos, probablemente por dos mecanismos. Por un lado, un incremento en la relación área/perímetro del charco, centraría el flujo de nutrientes hacia la vía pelágica, reduciendo el consumo litoral (Eloranta et al. 2015). Por otro lado, la potencial influencia de los peces depredadores restringiendo la diversidad de recursos al resto de la comunidad (González-Bergonzoni et al. 2014).

Un aspecto novedoso, fue la incorporación de la perspectiva metacomunitaria, ya que los peces no siguieron un patrón aleatorio en el paisaje, sino que sus mayores riquezas y abundancias se observaron en los charcos centrales. Consecuentemente, ciertas especies quedarían restringidas a los charcos periféricos (Cadotte 2006). Es así que la riqueza de macroinvertebrados (muchos tienen dispersión por aire) fue mayor en los sistemas más aislados. A nivel de las redes tróficas, estos charcos más periféricos se caracterizaron por mayor diversidad trófica promedio (CD), mayor espaciamiento trófico (NND) y mayor heterogeneidad de dicho aislamiento (SDNND). Seguramente, la mayor diversidad de invertebrados contribuye a esta diversificación trófica en los sistemas periféricos. Actualmente nos encontramos redactando un artículo científico con estos resultados, titulado "Fish mediate the local and landscape food web architecture in permanent ponds".

Objetivo 2—Al analizar los patrones de estructura comunitaria, ninguno de los grupos (macroinvertebrados, peces y renacuajos) presentó diferencias en la riqueza específica asociada a la invasión de rana toro. En cambio, si encontramos efectos en sus abundancias asociados al gradiente de invasión. Los charcos con mayor intensidad de invasión presentaron abundancias de peces ($ResDev=259$; $P<0,001$) e invertebrados ($ResDev=261$; $P<0,001$) mayores, mientras que tuvieron abundancias menores de renacuajos nativos ($ResDev=278$; $P<0,001$) y zooplancton ($ResDev=706$; $P<0,001$; Figura 5).

En cuanto a las métricas de nicho trófico, realizamos comparaciones entre los niveles de invasión en el marco bayesiano, donde se considera que hay diferencias entre los grupos, si la probabilidad de diferencias es mayor al 90%. Las redes de los sistemas más invadidos (categoría de invasión 2 y 3) presentaron mayor diversidad de recursos que los no invadidos o con baja invasión. El largo de cadena fue mayor en los niveles intermedios de invasión (categorías 1 y 2) y el espaciamiento trófico fue mayor en todos los sistemas invadidos (Figura 6).

En referencia a los orígenes del carbono asimilado en la red, en nuestra reciente publicación en *Biological Invasions*, reportamos que el patrón de integración de las vías energéticas por los depredadores en altas posiciones tróficas fue un atributo de las redes que se mantuvo en los sistemas luego de la invasión. Los adultos de rana toro presentaron allí altas posiciones tróficas, integrando la vía de los productores y de los detritos (Figura 1, Gobel et al. 2023). Por otro lado, la importancia relativa de la vía de los productores primarios y detritos asimilados en los invertebrados y peces tuvieron

cambios de acuerdo a la invasión. Mientras que los invertebrados tuvieron mayor consumo de la vía de los productores, los peces presentaron mayor consumo de la vía de los detritos en los charcos invadidos (Figura 2, Gobel et al. 2023). Además, en el caso de los peces, observamos un incremento de la asimilación de la vía detritívora conforme aumenta su tamaño corporal (Figura 4, Gobel et al. 2023).

Observamos importantes cambios a nivel comunitario y de redes tróficas, luego de la invasión de rana toro. Los patrones de estructura comunitaria, resultaron congruentes con nuestras observaciones previas que mostraban una relación positiva con el ensamble de peces, reflejada en mayores abundancias en los sistemas invadidos (Laufer et al. 2008; Gobel et al. 2019a). Por el contrario, el zooplancton y los renacuajos nativos mostraron menores abundancias en los charcos invadidos. Dicho efecto negativo podría tener una interacción o estar potenciado por las mayores abundancias de peces (resultados objetivo 1) en los charcos invadidos. El efecto sobre los renacuajos nativos también resultó congruente con nuestras observaciones previas (Gobel et al. 2019a; Laufer et al. 2023).

La relación positiva con el ensamble de peces podría deberse a una posible liberación de recursos. Por un lado, observamos una mayor diversidad de recursos en los charcos invadidos (Rango de Carbono, Figura 6), y por otro, observamos un mayor consumo de la vía de los detritos de los peces que co-existían con rana toro. Posiblemente, las importantes biomásas que ocupan las larvas de rana toro, que también se asociaron a esta vía, sean las mediadoras de dicha liberación de recursos (Gobel et al. 2023). Finalmente, la integración de las vías energéticas, se mantuvo invariante ante la invasión, lo que es considerado clave en la estabilidad de los flujos energéticos (Rooney and McCann 2012b). Sin embargo, los sistemas invadidos tuvieron mayor espaciamiento trófico, es decir menor redundancia, atributo que confiere estabilidad y resiliencia a perturbaciones, al ocurrir un mayor número de especies con las mismas funciones (Sanders et al. 2018).

Objetivo 3—Detectamos la presencia de 14 pesticidas en agua, siendo los herbicidas Atrazina y Metolaclor los más persistentes, registrándose en todos los sistemas analizados (Figura 7), incluso en los sistemas insertos en campo natural (toda su área de drenaje se ubica en campo natural y no han sufrido cambios en su uso en los últimos 20 años). Detectamos además varios insecticidas (Cipermetrina, Lambda-Cialotrina y Clorpirifos) con concentraciones por encima del nivel umbral de toxicidad crónica para peces e invertebrados en charcos ubicados en cultivos y en campo natural (Figura 8). Algunos de estos compuestos son utilizados como fármacos veterinarios, lo que posiblemente explique su ocurrencia en los tajamares de pastizales con ganadería. Además, detectamos la presencia de dos compuestos (Clomazone y Metolaclor) en larvas de odonato y 20 en músculo de peces depredadores (tarariras y anguilas). Entre los compuestos detectados en peces, Ciproconazole, Boscalid, Metolaclor y Methidation fueron los que mostraron mayores concentraciones (Figura 9), y el Metolaclor también fue el más frecuente. Estos resultados de bioacumulación muestran la integración de dichos compuestos en la red trófica. Las variables de productividad y la concentración de pesticidas no aparecieron asociadas al uso del suelo. Si bien la concentración de clorofila a aumentó en los charcos insertos en cultivos anuales, no detectamos diferencias significativas ($F=1,5$; $P=0,2$). De la misma forma, tampoco encontramos diferencias en la cobertura de macrófitas ($F=1,0$; $P=0,4$) ni en las concentraciones de nitrógeno total ($F=0,6$; $P=0,5$).

Las abundancias de zooplancton, la riqueza y la abundancia de peces no mostraron diferencias asociadas al uso del suelo. Los macroinvertebrados presentaron abundancias significativamente mayores en los charcos con cultivos (ResDev=18; $P=0,03$), mientras que la riqueza (ResDev=18; $P=0,03$) y abundancia (ResDev=163; $P< 0,01$; Figura 10) de renacuajos fue menor en estos sistemas.

También realizamos comparaciones de nicho trófico entre los tipos de uso de suelo en el marco bayesiano, buscando diferencias mayores al 90%. Las redes de los sistemas insertos en cultivos anuales intensivos presentaron mayor diversidad de recursos que los charcos ubicados en campo natural y en praderas implantadas (Figura 11). El largo de cadena fue menor en cuerpos de agua ubicados en praderas, sin diferencias entre campo natural y cultivos anuales. Finalmente, el espaciamiento trófico fue mayor en los sistemas de cultivos que en los charcos ubicados en praderas o campo natural (Figura 11).

Considerando la estructura de las comunidades, encontramos un decremento en la riqueza y abundancia de renacuajos en los charcos insertos en cultivos. Este resultado es congruente con los impactos de estas prácticas reportados en la literatura a nivel mundial y de nuestra región (e.g. Agostini et al. 2020; Gobel et al. 2022). A nivel de la red trófica, los sistemas insertos en cultivos presentaron mayor diversidad de recursos, posiblemente asociados al ingreso de material vegetal desde los cultivos. Finalmente, las redes de estos sistemas tuvieron mayor espaciamiento trófico, es decir menor redundancia, atributo de las redes asociado con una menor estabilidad y resiliencia frente a perturbaciones (Sanders et al. 2018).

Conclusiones y recomendaciones

Los cambios abordados en nuestro estudio son un tema crucial para Uruguay. Nuestros resultados ponen de manifiesto el

impacto significativo de las alteraciones antropogénicas en los ecosistemas de charcos y sus redes tróficas. La invasión de la rana toro y el cambio en el uso de la tierra han desencadenado cambios notorios en la estructura y el funcionamiento de las comunidades acuáticas, lo que plantea desafíos significativos para la ecología y la conservación de estos ecosistemas. Una de las consecuencias más preocupantes de estas alteraciones es la pérdida de redundancia en las redes tróficas. Este fenómeno resulta común a ambos forzantes de cambio y tiene profundas implicaciones, ya que las comunidades se vuelven menos capaces de adaptarse y recuperarse ante perturbaciones ambientales. Esta pérdida de redundancia aumenta la fragilidad de los ecosistemas y los hace más susceptibles a la degradación.

Otro patrón común a ambos forzantes, es el impacto negativo sobre los anfibios. Esto es especialmente preocupante dada la tendencia de declive que enfrentan sus poblaciones en Uruguay y en el mundo. En los charcos, los anfibios son un componente importante, que conectan las vías acuáticas y terrestres, facilitando la transferencia de energía y nutrientes entre estos dos ambientes interconectados.

Nuestros resultados también resaltan la importancia del concepto de "paisaje de charcos" o "pondscape". Dentro de este paisaje, identificamos charcos centrales estructurados por la presencia de peces y charcos periféricos donde la presión de depredación de peces es mínima y permite el desarrollo de comunidades con mayor diversidad de invertebrados, con redes tróficas más diversas. La heterogeneidad de aislamiento de los sistemas, así como de características ambientales locales, como el área, la profundidad y la heterogeneidad local, aparece como un aspecto clave para el mantenimiento de la biodiversidad regional.

En Uruguay, estos charcos, se encuentran insertos en campos privados productivos, por lo que resulta un desafío la generación de políticas públicas orientadas a su conservación. En este contexto, es esencial desarrollar estrategias que concilien la conservación con el uso sustentable de la tierra. Esto implica la necesidad de involucrar activamente a la comunidad local en la conservación y el monitoreo de estos ecosistemas, que no solo representan un valor intrínseco, sino que también actúan como centinelas del estado ambiental más amplio. Es por esto, que en el marco del presente proyecto desarrollamos material de divulgación y valoración de la biodiversidad destinada a público general. Elaboramos un blog disponible en internet y material gráfico para entregar en diferentes sitios (Ver anexo).

Asimismo, el control de especies invasoras, en particular la rana toro, también debe ser una prioridad. La implementación de programas de control puede ayudar a limitar su impacto en las redes tróficas y reducir su propagación a nuevos cuerpos de agua. La regulación y el monitoreo de pesticidas son esenciales para abordar la presencia de estos compuestos tóxicos en los charcos. Se deben establecer regulaciones más estrictas sobre el uso de pesticidas en áreas cercanas a cuerpos de agua y promover prácticas agrícolas sostenibles que reduzcan la contaminación de estos ecosistemas.

La investigación continua es fundamental para comprender mejor los efectos de las alteraciones antropogénicas en los ecosistemas de charcos. Esto incluye estudios adicionales sobre la dinámica de las poblaciones y la respuesta de las comunidades acuáticas a diferentes tipos de contaminantes. Un enfoque interdisciplinario que combine ecología, toxicología y ciencias sociales puede proporcionar información valiosa al respecto.

En resumen, los ecosistemas de charcos son fundamentales para la biodiversidad. La pérdida de redundancia trófica y la vulnerabilidad de los anfibios son preocupaciones destacadas que subrayan la necesidad apremiante de abordar los impactos de las alteraciones antropogénicas en estos sistemas. La conservación de estos ecosistemas es esencial para mantener la resiliencia y la salud de nuestro entorno natural, y esto requiere una acción decidida tanto a nivel local como nacional.

Divulgación del proyecto

Además de los resultados académicos, nuestro proyecto generó dos materiales de divulgación. Por un lado, creamos un blog digital (<https://storymaps.arcgis.com/stories/3b340ff1e2b941d28cbba9fb0d04cceb>) en donde relatamos el tema, objetivos, actividades y principales resultados de nuestro proyecto. Este blog fue compartido en diferentes medios digitales. Además, generamos un folleto en formato papel y digital, en donde se muestran especies representativas de los charcos y recomendaciones para mantenerlos en buen estado de conservación. Este folleto tiene además un código QR que direcciona al blog antes mencionado. Por otro lado, nos encontramos colaborando con la generación de material gráfico sobre los charcos y su rol ecosistémico junto a investigadores del Proyecto Ponderful.

Referencias bibliográficas

- Aber A, Ferrari G, Porcile JF, et al (2012) Identificación de prioridades para la gestión nacional de las especies exóticas invasoras. UNESCO
- Agostini MG, Kacolicis F, Demetrio P, et al (2013) Abnormalities in amphibian populations inhabiting agroecosystems in Northeastern Buenos Aires Province, Argentina. *Dis Aquat Org* 104:163–171. <https://doi.org/10.3354/dao02592>
- Agostini MG, Roesler I, Bonetto C, et al (2020) Pesticides in the real world: The consequences of GMO-based intensive agriculture on native amphibians. *Biological Conservation* 241:108355. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.108355>
- Arim M, Abades SR, Laufer G, et al (2010) Food web structure and body size: trophic position and resource acquisition. *Oikos* 119:147–153. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17768.x>
- Arim M, Marquet PA, Jaksic FM (2007) On the relationship between productivity and food chain length at different ecological levels. *The American Naturalist* 169:62–72
- Baldi G, Paruelo JM (2008) Land-Use and Land Cover Dynamics in South American Temperate Grasslands. *Ecology and Society* 13:
- Barnosky AD, Matzke N, Tomiya S, et al (2011) Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature* 471:51–57. <https://doi.org/10.1038/nature09678>
- Benton TG, Vickery JA, Wilson JD (2003) Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? *Trends in ecology & evolution* 18:182–188
- Borthagaray AI, Barreneche JM, Abades S, Arim M (2014) Modularity along organism dispersal gradients challenges a prevailing view of abrupt transitions in animal landscape perception. *Ecography* 37:564–571. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2013.00366.x>
- Borthagaray AI, Berazategui M, Arim M (2015) Disentangling the effects of local and regional processes on biodiversity patterns through taxon-contingent metacommunity network analysis. *Oikos* 124:1383–1390. <https://doi.org/10.1111/oik.01317>
- Cadotte MW (2006) Dispersal and species diversity: a meta-analysis. *The American Naturalist* 167:913–924
- Csardi G, Nepusz T (2006) The igraph software package for complex network research. *InterJournal, complex systems* 1695:1–9
- de Macedo-Soares PHM, Petry AC, Farjalla VF, Caramaschi EP (2010) Hydrological connectivity in coastal inland systems: lessons from a Neotropical fish metacommunity. *Ecology of Freshwater Fish* 19:7–18
- de Ruiter PC, Wolters V, Moore JC, Winemiller KO (2005) Food web ecology: playing Jenga and beyond. *Science* 309:68–71
- Declerck S, De Bie T, Ercken D, et al (2006) Ecological characteristics of small farmland ponds: associations with land use practices at multiple spatial scales. *Biological conservation* 131:523–532
- Domínguez E, Fernández HR (2009) Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. *Sistemática y biología Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina* 656:
- Dormann CF, Fründ J, Blüthgen N, Gruber B (2009) Indices, graphs and null models: analyzing bipartite ecological networks. *The Open Ecology Journal* 2:
- Downing JA, Cole JJ, Middelburg JJ, et al (2008) Sediment organic carbon burial in agriculturally eutrophic impoundments over the last century. *Global Biogeochemical Cycles* 22:
- Earl JE, Semlitsch RD (2013) Spatial subsidies, trophic state, and community structure: examining the effects of leaf litter input on ponds. *Ecosystems* 16:639–651
- Eloranta AP, Kahilainen KK, Amundsen P-A, et al (2015) Lake size and fish diversity determine resource use and trophic position of a top predator in high-latitude lakes. *Ecology and Evolution* 5:1664–1675
- Ernst F, Alonso B, Colazzo M, et al (2018) Occurrence of pesticide residues in fish from south American rainfed agroecosystems. *Science of The Total Environment* 631–632:169–179. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.320>
- Gallardo B, Clavero M, Sánchez MI, Vilà M (2016) Global ecological impacts of invasive species in aquatic ecosystems. *Glob Change Biol* 22:151–163. <https://doi.org/10.1111/gcb.13004>
- Gobel N, Laufer G, Cortizas S (2019a) Changes in aquatic communities recently invaded by a top predator: evidence of American bullfrogs in Aceguá, Uruguay. *Aquatic Sciences* 81:8
- Gobel N, Laufer G, González-Bergonzoni I, et al (2023) Invariant and vulnerable food web components after bullfrog invasion. *Biol Invasions* 25:901–916. <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02956-7>
- Gobel N, Laufer G, Kacevas N, et al (2022) MORPHOLOGICAL ABNORMALITIES IN AMPHIBIANS IN. *Herpetological Conservation and Biology* 17:573–581
- Gobel N, Laufer G, Serra W (2019b) Density, body size and diet overlap of four fish species in artificial reservoirs in the

Pampas, Uruguay. *North-Western Journal of Zoology* 15:48–54

González-Bergonzoni I, Landkildehus F, Meerhoff M, et al (2014) Fish determine macroinvertebrate food webs and assemblage structure in Greenland subarctic streams. *Freshwater Biology* 59:1830–1842

Grattarola F, Martínez-Lanfranco JA, Botto G, et al (2020) Multiple forms of hotspots of tetrapod biodiversity and the challenges of open-access data scarcity. *Scientific reports* 10:1–15

Hecnar SJ, M'Closkey RT (1998) Effects of human disturbance on five-lined skink, *Eumeces fasciatus*, abundance and distribution. *Biological Conservation* 85:213–222

Holbrook JD, Dorn NJ (2016) Fish reduce anuran abundance and decrease herpetofaunal species richness in wetlands. *Freshwater Biology* 61:100–109

Hsieh TC, Ma KH, Chao A (2014) iNEXT: iNterpolation and EXTrapolation for species diversity. R package version 2.0. URL: <http://chao.stat.nthu.edu.tw/blog/software-download>

Hu G, Dai J, Mai B, et al (2010) Concentrations and accumulation features of organochlorine pesticides in the Baiyangdian Lake freshwater food web of North China. *Archives of environmental contamination and toxicology* 58:700–710

Inchausti P (2023) *Statistical Modeling With R: a dual frequentist and Bayesian approach for life scientists*. New York

Jackson AL, Inger R, Parnell AC, Bearhop S (2011) Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER—Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology* 80:595–602

Jesús F, Hladki R, Gérez N, et al (2018) Miniaturized QuEChERS based methodology for multiresidue determination of pesticides in odonate nymphs as ecosystem biomonitors. *Talanta* 178:410–418

Kovalenko KE (2019) Interactions among anthropogenic effects on aquatic food webs. *Hydrobiologia* 1–11

Kraus F (2009) *Alien reptiles and amphibians: a scientific compendium and analysis*. Springer Verlag

Laufer G, Canavero A, Núñez D, Maneyro R (2008) Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) invasion in Uruguay. *Biological Invasions* 10:1183–1189. <https://doi.org/10.1007/s10530-007-9178-x>

Laufer G, Gobel N (2017) Habitat degradation and biological invasions as a cause of amphibian richness loss: a case report in Aceguá, Cerro Largo, Uruguay. *Phyllomedusa: Journal of Herpetology* 16:289–293

Laufer G, Gobel N, Borteiro C, et al (2018) Current status of American bullfrog, *Lithobates catesbeianus*, invasion in Uruguay and exploration of chytrid infection. *Biological invasions* 20:285–291

Laufer G, Gobel N, Kacevas N, Lado I (2023) American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) distribution, impact on native amphibians and management priorities in San Carlos, Uruguay. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems* 20

Lawrence H, Reuman D, Emerson R (2020) Cheddar: analysis and visualisation of ecological communities. R package version 01-636

Layman CA, Arrington DA, Montaña CG, Post DM (2007) Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? *Ecology* 88:42–48

Leibold MA, Holyoak M, Mouquet N, et al (2004) The metacommunity concept: a framework for multi-scale community ecology. *Ecology letters* 7:601–613

McCann K (2007) Protecting biostructure. *Nature* 446:29

Minor ES, Urban DL (2008) A graph-theory framework for evaluating landscape connectivity and conservation planning. *Conservation biology* 22:297–307

Modernel P, Rossing WAH, Corbeels M, et al (2016) Land use change and ecosystem service provision in Pampas and Campos grasslands of southern South America. *Environ Res Lett* 11:113002. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/11/11/113002>

Montaña CG, Silva SD, Hagyari D, et al (2019) Revisiting “what do tadpoles really eat?” A 10-year perspective. *Freshwater Biology* 64:2269–2282

Mougi A, Kondoh M (2016) Food-web complexity, meta-community complexity and community stability. *Scientific Reports* 6:24478. <https://doi.org/10.1038/srep24478>

Neill P, Arim M (2011) Human Health Link to Invasive Species. 116–123

Nicolet P, Ruggiero A, Biggs J (2007) Second European pond workshop: conservation of pond biodiversity in a changing European landscape. In: *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*. EDP Sciences, pp 77–80

Nielsen JM, Clare EL, Hayden B, et al (2018) Diet tracing in ecology: Method comparison and selection. *Methods in Ecology and Evolution* 9:278–291

Oertli B, Biggs J, Céréghino R, et al (2005) Conservation and monitoring of pond biodiversity: introduction. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 15:535–540

Pareja L, Martínez-Bueno MJ, Cesio V, et al (2011) Trace analysis of pesticides in paddy field water by direct injection using liquid chromatography–quadrupole-linear ion trap-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1218:4790–4798

Parnell AC, Phillips DL, Bearhop S, et al (2013) Bayesian stable isotope mixing models. *Environmetrics* 24:387–399. <https://doi.org/10.1002/env.2221>

Pimm SL (1982) Food webs. In: Pimm SL (ed) *Food Webs*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 1–11

Post DM (2002) The long and short of food-chain length. *Trends in Ecology & Evolution* 17:269–277. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(02\)02455-2](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(02)02455-2)

Post DM, Pace ML, Hairston NG (2000) Ecosystem size determines food-chain length in lakes. *Nature* 405:1047–1049

Rockström J, Steffen W, Noone K, et al (2009) A safe operating space for humanity. *Nature* 461:472–475. <https://doi.org/10.1038/461472a>

Rooney N, McCann K, Gellner G, Moore JC (2006) Structural asymmetry and the stability of diverse food webs. *Nature* 442:265–269. <https://doi.org/10.1038/nature04887>

Rooney N, McCann KS (2012a) Integrating food web diversity, structure and stability. *Trends in Ecology & Evolution* 27:40–46. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.09.001>

Rooney N, McCann KS (2012b) Integrating food web diversity, structure and stability. *Trends in Ecology & Evolution* 27:40–46. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.09.001>

Sala OE, Chapin FS, Iii, et al (2000) Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100. *Science* 287:1770–1774. <https://doi.org/10.1126/science.287.5459.1770>

Sanders D, Thébault E, Kehoe R, Frank van Veen FJ (2018) Trophic redundancy reduces vulnerability to extinction cascades. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115:2419–2424

Simberloff D (2004) Community Ecology: Is It Time to Move On? (An American Society of Naturalists Presidential Address). *The American Naturalist* 163:787–799. <https://doi.org/10.1086/420777>

Son J-K, Shin M-J, Shin J-H, et al (2014) The Functional Selection for the Assessment of Ecosystem Service at Pond Wetland in Agricultural Landscape. *Journal of Wetlands Research* 16:319–325. <https://doi.org/10.17663/JWR.2014.16.4.319>

Soutullo A, Ríos M, Zaldúa N, Teixeira-de-Mello F Soybean expansion and the challenge of the coexistence of agribusiness with local production and conservation initiatives: pesticides in a Ramsar site in Uruguay. *Environmental Conservation* 1–7

Takimoto G, Post DM (2013) Environmental determinants of food-chain length: a meta-analysis. *Ecological Research* 28:675–681

Thiere G, Milenkovski S, Lindgren P-E, et al (2009) Wetland creation in agricultural landscapes: Biodiversity benefits on local and regional scales. *Biological Conservation* 142:964–973. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.01.006>

Thompson RM, Townsend CR (2005) Energy availability, spatial heterogeneity and ecosystem size predict food-web structure in streams. *Oikos* 108:137–148

Vadeboncoeur Y, Jeppesen E, Zanden MJV, et al (2003) From Greenland to green lakes: cultural eutrophication and the loss of benthic pathways in lakes. *Limnology and oceanography* 48:1408–1418

Ward CL, McCann KS, Rooney N (2015) HSS revisited: multi-channel processes mediate trophic control across a productivity gradient. *Ecol Lett* n/a-n/a. <https://doi.org/10.1111/ele.12498>

Withers P, Neal C, Jarvie H, Doody D (2014) Agriculture and eutrophication: where do we go from here? *Sustainability* 6:5853–5875

Wolters J-W, Reitsema RE, Verdonschot RC, et al (2019) Macrophyte-specific effects on epiphyton quality and quantity and resulting effects on grazing macroinvertebrates. *Freshwater Biology* 64:1131–1142

Zuur A, Ieno EN, Smith GM (2007) *Analyzing Ecological Data*. Springer Science & Business Media

Licenciamiento

Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. (CC BY-NC-ND)