

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE BIOQUÍMICA Y CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto Nacional de Limnología
(INALI-CONICET-UNL)
Laboratorio de Macrocrustáceos

Tesis para optar al título de Doctora en Ciencias Biológicas

Título:

*Toxicidad de agroquímicos sobre especies acuáticas
autóctonas: Crustáceos Decápodos*

Lic. Marcela Cecilia Montagna

Director: Dr. Pablo Agustín Collins

Agradecimientos

A las autoridades y personal de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral,

...a las autoridades del Instituto Nacional de Limnología,

...a mi director Dr. Pablo A. Collins,

...a mi familia,

...a los investigadores, becarios y técnicos del Instituto Nacional de Limnología,

...a mis amistades,

...y a todos aquellos que con su apoyo hicieron posible mi trabajo.

Índice

| | Página |
|---|--------|
| Agradecimientos..... | 2 |
| Índice..... | 3 |
| Abreviaturas y Símbolos..... | 5 |
| Resumen..... | 6 |
| Abstract..... | 9 |
| | |
| 1. Introducción..... | 11 |
| 2. Objetivos..... | 33 |
| 3. Hipótesis..... | 35 |
| 4. Materiales y Métodos..... | 36 |
| Captura y mantenimiento de los ejemplares de crustáceos decápodos dulciacuícolas..... | 37 |
| Biocidas usados: productos comerciales..... | 39 |
| 4.1. Ensayos de toxicidad letal aguda..... | 40 |
| 4.2. Efectos en el metabolismo: consumo de oxígeno y excreción de amonio..... | 44 |
| 4.3. Ensayos de toxicidad crónica: crecimiento individual..... | 48 |
| 4.4. Ensayos a nivel de mesocosmos..... | 52 |
| 5. Resultados..... | 56 |
| 5.1. Ensayos de toxicidad letal aguda..... | 57 |
| 5.1.1. Exposición aguda del camarón <i>P. argentinus</i> a diferentes herbicidas..... | 57 |
| 5.1.2. Exposición aguda del cangrejo <i>T. borellianus</i> a diferentes herbicidas..... | 61 |
| 5.1.3. Exposición aguda del camarón <i>P. argentinus</i> a diferentes insecticidas..... | 64 |
| 5.1.4. Exposición aguda del cangrejo <i>T. borellianus</i> a diferentes insecticidas..... | 67 |
| 5.1.5. Exposición aguda del camarón <i>P. argentinus</i> a diferentes fungicidas..... | 70 |
| 5.1.6. Exposición aguda del cangrejo <i>T. borellianus</i> a diferentes fungicidas..... | 73 |
| 5.2. Efectos en el metabolismo: consumo de oxígeno y excreción de amonio..... | 74 |
| 5.2.1. Exposición del camarón <i>P. argentinus</i> a diferentes herbicidas..... | 74 |
| 5.2.2. Exposición del cangrejo <i>T. borellianus</i> a diferentes herbicidas..... | 87 |
| 5.2.3. Exposición del camarón <i>P. argentinus</i> a diferentes insecticidas..... | 98 |
| 5.2.4. Exposición del cangrejo <i>T. borellianus</i> a diferentes insecticidas..... | 111 |

| | |
|--|-----|
| 5.2.5. Exposición del camarón <i>P. argentinus</i> a diferentes fungicidas..... | 124 |
| 5.3. Ensayos de toxicidad crónica: crecimiento individual..... | 136 |
| 5.3.1. Exposición del camarón <i>P. argentinus</i> a diferentes herbicidas..... | 136 |
| 5.3.2. Exposición del cangrejo <i>T. borellianus</i> a diferentes herbicidas..... | 129 |
| 5.3.3. Exposición del camarón <i>P. argentinus</i> a diferentes insecticidas..... | 144 |
| 5.3.4. Exposición del cangrejo <i>T. borellianus</i> a diferentes insecticidas..... | 148 |
| 5.3.5. Exposición del camarón <i>P. argentinus</i> a diferentes fungicidas..... | 152 |
| 5.3.6. Exposición del cangrejo <i>T. borellianus</i> a diferentes fungicidas..... | 156 |
| 5.4. Ensayos a nivel de mesocosmos..... | 160 |
| 5.4.1. Exposición de <i>P. argentinus</i> y <i>T. borellianus</i> a diferentes herbicidas..... | 161 |
| 5.4.2. Exposición de <i>P. argentinus</i> y <i>T. borellianus</i> a diferentes insecticidas..... | 163 |
| 5.4.3. Exposición de <i>P. argentinus</i> y <i>T. borellianus</i> a diferentes fungicidas..... | 165 |
| 6. Discusión..... | 167 |
| 7. Conclusiones..... | 181 |
| 8. Referencias bibliográficas..... | 184 |
| 9. Anexo..... | 202 |
| 9.1. Descripción de los agroquímicos utilizados en los ensayos, zonas y cultivos de aplicación, especies blanco y modo de acción tóxica..... | 203 |
| 9.1.1. Herbicida glifosato..... | 203 |
| 9.1.2. Herbicida 2,4-D..... | 205 |
| 9.1.3. Insecticida endosulfán..... | 206 |
| 9.1.4. Insecticida clorpirifós..... | 208 |
| 9.1.5. Fungicida carbendazim..... | 210 |
| 9.1.6. Fungicida carbendazim-tiram..... | 212 |
| 9.2. Propiedades físicas y químicas de los componentes activos de los productos comerciales utilizados en los ensayos..... | 213 |
| 9.2.1. En Roundup®: Herbicida glifosato..... | 213 |
| 9.2.2. En Herbifen Super®: Herbicida 2,4-D..... | 214 |
| 9.2.3. En Zebra Ciagro®: Insecticida endosulfán..... | 215 |
| 9.2.4. En Terminator Ciagro®: Insecticida clorpirifós..... | 217 |
| 9.2.5. En Flow Thin 50®: Fungicida carbendazim..... | 218 |
| 9.3. Curva de calibración de amonio..... | 219 |
| 9.4. Ensayos letales agudos: Relación concentración – respuesta..... | 221 |

Abreviaturas y Símbolos

AC: Ancho de caparazón

AC_t: Ancho de caparazón en premuda

AC_{t+1}: Ancho de caparazón en posmuda

CL₅₀: Concentración Letal Media

JA: Jaula alta

JB: Jaula baja

KW: Método no paramétrico de Kruskall-Wallis.

LC: Largo de cefalotórax

LC_t: Largo de cefalotórax en premuda

LC_{t+1}: Largo de cefalotórax en posmuda

OD: Oxígeno disuelto.

O:N: Razón atómica entre el oxígeno consumido y el nitrógeno excretado.

2,4-D: éster butílico del ácido 2,4-diclorofenoxiacético

Resumen

Los plaguicidas son clasificados según el tipo de organismo que controlan reconociendo herbicidas, insecticidas, fungicidas, rodenticidas, acaricidas, entre otros. Actualmente existe un gran número de productos agroquímicos formulados con distintos porcentajes y grados técnicos de pureza. La liberación de los agroquímicos altera la calidad ambiental de las zonas agrarias, y de los ambientes acuáticos cercanos a las áreas de aplicación. Esta problemática incluye no sólo el sector agropecuario, sino también a los centros urbanos en donde realizan aplicaciones de xenobióticos en el control de vectores de enfermedades. Los biocidas ingresan a los ambientes acuáticos principalmente influenciados por el desplazamiento del agua. Además de las aplicaciones voluntarias realizadas sobre la superficie del agua, fugas en los depósitos de pulverización y prácticas inadecuadas de limpieza de equipos aplicadores. En la región pampeana, el sistema del río Paraná no está exento al ingreso de xenobióticos. En éste, los biocidas pueden afectar diferentes especies de la comunidad acuática. Los macrocrustáceos del orden Decapoda son abundantes y con activa participación en la estructura de la comunidad. En ellos, el camarón *Palaemonetes argentinus* Nobili (1901) y el cangrejo *Trichodactylus borellianus* Nobili (1896) pueden ser severamente afectados por la exposición a biocidas.

Los productos xenobióticos usados por los agricultores son formulaciones comerciales que incluyen el elemento activo y los coadyuvantes. El objetivo de la presente tesis fue la evaluación de la toxicidad de formulaciones comerciales de algunos agroquímicos como glifosato, éster butílico del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), endosulfán, clorpirifós, carbendazim y carbendazim-tiram en *P. argentinus* y *T. borellianus* mediante la determinación de la concentración letal media (CL₅₀) a las 96 horas. Además, los cambios en la tasa de consumo de oxígeno y excreción de amonio, y los efectos sobre el crecimiento individual de *P. argentinus* y *T. borellianus* fueron evaluados en laboratorio. Por otra parte, el impacto de cada biocida fue estudiado en ambas especies colocadas en pequeñas lagunas construidas artificialmente.

Los agroquímicos usados fueron glifosato Roundup[®], 2,4-D Herbifen Super[®], endosulfán Zebra Ciagro[®], clorpirifós Terminator Ciagro[®], carbendazim Flow Thin 50[®] y carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®]. La evaluación de la toxicidad de los agroquímicos fue efectuada mediante ensayos estáticos uniespecíficos de 96 hs, realizados en etapas en la definición del valor de la CL₅₀. El consumo de oxígeno y la excreción de amonio fueron

medidos en ejemplares colocados individualmente en cámaras respirométricas durante 24 hs. La evaluación del incremento en talla y duración del período de intermuda permitió el estudio de crecimiento de los individuos. En ensayos a mesocosmos los decápodos fueron expuestos a la toxicidad de cada biocida.

En los ensayos letales agudos, el camarón *P. argentinus* fue rápidamente afectado por el herbicida glifosato Roundup[®], mientras que 2,4-D Herbifen Super[®] redujo la supervivencia del camarón en forma gradual. En *T. borellianus*, el glifosato provocó mortalidad después de 48 hs de exposición. El herbicida 2,4-D indujo una respuesta inmediata del cangrejo. Los insecticidas endosulfán Zebra Ciagro[®] y clorpirifós Terminator Ciagro[®] afectaron a los decápodos con un incremento del efecto letal en el tiempo. Los productos fungicidas carbendazim Flow Thin 50[®] y carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] provocaron un efecto letal inmediato del camarón *P. argentinus* con un impacto más pronunciado en carbendazim-tiram.

En los productos herbicidas el consumo de oxígeno de los decápodos disminuyó. La toxicidad de endosulfán Zebra Ciagro[®] afectó el consumo de oxígeno de *P. argentinus* en la exposición a la concentración mayor del biocida. Mientras que el cangrejo *T. borellianus* incrementó el consumo en todas las concentraciones de endosulfán. En clorpirifós Terminator Ciagro[®] el consumo de oxígeno de los decápodos fue elevado en todos los tratamientos. Un efecto similar fue observado en *P. argentinus* durante las primeras horas de exposición a los productos fungicidas, y luego los valores decrecieron en relación al grupo control. Por otra parte, la actividad excretora del camarón disminuyó en glifosato Roundup[®] y 2,4-D Herbifen Super[®]. Los productos insecticidas provocaron una reducción de la excreción de amonio en el camarón y un incremento en el cangrejo. El fungicida carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] redujo la excreción del camarón con el incremento en la concentración.

Los herbicidas provocaron un incremento en talla y una variación en las intermudas de los decápodos. Los insecticidas endosulfán y clorpirifós redujeron el crecimiento en talla de ambos crustáceos, con un aumento en la duración de los períodos de intermuda. Los productos fungicidas modificaron el incremento por muda con un alargamiento de los períodos de intermuda. En los ensayos a mesocosmos *P. argentinus* y *T. borellianus* fueron afectados por los agroquímicos, siendo el camarón más sensible a los biocidas que el cangrejo.

Los productos agroquímicos evaluados en los distintos ensayos mostraron diferentes niveles de toxicidad. Si bien carbendazim Flow Thin 50[®] (carbendazim: Clase Toxicológica IV-Normalmente no ofrece peligro) provocó alteraciones en los parámetros metabólicos y de crecimiento de los decápodos, este mostró menor toxicidad en relación a carbendazim-tiram

Flow Thin 15-35[®] (tiram: Clase II-Moderadamente peligroso). Por otra parte, el glifosato Roundup[®] (glifosato: Clase IV) mostró menor toxicidad letal aguda que el éster butílico del ácido 2,4-D Herbifen Super[®] (2,4-D: Clase II), aunque fueron observados importantes efectos adversos en los organismos. Los agroquímicos endosulfán Zebra Ciagro[®] (endosulfán: Clase Ib-Muy tóxico o peligroso) y clorpirifós Terminator Ciagro[®] (clorpirifós: Clase II y III-Poco peligroso) fueron los que ejercieron mayor poder nocivo entre los biocidas considerados, siendo clorpirifós Terminator Ciagro[®] el de más alta toxicidad en ambas especies de crustáceos.

Abstract

Pesticides are classified according to the type of organism they control, namely: herbicides, insecticides, fungicides, rodenticides, miticides or acaricides, among others. Currently there is a large number of agrochemicals formulated with different percentages and technical grades of purity. The release of agrochemicals alters the environmental quality of farming areas and the aquatic environments found near the areas where they are used. This problem involves not only the farming sector, but also the urban areas where xenobiotics are used for the control of disease vectors. Biocides enter aquatic environments mainly influenced by the shift in water flows in addition to the voluntary applications on the water surface, air spray, leaks in storage of spraying deposits and inappropriate cleaning practices for the application equipment. In our *pampas* (Pampa Region in Argentina), the Paraná River system is not exempted from the entry of biocides. Biocides can affect different species of the littoral community in the river. Macrocrustaceans within the order Decapoda are abundant and have an active participation in the community structure. Prawn *Palaemonetes argentinus* Nobili (1901) and crab *Trichodactylus borellianus* Nobili (1896) among others, are found in the river. These crustaceans may be severely affected by the exposure to biocides.

Biocides used by farmers are commercial formulations which include the active element and coadjuvants. The aim of the present work was to evaluate the toxicity of the commercial formulations of some agrochemicals such as glyphosate, 2,4-D, endosulfan, chlorpyrifos, carbendazim, carbendazim-thiram in prawn *P. argentinus* and crab *T. borellianus* through the determination of the lethal mean concentration at 96 h. Assessment of the changes in oxygen consumption rate and ammonia excretion, and the determination of the effects on the individual growth of *P. argentinus* and *T. borellianus* at the laboratory was also done using these biocides. Besides, the evaluation of the impact of each xenobiotic on both species placed into small artificial ponds was performed. The agrochemicals used were glyphosate Roundup[®]; 2,4-D Herbifen Super[®]; endosulfan Zebra Ciagro[®]; chlorpyrifos Terminator Ciagro[®]; carbendazim Flow Thin 50[®] and carbendazim-thiram Flow Thin 15-35[®].

Toxicity evaluation of agrochemicals was conducted by means of uni-specific static assays of 96 h done in stages in the definition of the value of LC₅₀. The measurement of oxygen consumption and ammonia excretion was carried out in specimens placed individually in respirometric chambers for 24 h. Growth was studied evaluating the increase in size and

length of the intermolt period of isolated individuals. For the evaluation of toxicity of each biocide decapods were exposed to the same mesocosms tests.

Prawn *P. argentinus* was promptly affected by herbicide glyphosate Roundup[®], whereas 2,4-D Herbifen Super[®] affected the survival of the prawn gradually. Glyphosate was not lethal on crab *T. borellianus* during the first 48 h. Herbicide 2,4-D affected the crab with a high sensitivity at the beginning of the exposure. Endosulfan Zebra Ciagro[®] and Chlorpyrifos Terminator Ciagro[®] insecticides affected decapods with an increase in toxicity through time. Carbendazim Flow Thin 50[®] and carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] affected prawn *P. argentinus* severely, with a stronger impact on fungicide carbendazim-tiram.

Oxygen consumption of decapods decreased in both herbicides. The toxicity of Endosulfan Zebra Ciagro[®] affected the oxygen consumption of *P. argentinus* at the highest concentration of the insecticide whereas crab *T. borellianus* increased consumption in all the concentrations of the biocide. On the other hand, the exposure to Chlorpyrifos Terminator Ciagro[®] insecticide increased the oxygen consumption of decapods in all the treatments. In fungicides, the oxygen consumption of *P. argentinus* increased during the first hours of the assays and later decreased showing values lower than the control group. On the other side, herbicides glyphosate Roundup[®] and 2,4-D Herbifen Super[®] caused a reduction in the excretion activity of *P. argentinus*. Insecticides decreased ammonia excretion in prawns, whereas in crabs excretion increased. The increase in Carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] concentration reduced prawn excretion.

Herbicides caused an increase in size and a variation of intermolt in decapods. Insecticides endosulfan and chlorpyrifos reduced the increase in size of both decapods, with an increase in the length of intermolt periods. As to fungicides, decapods modified their growth due to molt with a lengthening of the intermolt period. In these mesocosms tests both species were affected by agrochemicals, even though prawn *P. argentinus* showed a greater sensitivity to biocides than crab *T. borellianus*.

The objectives set were reached with the purpose of making an important contribution to the evaluation of the degree of toxicity of certain agrochemicals at critical stages in the life of species of continental crustaceans.

Introducción

1. Introducción

La acumulación de grandes mantos sedimentarios de origen continental y marino definió al espacio pampeano del territorio de la república Argentina como una región fértil. Sus suelos, ricos en materia orgánica, brindan excelentes posibilidades a la actividad agrícola (Capitanelli, 1992). En esta región, las condiciones climáticas determinaron una primera división en la organización de la tierra con el objetivo de producción de cereales y carnes, destinadas en su mayor parte a la exportación (Mercado y Coggiola de Panozzo, 1989). Dicha actividad modeló el crecimiento económico y demográfico del país durante más de un siglo, e incentivó al sector en la expansión de la superficie sembrada y en el empleo de técnicas modernas que permitieron elevar los rendimientos (D'Angelo, 1991). En el conjunto de factores que alientan la producción se puede destacar la creciente utilización de agroquímicos o productos fitosanitarios que permiten un alto nivel de rendimiento por hectárea (CIAFA y CASAFE, 2008).

En general, el sector agropecuario emplea una variada gama de insumos fitosanitarios naturales y sintéticos entre los que incluyen principalmente los denominados plaguicidas o pesticidas. Estos constituyen un grupo de sustancias, mezcla de sustancias, elementos y compuestos químicos o biológicos que se aplican en cultivos de interés económico y ornamental (García Araya y Don, 2002; Orozco Barrenetxea y col., 2005). Los productos son usados con el propósito de destruir o controlar plantas y animales terrestres o acuáticos, además de virus, bacterias y hongos vectores de enfermedades humanas o de animales. Esto debido a que los organismos pueden interferir en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de productos agrícolas y forestales utilizados en la alimentación humana y animal (Alvarado, 1998; Rose y col., 1999; García Araya y Don, 2002).

En el balance de beneficios y perjuicios, los plaguicidas fueron mundialmente aceptados, porque incrementaron la productividad agrícola debido a la protección contra enfermedades más frecuentes y recuperación de plantaciones. En 1992 las ventas globales de agroquímicos indicó a los herbicidas como los biocidas más comercializados, seguidos por los insecticidas (Ecobichon, 2000). En los países en desarrollo ubicados en regiones tropicales y subtropicales, en los últimos años incrementó la utilización de plaguicidas con el comercio de vegetales y frutas frescas a países con climas más templados (Forget y col., 1993; Ecobichon, 2001). Estas naciones en desarrollo fueron consideradas países proveedores de alimentos para el resto del mundo, y esta actividad no se logró sin el incremento del uso de biocidas,

principalmente herbicidas, insecticidas y fungicidas, los que no son aplicados extensivamente en prácticas agrícolas tradicionales (D'Angelo, 1991).

Como país productor de alimentos, Argentina incrementó en un 35% la superficie sembrada de cereales (maíz, trigo, cebada, arroz, sorgo, avena, mijo, alpiste, centeno) y oleaginosas (soja, girasol, maní, lino) en la región pampeana durante el período 1993/2001, correspondiendo a un total de 22,6 millones de hectáreas cultivadas. En el mismo período la producción aumentó un 63%, siendo lo obtenido 35 millones de toneladas de cereales y 27 millones de toneladas de oleaginosas. En la campaña agrícola 2007/2008, el total sembrado con cereales fue de 12,8 millones de hectáreas con una producción de 43,8 millones de toneladas. Mientras que los cultivos oleaginosos, fue de 19,5 millones de hectáreas con una producción estimada superior a 51,5 millones de toneladas en igual período (SAGPyA, 2008). Sólo en la provincia de Santa Fe, el aumento en la superficie sembrada de estos cultivos entre las campañas de 1996/1997 a 2005/2006 fue de 3,5%, lo que equivale a 173,690 millones de hectáreas. El incremento en la área cultivada permitió la producción de 4,4 millones de toneladas de cereales, y de 10,6 millones de toneladas de oleaginosas en el período 2005/2006 (INDEC, 2002; CIAFA y CASAFE, 2008).

Este crecimiento en la actividad agrícola favoreció el incremento de la demanda de productos fitosanitarios. En el año 1994 Argentina produjo solo el 35% de los agroquímicos que utilizó, siendo el resto importado desde países industrializados a través de firmas con sede en el país o distribuidores independientes. De esta manera, de 1.783 operaciones comerciales de importación que involucraron a 105 operadores el país importó 34,3 millones de kilogramos de agroquímicos por valor de 311,8 millones de dólares. Según datos de ventas para ese año, el mercado argentino de agroquímicos ascendió a 59,2 millones de kg (o litros), correspondientes a 521,5 millones de dólares. Durante 1996, intervinieron 119 operadores en la importación de 50,7 millones de kg de plaguicidas por valor de 441,6 millones de dólares. Si bien los productos fueron recibidos desde los cinco continentes, el origen prioritario de la mercadería correspondió a Estados Unidos, Brasil, Alemania, Inglaterra y Francia. Por otra parte, paralelamente la producción local tuvo una tendencia creciente destinada a sustituir importaciones. Lo que determinó que en 1996, el mercado total de plaguicidas ascendiera a 850 millones de dólares y el de fertilizantes a 570 millones de dólares. En 1997 la producción de agroquímicos creció un 46,1% con respecto al año anterior. Además, en 1998 el volumen total de plaguicidas comercializado fue de 132 millones de kg, mientras que en 2006 alcanzó los 252 millones de kg (CIAFA y CASAFE, 2008).

Actualmente existe en el mercado un gran número de productos biocidas formulados con distintos porcentajes y grados técnicos de pureza. Estos son clasificados de diferentes formas, por ejemplo, según su origen (naturales y sintéticos), estructura química (algunos de ellos organoclorados, organofosforados, piretroides y carbamatos) y tipo de organismo que controlan (herbicidas, insecticidas, fungicidas, rodenticidas, acaricidas, nematicidas, molusquicidas, entre otros) (Orozco Barrenetxea y col. 2005).

Los agroquímicos fueron clasificados con fines de regulación, principalmente en el etiquetado de los envases, según el riesgo que representan a la salud humana y ambiental. Esta clasificación distingue categorías (I - IV) de plaguicidas de mayor y menor peligro basándose en la toxicidad de los principios activos y sus formulaciones. Los criterios de clasificación recomendados por la Organización Mundial de la Salud (2004) fueron establecidos principalmente según la toxicidad oral y cutánea (DL₅₀) de ratas, como estándares de toxicidad que más se asemejan al hombre en su reacción (Tabla 1). De igual manera, la Agencia de Protección Ambiental de EE.UU. (USEPA, 1994a) asigna a los plaguicidas de clase I la denominación de “peligro”, “veneno” y “advertencia”, mientras que a los pertenecientes a las clases II, III y IV la palabra “precaución” (Rose y col. 1999).

Tabla 1. Clasificación Toxicológica de los plaguicidas. Valor de DL₅₀ en mg de tóxico por Kg de peso corporal requerido para la muerte del 50% de las poblaciones de animales evaluadas. Los términos “Formulación líquida” y “Formulación sólida” hacen referencia al estado físico del ingrediente activo (García Araya y Don, 2002; WHO, 2004a).

| Clases Toxicológicas | | Formulación líquida DL ₅₀ en rata (mg/Kg) | | Formulación sólida DL ₅₀ en rata (mg/Kg) | |
|----------------------|-------------------------------|---|------------|--|------------|
| | | Oral | Dermal | Oral | Dermal |
| Ia | Extremadamente peligroso | < 20 | < 40 | < 5 | < 10 |
| Ib | Muy tóxico o peligroso | 20 a 200 | 40 a 400 | 5 a 50 | 10 a 100 |
| II | Moderadamente peligroso | 200 a 2000 | 400 a 4000 | 50 a 500 | 100 a 1000 |
| III | Poco peligroso | 2000 a 3000 | > 4000 | 500 a 2000 | > 1000 |
| IV | Normalmente no ofrece peligro | > 3000 | - | > 2000 | - |

Entre las sustancias biocidas de mayor uso están los herbicidas, debidos a que el control del crecimiento de las plantas es una de las prácticas más buscadas con el objeto de incrementar la producción (Ecobichon, 2000, 2001). Algunos herbicidas destruyen selectivamente las hierbas pero no los cultivos. Otros son no selectivos, y actúan por contacto sobre todo tipo de plantas, excepto aquellas modificadas genéticamente para ser resistentes al herbicida o las que desarrollan resistencia natural frente al biocida. El *glifosato* tiene una alta eficiencia en el control de una gran variedad de plantas anuales, bianuales y gramíneas a bajo costo económico (Anexo 9.1.1: Tabla 1).

El uso de glifosato incrementó mundialmente con el desarrollo de cultivos de variedad transgénica (RR: Roundup[®] ready) resistente a este herbicida. En Argentina la adopción de la soja resistente al glifosato fue más rápida que en otros países como U.S.A, llegando al 90% (14 millones de ha) en 4 años de introducción (Penna y Lema, 2003). Como parte del paquete tecnológico del sistema de producción directa, este herbicida es aplicado antes de la siembra, controlando las plantas presentes en el rastrojo del cultivo anterior, y se repite inmediatamente después de la implantación del cultivo (CASAFE, 2001, 2007). En la campaña 2004/2005 las aplicaciones de glifosato alcanzaron los 160 millones de litros de producto comercial (CIAFA y CASAFE, 2008). Además, la aplicación de este herbicida abarca zonas no cultivadas como son los márgenes de las áreas de cultivo, caminos, alambrados y líneas férreas, en acequias y desagües.

El glifosato es un herbicida sistémico, trasladado a través de vasos conductores (floema) de la planta hacia los órganos subterráneos impide el posterior rebrote y ocasiona la muerte de la planta. El herbicida actúa sobre la vía del ácido shikímico inhibiendo la 5-enolpiruvil-shikímico-3-fosfato sintetasa (EPSP). Esta acción afecta la síntesis de aminoácidos aromáticos fenil-alanina, tirosina y triptofano (Rose y col., 1999). El compuesto es muy soluble en agua y altamente estable, propiedades que le brindan una gran posibilidad de transporte y permanencia en los ecosistemas acuáticos (WHO, 1994). La toxicidad de este compuesto ubicó al herbicida dentro de la Clase IV (Producto poco o que normalmente no ofrece peligro) (CASAFE, 2001; Garcia Araya y Don, 2002). Además, el ingrediente activo glifosato está comúnmente comercializado junto al surfactante POEA (polioxietilen amina) considerado de mayor toxicidad sobre los animales que el mismo herbicida (WHO, 1994; Giesy y col., 2000). Este surfactante es una sustancia no iónica usada en las formulaciones del biocida incrementando la eficacia del ingrediente activo y promoviendo su penetración dentro de la planta (Brausch y Smith, 2007). Entre los posibles efectos sobre la fauna, algunos

autores indicaron que la exposición al herbicida Roundup[®] provocó una menor actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) en organismos acuáticos (Gluszczak y col., 2006, 2007).

Otro herbicida de preferencia por los productores agropecuarios es el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (**2,4-D**), usado en el control del crecimiento de una gran variedad de plantas de hoja ancha. Las formulaciones comerciales de este compuesto raramente están como ácido, sino que corresponden a sales o ésteres debido a la mayor solubilidad. A su vez, suelen combinarse con solventes o surfactantes en un amplio rango de concentraciones (Anexo 9.1.2: Tabla 1). Las aplicaciones de este herbicida son realizadas sobre los cultivos luego de la germinación, como así también en la limpieza de caminos, alambrados y vías férreas. No obstante, el uso del éster isobutílico de 2,4-D está actualmente prohibido o restringido en determinadas provincias como Chaco, Tucumán, Santiago del Estero, Entre Ríos y Córdoba (Departamento Capital, Colón, Totoral y Río Primero). Esto debido a que puede producir deriva a otros cultivos susceptibles, y por lo tanto recomiendan la utilización de formulaciones menos volátiles como las elaboradas a base de sal dimetil amina (CASAFE, 2007).

El herbicida 2,4-D también es sistémico, trasladado a través de los vasos de la planta hacia los órganos subterráneos impidiendo el rebrote y ocasionando la muerte del vegetal. El compuesto actúa como hormona de crecimiento, alterando el metabolismo y como consecuencia el crecimiento de las plantas (USEPA, 1980b; Rose y col., 1999). Este biocida está considerado de Clase II (Producto moderadamente peligroso) (CASAFE, 2001; Garcia Araya y Don, 2002). En los animales, algunos registros indican que el herbicida 2,4-D actúa provocando inhibición enzimática del ciclo de Krebs con alteraciones en la capacidad respiratoria (Rodríguez y col., 1998).

Por otra parte, el incremento del área sembrada de soja favoreció el comercio de algunos insecticidas. A tal punto que en el 2002 vendieron 700 mil litros más que en 2001, siendo los más elegidos endosulfán, cipermetrina y clorpirifós (en ese orden), (CIAFA y CASAFE, 2008). El insecticida *endosulfán* integra el conjunto de los compuestos sintéticos denominados organoclorados o hidrocarburos clorados. El uso mundial de estos compuestos fue común hasta su prohibición en muchos países durante las últimas décadas (Orozco Barrenetxea y col., 2005; Ecobichon, 2000). Principalmente, debido a que su estructura molecular no es semejante a los compuestos orgánicos naturales (muchos presentan alto peso molecular y estructura no polar), lo que les confiere toxicidad crónica por la alta resistencia a la degradación ambiental (Rose y col., 1999). Además, la elevada solubilidad de estos compuestos en la fracción lipídica de los organismos favorece su acumulación en los mismos

y su posible extensión en las cadenas tróficas (Newman y Unger, 2003). No obstante esta restricción, la amplia selectividad del insecticida endosulfán permite que en algunos países sea recomendado e incorporado en técnicas de control integrado de plagas (Anexo 9.1.3: Tabla 1).

En Argentina, el insecticida endosulfán tiene difusión y permanente uso ya que lo aplican en cultivos extensivos de soja convencional y transgénica (Lorenzatti y col., 2004). Este puede usarse solo o en combinación con la mayoría de los fungicidas, insecticidas, herbicidas y coadyuvantes existentes (CASAFE 2001, 2007). El modo de acción del insecticida es por contacto e ingestión, y en altas temperaturas también por inhalación. Este biocida es neurotóxico, y afecta los centros de estimulación motora. La exposición a este compuesto provoca excesiva estimulación de los nervios colinérgicos dada por la inhibición de la enzima AchE, cuya función biológica consiste en catalizar la hidrólisis de la acetilcolina, que rige las transmisiones de los impulsos nerviosos (Rose y col., 1999; Newman y Unger, 2003). Las formulaciones de los productos comerciales con endosulfán están compuestas por isómeros alfa y beta de este insecticida, presentando un 70% del primero y un 30% del segundo (USEPA, 1980a). Ambos isómeros son altamente tóxicos para la vida acuática y la salud humana (WHO, 1989). El insecticida endosulfán está considerado de Clase Toxicológica Ib (Producto muy tóxico o peligroso) (CASAFE 2001, 2007; Garcia Araya y Don 2002).

En reemplazo de los biocidas organoclorados, los insecticidas organofosforados surgieron con el objeto de controlar una amplia variedad de especies de insectos, y como agentes químicos de guerra (gases neurotóxicos). Estos plaguicidas son en general menos estables y más rápidamente degradables en el ambiente por acción química y bioquímica que los insecticidas clorados. No obstante son de extrema peligrosidad por ser altamente tóxicos (Rose y col., 1999; Walker y col., 2001). Entre ellos, *clorpirifós* resulta efectivo en el control de un amplio espectro de especies de hormigas, insectos chupadores y masticadores de numerosos cultivos (Anexo 9.1.4: Tabla 1). Este compuesto puede mezclarse junto a formulaciones emulsionables de insecticidas, fungicidas y herbicidas. También interviene en el tratamiento de semillas en los cultivos de maíz y girasol, el que actúa formando una nube gaseosa alrededor de la semilla constituyendo una barrera al ingreso de los insectos (CASAFE, 2001, 2007).

El insecticida clorpirifós actúa por contacto, ingestión e inhalación. Además, al igual que los insecticidas clorados la toxicidad de este biocida está dada por la inhibición de la enzima AchE, lo que prolonga la transmisión de los estímulos nerviosos (Rose y col., 1999;

Orozco Barrenetxea y col., 2005). Los concentrados emulsionables de clorpirifós son clasificados de Clase II y III (Producto moderadamente peligroso y poco peligroso, respectivamente) (CASAFE, 2001; Garcia Araya y Don, 2002).

Además, muchas plantas son afectadas por hongos que son controlados comúnmente con fungicidas. Uno de ellos es *carbendazim*, el cual es aplicado en semillas, sobre el suelo y cultivos previniendo o reduciendo el desarrollo de una gran variedad de especies de hongos (Anexo 9.1.5: Tabla 1). Este biocida es sistémico, ya que lo absorben los tallos y hojas verdes además de las raíces de las plantas extendiéndose por todo el vegetal (CASAFE, 2001, 2007). Los fungicidas en general provocan anomalías en la germinación de esporas, e interfieren en la síntesis del ADN celular (Rose y col., 1999; USEPA, 2005).

Al compuesto carbendazim también lo comercializan junto al fungicida tiram en una mezcla formulada de *carbendazim-tiram*. Esta mezcla es una suspensión concentrada líquida en base acuosa que protege las semillas de la acción de hongos y patógenos de origen interno y externo, sin afectar el poder germinativo (Anexo 9.1.6: Tabla 1). A carbendazim lo clasifican de Clase Toxicológica IV (Producto poco o que normalmente no ofrece peligro), mientras que tiram pertenece a la Clase II (Producto moderadamente peligroso) (CASAFE, 2001; Garcia Araya y Don, 2002). Algunas investigaciones indican que el fungicida carbendazim resulta inhibidor de la enzima AchE en organismos de la fauna acuática (Cuppen y col., 2000).

La aplicación de los agroquímicos ocurre a través del empleo de diversos equipos entre ellos mochila, tractores o maquinas específicas de aplicación terrestre y avión (CASAFE, 2001, 2007). Las grandes dimensiones de los campos promueven un mayor uso de biocidas y de tecnologías mecanizadas terrestres o aéreas en el empleo de los productos. En general la aplicación de un biocida suele presentar baja eficiencia, ya que del 100% aplicado sobre una planta sólo el 30% permanece en el follaje, el resto se pierde en los procesos de degradación, retención en el suelo y deriva de la zona de cultivo (Garcia Araya y Don, 2002). Además, la absorción de las plantas puede reducirse del 10 al 1% dependiendo del tamaño y cobertura vegetal, formulación, propiedades químicas y aditivos de los agroquímicos, eficiencia de los equipos aplicadores, y materiales remanentes de aplicaciones anteriores en la superficie de las hojas (USEPA, 2000).

En este escenario nacional e internacional, la liberación masiva de los agroquímicos es una realidad inevitable que altera la calidad ambiental de las zonas agrarias, y la de los ambientes acuáticos cercanos a las áreas de aplicación. Por otra parte, existe un alto riesgo potencial de toxicidad derivado del uso inadecuado de estos productos. La potencialidad de

contaminación está relacionada con situaciones que involucran desde la decisión de controlar las especies hasta la aplicación del xenobiótico y su ulterior disposición de desechos tóxicos (Alvarado, 1998; Garcia Araya y Don, 2002).

Esta problemática incluye no sólo al sector agropecuario ligado a la producción de alimentos, sino también a los centros urbanos en donde realizan aplicaciones de biocidas con el objetivo de controlar vectores de enfermedades. En relación a estos últimos, los compuestos de uso más frecuente son los que contienen como principio activo piretroides, fosforados y warfarínicos con presentación en forma de aerosoles, polvos, entre otros (Lorenzatti y col., 2008). En este caso, la búsqueda del bienestar de la población trae como consiguiente la liberación de productos tóxicos a los sistemas naturales aledaños.

El traslado de los xenobióticos en el ambiente está influenciado en gran medida por el desplazamiento del agua como principal vehículo, lo que a su vez depende de la pendiente, porosidad y permeabilidad del suelo (Walker y col., 2001). En la región pampeana, considerada una llanura herbácea, existen diferencias en su formación orogénica. Por ejemplo, algunas planicies corresponden a fosas tectónicas cubiertas de sedimentos constituyendo una depresión con drenaje deficiente. Otras áreas presentan una suave pendiente o lomadas separadas por amplios valles fluviales aterrizados y con buen escurrimiento (Mercado y Coggiola de Panozzo, 1989). Además, los sedimentos aluviales dieron lugar a suelos ricos en materia orgánica con componentes arenosos y de elementos finos como limos y arcillas (Lacoste y Salanon, 1977; D'Angelo, 1991). La textura gruesa y porosa de los suelos arenosos, principalmente de zonas llanas y bajas, permite que la filtración sea el proceso más importante en el drenaje de la tierra (Pielou, 1998; Iriondo y Drago, 2004). En este caso, el traslado de los biocidas a través del perfil del suelo hacia las aguas subterráneas dependerá del grado de adsorción de los compuestos tóxicos a las partículas del suelo en relación a lo disuelto en el agua, determinado por el coeficiente de partición (K_d) (Walker y col., 2001). La adsorción de un agroquímico está relacionada con varios factores, algunos de ellos son la textura y acidez del suelo, la temperatura, solubilidad e hidrofobicidad de la materia orgánica, entre otros (Bailey y White, 1970). Este proceso, no solo rige los movimientos de los compuestos químicos en el suelo, sino también los mecanismos de biodisponibilidad relacionados directamente con el potencial de degradación (Tornisiello y col., 1998).

El relieve ondulado y la presencia de pendientes en la llanura pampeana, como los suelos densos y compactos propio de las zonas arcillosas favorecen la escorrentía superficial (Strahler, 1974). En estos, los xenobióticos son llevados disueltos en agua, junto a partículas minerales o de suelo húmedo hacia el interior de los ambientes acuáticos durante lluvias

fuertes sucedidas inmediatamente después de las aplicaciones. Un evento de lluvia de 93,5 mm/día en 2002, favoreció la introducción de los insecticidas clorpirifós, cipermetrina y metabolitos α y β -endosulfán en agua y sedimento de deriva, desde campos con manejo intensivo de soja al sistema acuático Pergamino-Arrecifes tributario del río Paraná (Peruzzo y col., 2003; Jergentz y col., 2004). Además en la misma zona durante 2002/2003, registraron concentraciones de estos mismos biocidas en partículas suspendidas y agua de río después de una lluvia de 67 mm/día (Jergentz y col., 2005).

Las precipitaciones provocan además, que los biocidas presentes en el aire ingresen a los ambientes acuáticos asociados a cada gota de lluvia (Walker y col., 2001). Esto debido a que algunos agroquímicos llegan al aire ya sea por deriva durante su aplicación, por intercambio desde la superficie de las plantas o por otros medios, y pueden encontrarse en estado gaseoso y en partículas sólidas o líquidas en suspensión. Muestréos de aire ambiental realizados en la ciudad de Santa Fe detectaron los organoclorados heptacloro, heptacloro epoxi, α y β -endosulfán y sulfato de endosulfán, además de β -HCH, p - p -DDE, p - p -DDD, aldrín y dieldrín en fase gaseosa y en material particulado (Lorenzatti y col., 2008). Los biocidas pueden también transportarse a grandes distancias desde las zonas agrícolas y luego depositarse sobre el suelo o la superficie de los sistemas acuáticos (Newman y Unger, 2003). Además de estos casos indeseables de contaminación, otras formas de entrada de los xenobióticos a los cuerpos de agua son los provocados por acción directa del hombre. Esto ocurre principalmente cuando los biocidas son rociados voluntariamente sobre la superficie del agua en el control de plantas e invertebrados acuáticos, y durante aplicaciones aéreas realizadas sobre campos y cuerpos de agua aledaños en la región pampeana (FAO/PNUMA 1975; Walker y col., 2001; Jergentz y col., 2005). Las fugas de los depósitos de pulverización y las prácticas inadecuadas de limpieza después del uso son otras causas posibles de contaminación (García Araya y Don, 2002).

En los ambientes acuáticos, el transporte de los biocidas por el agua depende en gran medida de la naturaleza del cuerpo hídrico receptor. Variables como el tamaño del cuerpo de agua, tipo de flujo, cantidad y características de los sedimentos, pH, biomasa total del ambiente e influencias meteorológicas tales como radiación solar, regímenes de temperaturas, entre otras influyen en la distribución de los compuestos químicos en el ambiente (Cushing y Allan, 2001). En la columna de agua los xenobióticos pueden estar disueltos, en forma de partículas o gotas (en el caso de los compuestos grasos), o unidos a elementos sólidos como el sedimento suspendido o la superficie de organismos planctónicos y neutónicos. En estas formas los tóxicos son transportados grandes distancias en la superficie o columna de agua, y

precipitar al fondo según la densidad de los compuestos siendo retenidos por el sedimento (Newman y Unger, 2003). En general, en el medio acuático la concentración de un agrotóxico disminuye al incrementar la distancia a los sitios de ingreso, y esto incide en el impacto y posterior recuperación poblacional de muchas especies de la flora y fauna del ambiente afectado (Walker y col., 2001). Por otra parte, la distancia recorrida y el tiempo de residencia de un biocida en el ambiente dependen de las propiedades químicas y la estabilidad de su molécula. Una vez liberados en el ambiente, los compuestos xenobióticos de reducida estabilidad son transformados por hidrólisis (compuestos hidrofílicos) en productos de baja toxicidad para los ecosistemas acuáticos. Muchos tipos de químicos son degradados además, por procesos químicos de oxidación y fotodegradación, mientras que otros son muy volátiles. Algunos compuestos orgánicos son transformados por la acción de grupos de organismos (algas, bacterias, hongos, entre otros) que metabolizan rápidamente las estructuras químicas de los biocidas. Sin embargo, existen moléculas altamente persistentes a la degradación química y bioquímica, y pueden tener una vida media prolongada en la biota (compuestos lipofílicos) como en el suelo, sedimentos y agua (Burns y Baughman, 1985; Walker y col., 2001; Newman y Unger, 2003).

Todas estas consideraciones permiten pensar que en el paisaje agrario pampeano, el sistema del río Paraná no está exento al ingreso de xenobióticos provenientes de las zonas productivas aledañas. Este río presenta un cauce con numerosas islas de origen fluvial, y un progresivo ensanchamiento del valle con formación de riachos laterales, arroyos y lagunas (Iriondo, 1988a). La extensa red de drenaje tiene una descarga media de 16.000 m³/s y un caudal máximo de 60.000 m³/s (Bonetto y Wais, 1995; Iriondo, 2004). El sistema del Paraná tiene una llanura inundable de escasa pendiente, que comienza en las cercanías de la ciudad de Corrientes y se extiende hasta el río de la Plata. En esta planicie aluvial, el cauce principal del río corre junto a la margen izquierda en casi todo el Paraná medio. Mientras que en el Paraná inferior se recuesta sobre la margen derecha hasta su desembocadura (Iriondo, 1988b). Las áreas forestales de la planicie fueron eliminadas por la acción del hombre siendo mayormente aprovechadas con campos de cultivos dedicados a la producción de alimentos por la fertilidad de su suelo (D'Angelo, 1991).

La estructura y funcionamiento de la llanura de inundación están condicionados por las inundaciones periódicas o pulsos hidrosedimentológicos que determinan fases de aguas altas o potamofase (en periodo estival) y de aguas bajas o limnofase (en período invernal) (Nieff, 1990, 1999). Además, la planicie presenta zonas con gran cantidad de lagunas someras, bañados y pantanos surcados por cauces adventicios no conectados a los cursos de

agua principales, activos solamente durante el comienzo y final de las inundaciones (Iriundo, 1972, 1988b; Casco, 2004). Estas formaciones constituyen ambientes vulnerables al ingreso de agroquímicos por la cercanía a las áreas de cultivo. Los biocidas también podrían entrar a los sistemas lóticos al conectarse a las lagunas durante los momentos de creciente, y cuando el agua desborda ocupando los campos de la planicie con actividad agropecuaria. Durante 1995/1996, en el cauce principal del río Paraná medio (a la altura del túnel Subfluvial Uranga-Silvestre Begnis) y en la zona centro-sur de la laguna Setúbal los insecticidas clorados registrados fueron α y γ -clordano, dieldrin, entre otros, siendo el heptacloro+heptacloro epoxi el más abundante (Lenardón y Enrique, 1998). Además, en otros muestreos realizados en la misma fecha detectaron el clorado alfa-hch y los fosforados paratión y metil-paratión disueltos en agua y adsorbidos en material suspendido del río Paraná (Lenardón y col., 1998).

La ocurrencia de biocidas es una realidad que de alguna manera puede estar afectando a las diferentes especies no blanco a las aplicaciones que forman parte de la comunidad acuática. Entre los componentes de la fauna, los macrocrustáceos del orden Decapoda son un grupo numéricamente importante y con activa participación en la estructura de la comunidad (Boschi, 1981). Estos organismos habitan los bañados, esteros, lagunas, riberas y cauces principales y pueden sobrevivir y ajustarse a variaciones en las condiciones abióticas del medio, incluyendo aquellas asociadas al ciclo hídrico y termal (Lopretto, 1995a, b; Collins y col., 2004).

Entre los representantes de esta unidad taxonómica están los camarones de la familia Palaemonidae. Una de las cinco especies que componen la familia es *Palaemonetes argentinus* Nobili (1901), quien habita el Paraná medio y afluentes (provincias de Córdoba, Santa Fe y Entre Ríos) hasta el sur de Buenos Aires, áreas de gran actividad agropecuaria. También existen registros de su distribución en San Luís y Mendoza (Morrone y Lopretto, 1994; Lopretto, 1995b; Morrone, 2001; Magalhães y col., 2003). Por otra parte, otro grupo de decápodos del río Paraná son los cangrejos de la familia Trichodactylidae. Esta reúne diez especies reconocidas exclusivas del sistema del Plata. Entre ellas, *Trichodactylus borellianus* Nobili (1896) está distribuida ampliamente a lo largo de la cuenca Parano-Platense desde Misiones y Chaco hasta el río de la Plata en Buenos Aires (Tabla 2) (Morrone y Lopretto, 1994; Lopretto, 1995b; Morrone, 2001; Magalhães y col., 2003; César y col., 2004).

La presencia de los decápodos en el río Paraná puede tener varias vías de colonización correspondiendo a ingresiones históricas desde el océano Atlántico a través del río de La Plata, desde el Amazonas por conexiones efímeras con el río Paraguay o por afluentes de este,

y desde el río Paraná con especímenes originarios de la región brasilera de la “Mata Atlántica” (Ringuelet, 1949; Collins y col., 2007a).

Tabla 2. Ubicación sistemática de las especies de camarón y cangrejo según Martin y Davis (2001).

| | | | | |
|--------------------------------|-------------------|---------------------|------------------|-----------------------------------|
| Phylum Artropoda | | | | |
| Subphylum Crustacea | | | | |
| Clase Malacostraca | | | | |
| Subclase Eumalacostraca | | | | |
| Superorden Eucarida | | | | |
| Orden Decapoda | | | | |
| Suborden Pleocyemata | | | | |
| | Infraorden | Superfamilia | Familia | Especie |
| | Caridea | Palaemonoidae | Palaemonidae | <i>Palaemonetes argentinus</i> |
| | Brachyura | Portunoidea | Trichodactylidae | <i>Trichodactylus borellianus</i> |

La morfología externa de estos crustáceos mantiene la estructura común a todos los artrópodos con el cuerpo dividido en segmentos y provistos de apéndices articulados. Difieren en el hecho de ser típicamente acuáticos, lo que hace que el intercambio gaseoso tenga lugar por difusión a través de superficies branquiales derivadas de una rama de cada apéndice birramoso característico de los crustáceos. Entre los decápodos, el suborden Pleocyemata agrupa a los que poseen filobranquias (branquias con filamentos pares en forma de hoja o lamela que se desprenden del eje central) o tricobranquias (branquias con series de ramas filamentosas laterales que se desprenden del eje branquial) (Lopretto, 1995a). Estas branquias están recubiertas por un epitelio relativamente impermeable, que permite el intercambio gaseoso y de electrolitos por regulación osmótica y transferencia iónica entre el medio externo y los fluidos internos del cuerpo (Schmidt-Nielsen, 1997).

En la respiración, la cantidad de oxígeno y dióxido de carbono que es intercambiada depende del nivel metabólico del individuo. El oxígeno consumido indica la actividad metabólica relacionada con las reacciones enzimáticas oxidativas que suceden en el cuerpo. Estas reacciones oxidativas proveen de energía a los individuos que luego es destinada al desarrollo de funciones como la locomoción, entre otras (Mente, 2003). En los crustáceos, la

medición del consumo de oxígeno es usada en la descripción de la capacidad respiratoria y la estimación de la tasa metabólica de las especies. Esta actividad está influenciada por variables internas y externas, tales como el tamaño corporal, sexo, actividad, etapa del ciclo de muda, temperatura, y la exposición a compuestos químicos contaminantes (Newman y Unger, 2003).

Los efectos de un biocida pueden ser evaluados por la reacción de los organismos y sus cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos (Ronco y col., 2004). Las alteraciones ocurridas en la actividad excretora de los crustáceos pueden provocar un importante desequilibrio del medio interno de estos organismos. En esta actividad los productos del catabolismo de los aminoácidos y la degradación de los ácidos nucleicos, y los removidos del interior de las células resultan eliminados del organismo en el mantenimiento del balance iónico de los fluidos corporales. Estos son principalmente excretados en forma de amonio, ácido úrico y urea a través de las glándulas antenales, aunque puede intervenir en esta función otras partes del cuerpo de los organismos como son el tegumento y las branquias (Parry, 1960). Estas glándulas antenales formadas por un saco interno con un canal excretor, desembocan en un poro ubicado en la base de las antenas. La cantidad de productos nitrogenados eliminados varía según factores internos y externos entre ellos la dieta, la etapa de muda, salinidad, temperatura y la presencia de contaminantes en el ambiente (Schmidt-Nielsen, 1997).

La combinación del consumo de oxígeno con los valores de excreción de nitrógeno, principalmente amonio, sugiere una relación de dependencia entre la respiración y el uso del sustrato energético (hidratos de carbono, lípidos y proteínas) (Schmidt-Nielsen, 1997). El índice O:N (razón atómica entre oxígeno consumido y nitrógeno excretado) es un indicador del estado metabólico y del recurso energético oxidado en el metabolismo de los crustáceos (Conover y Corner, 1968). Además, esta razón atómica O:N indican la relación entre la actividad fisiológica del animal y el tipo de alimento que ingieren dependiendo de la utilización que hagan del sustrato de aminoácidos durante el crecimiento, producción de energía o síntesis de otros compuestos (Mayzaud y Conover, 1988). La razón O:N fue ampliamente usada como indicador del sustrato metabólico oxidado en organismos acuáticos con distintas dietas (Díaz-Iglesias y col., 2002; Sánchez y col., 2002; Linton y col., 2005), en diferentes condiciones ambientales (Pillai y Diwan, 2002) y en exposición a contaminantes (Chen y col., 2008).

En cuanto a la estructura externa de los decápodos, estos fusionaron los segmentos cefálicos y torácicos en un cefalotórax cuyo caparazón encierra lateralmente al tórax. En muchas especies como los camarones, langostas y páncores hacia delante aparece un rostro.

Mientras que en los cangrejos el rostro desaparece. Los ojos son pedunculados y cercanos a estos presentan dos pares de antenas. Los apéndices torácicos, en un número de ocho, cumplen diversas funciones. Los tres primeros son pequeños y modificados a la alimentación denominándolos maxilípedos. Los cinco pares restantes corresponden a apéndices locomotores denominados pereiópodos, donde los tres primeros pueden estar quelados o no de acuerdo al grupo observado. El abdomen está extendido hacia atrás en camarones y langostas. Mientras que en los cangrejos ocurre un acortamiento e inflexión del abdomen. En general, el abdomen tiene cinco pleópodos y un par de urópodos terminales, los cuales pueden estar más o menos desarrollados según el grupo (Rodríguez, 1980; Lopretto, 1995b).

El camarón *P. argentinus* es de talla pequeña (máximo 6 cm de largo total) y presenta un rostro bien desarrollado con dientes en ambas márgenes (Figura 1). El caparazón es cilíndrico liso cuyo borde anterior tiene dos espinas, una antenal y otra branquiostegal, situadas en la misma línea vertical. El abdomen también es liso, donde el epímero (lámina tergolateral o pleural) del segundo somito cubre los del primero y tercero. Las anténulas presentan tres flagelos. Los dos primeros pares de pereiópodos son quelados con bordes cortantes en los dedos de las quelas. Los pleópodos están adaptados a la natación y los urópodos son más grandes que el telson (Lopretto, 1995b, 1998; Jayachandran, 2001).

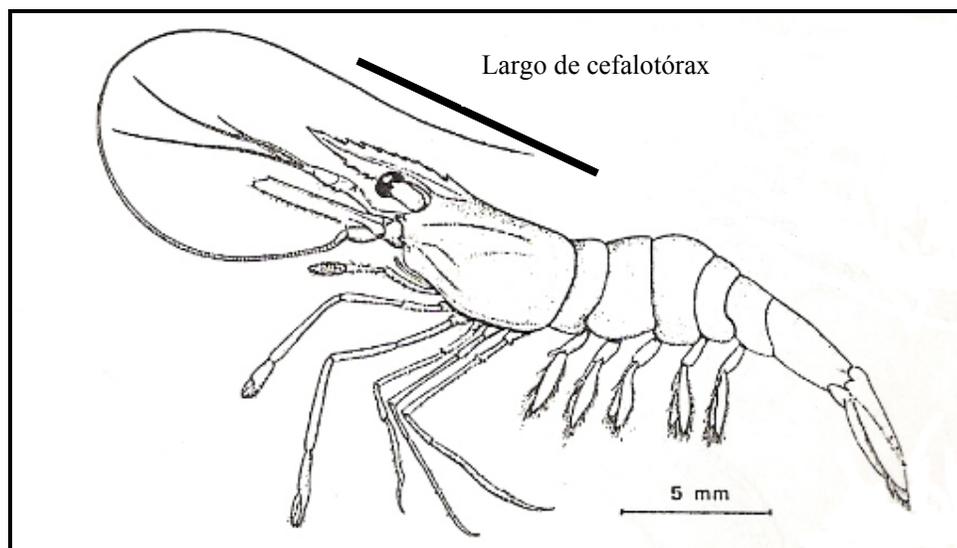


Figura 1. Vista lateral del camarón *Palaemonetes argentinus*, ejemplar macho (Lopretto, 1995b).

Por otra parte, el cangrejo *T. borellianus* es también de pequeño porte. El caparazón presenta la parte anterior ancha y fusionada al epistoma (Figura 2). El abdomen es corto, delgado, simétrico y replegado debajo del caparazón. El primer par de pereiópodos es quelado y por lo general de mayor tamaño, especialmente en los machos, y los restantes terminan en punta adaptados para caminar (Lopretto, 1995b, 1998).

En cuanto al comportamiento de estos organismos en el ambiente, el camarón *P. argentinus* generalmente nada suspendido en la columna de agua desplazándose entre zonas vegetadas y libres de vegetación. En ocasiones se lo encuentra sobre algún sustrato, ya sea en la vegetación o en el sedimento de fondo (Boschi, 1981). En el estudio de la disposición espacial del camarón, Williner y Collins (2000) determinaron en laboratorio que la ubicación de un individuo de *P. argentinus* no afecta la presencia de otro. Sin embargo en ambientes naturales, el arreglo areal de esta especie puede estar determinado por características del hábitat como la presencia o no de vegetación, presencia de especies competidoras y/o depredadoras (Kneib, 1987; Durret y Levin, 1998). Este camarón suele realizar microdesplazamientos hacia áreas más internas de los ambientes acuáticos forzado por la presencia de una especie simpátrica más agresiva *Macrobrachium borellii* (Collins y col. 2007b).

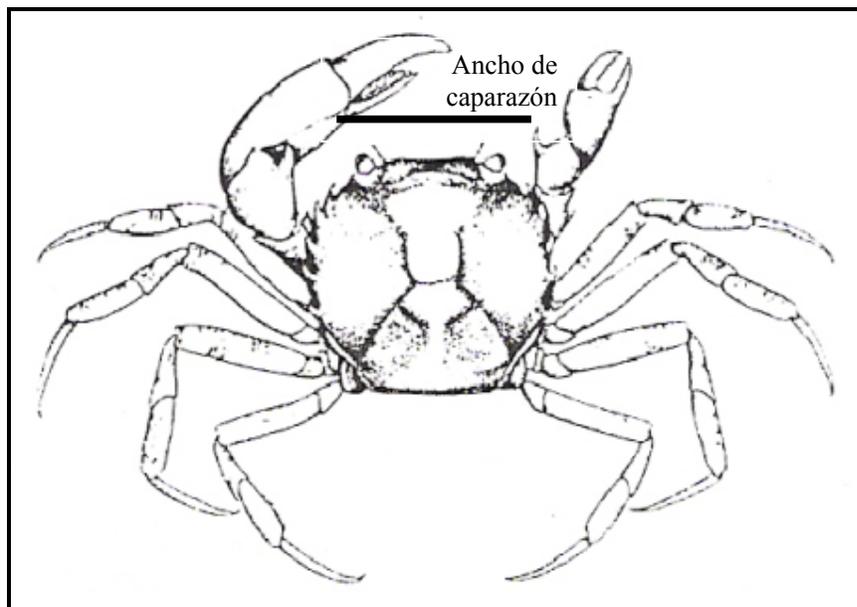


Figura 2. Vista dorsal del cangrejo *Trichodactylus borellianus*, ejemplar macho (Morrone y Lopretto, 1994).

Entre los invertebrados asociados a las plantas flotantes del valle aluvial, la frecuencia y abundancia del cangrejo *T. borellianus* lo convierten en un componente importante (Poi de Neiff y Neiff, 1980). Por lo general esta especie es más común entre las macrófitas tipo camalotes (*Eichhornia crassipes* y *E. azurea*) encontrándolo entre sus raíces. La disposición espacial del cangrejo tiene variaciones estacionales, con un arreglo contagioso durante los meses de primavera, verano y otoño, y regular durante el invierno (Collins y col., 2006).

En las interacciones tróficas dadas en las comunidades acuáticas, los decápodos cumplen un rol fundamental en la transferencia de energía. Estos son considerados omnívoros alimentándose de elementos del fitoplancton, zooplancton y bentos asociados al sedimento de fondo, y a la vegetación. Análisis de contenidos estomacales mostraron que las plantas acuáticas, algas (principalmente diatomeas), microcrustáceos (cladóceros y copépodos), rotíferos, nemátodos, oligoquetos, larvas de insectos, hongos y ocasionalmente restos de animales muertos son los componentes más comunes del espectro trófico (Collins, 1998; Collins, 1999; Collins y col., 2006; 2007a, b). Además, la actividad alimentaria de *P. argentinus* y *T. borellianus* ocurre durante todo el día pero con distinta intensidad (Collins, 1995; Renzulli y Collins, 2001). Esta variación diaria o circadiana está regulada por factores endógenos como los hormonales, y exógenos como los poblacionales y ambientales, entre otros (Florkin, 1960; Quackenbush, 1986; Williner y Collins, 2002).

En las relaciones interespecíficas de los ecosistemas litorales, camarones y cangrejos no sólo son depredadores sino también presas. Estos organismos tienen gran importancia en las tramas alimenticias de los ríos grandes, e incluso transfieren materia y energía al sistema terrestre. Algunos autores registraron a decápodos como parte del espectro alimenticio de varios peces (Bonetto y col., 1963; Cabrera y col., 1973; Oliva y col., 1981). Por otra parte, otros investigadores consideran que son depredados por especies de aves (Beltzer, 1983a, b; Beltzer y Paporello, 1984; Beltzer, 1984; Navas, 1991; Bó y Darrieu, 1993; Lajmanovich y Beltzer, 1993; Navas, 1993, 1995). Además los cangrejos, principalmente de la familia Trichodactylidae, son consumidos por algunos anfibios y mamíferos (Massoia, 1976; Bianchini y Delupi, 1993; Lajmanovich y col., 2005).

Estos crustáceos, como toda fauna acuática, no escapan a las influencias del medio que los rodean las cuales determinan ajustes en los individuos a los cambios externos de mayor incidencia (Renzulli y Collins, 2001). Normalmente ocurren variaciones en el tamaño de las poblaciones de *P. argentinus* y *T. borellianus* dadas por la presencia y tipo de vegetación acuática (especies y edad de la planta), abundancia de presas, depredadores, competidores, fluctuaciones estacionales del nivel hídrico, temperatura del agua y horas de luz-oscuridad

(Poi de Neiff y Carignan, 1997; Collins y col., 2006). Estos son algunos de los factores que provocan que en algunos momentos del año sea más difícil encontrarlos, y en otros las densidades alcancen niveles cercanos a 300 individuos/m² (Collins y col., 2006, 2007a).

Esta variación en el tamaño de las poblacionales de los decápodos es aparentemente temporal. Algunos autores indican que durante el invierno es menor el número de ejemplares, posiblemente dado por la muerte de los individuos viejos y fenómenos depredatorios. La escasez de refugios favorece además las relaciones interespecíficas agresivas y competitivas. Mientras que las poblaciones incrementan su densidad en otoño y primavera por el ingreso de nuevas cohortes, disponibilidad de refugios, y disminución de la depredación por presencia de presas alternativas a los diferentes depredadores en la comunidad litoral (Spivak, 1997; Collins, 2000). Por otra parte, los períodos de agua alta favorecen el desplazamiento de los animales o migraciones hacia nuevas áreas, y el movimiento de la vegetación fluvial también condiciona la distribución y abundancia de estos organismos (Casco, 2004).

En otras investigaciones realizadas en poblaciones naturales de *P. argentinus* observaron el desarrollo de varias cohortes de hembras reproductivas por año (Rodríguez Capítulo y Freyre, 1989). Según registros obtenidos en poblaciones de esta especie en Mar Chiquita, dos grupos de camarones hembras de talla diferente fueron ovígeras con variación en el tiempo y en la fecundidad (Spivak, 1997). Además, algunos autores evaluaron el potencial reproductivo del camarón y la producción efectiva de embriones de hembras parasitadas con *Probopyrus* cf. *oviformis* (crustáceo que castra las hembras de camarones), y su incidencia sobre poblaciones naturales (Schuldt y Damborenea, 1987). Por otra parte, la maduración ovárica de este camarón influye sobre los individuos deteniendo el crecimiento, con un efecto mayor que el provocado por la temperatura del agua en las variaciones estacionales (Felix y Petriella, 2003).

En estas especies de decápodos, como en todos los crustáceos, la rigidez del exoesqueleto restringe el crecimiento en períodos definidos, donde las mudas constituyen el proceso fisiológico que permite el incremento en talla y está regido por un ciclo que lo caracteriza (Dennell, 1960; Collins y Petriella, 1996). Este ciclo determinado por el intervalo entre dos mudas sucesivas puede dividirse en tres etapas denominadas postmuda, intermuda y premuda (Tabla 3). En estas no solo ocurren modificaciones morfológicas, fisiológicas y bioquímicas en el tegumento, sino también en hepatopáncreas, hemolinfa y órganos endocrinos (Passano, 1960; Díaz y col., 1998).

Tabla 3. Etapas del ciclo de muda y descripción de los cambios observados en la estructura tegumentaria de crustáceos decápodos según Drach (1939, 1944) en (Petriella, 1984).

| Etapa | Estadios | Características |
|----------------|----------|---|
| Postmuda | A | Luego de la eliminación del viejo exoesqueleto ocurre la secreción de nuevas capas cuticulares. |
| | B | Comienzo de la mineralización y endurecimiento de las diferentes capas del exoesqueleto. |
| Intermuda | C | Continuación de la mineralización con mayor engrosamiento y endurecimiento del exoesqueleto. Hay crecimiento somático de diferentes tejidos, depósito de reservas (especialmente a nivel del hepatopáncreas). Período de cierta estabilidad tegumentaria. |
| Premuda | D | Retracción de la epidermis de la vieja cutícula con posterior digestión química de las capas más profundas de la misma (apólisis). Reabsorción de minerales y materiales orgánicos del exoesqueleto. Comienzo de la formación de la nueva cutícula por debajo del viejo exoesqueleto. |
| Muda o ecdisis | E | Captación activa de agua (aumento de la presión hemolinfática) para la apertura de la línea de sutura de la vieja cutícula. Desprendimiento del antiguo exoesqueleto y estiramiento de la nueva y blanda cutícula. |

El ciclo de muda ocurre bajo la regulación principal de la hormona 20-OH-ecdisona (o β -ecdisona, ecdiesterona) secretada por el órgano Y. La secreción de esta hormona de la muda, esta regulada por la hormona inhibidora de la muda que está secretada y regulada por el complejo glándula del seno-órgano X en el pedúnculo ocular (Dall y Barclay, 1977; Fingerman, 1995). Algunos autores registraron las modificaciones tegumentarias tales como pigmentación y grado de rigidez (Souza y col., 1997) y variaciones internas en la formación de nuevas sedas o setogénesis como elementos que definen el momento del ciclo de muda en la que se encuentra un individuo (Díaz y col., 1998).

Las mudas son más frecuentes en las primeras etapas de la vida del animal, donde también hay un mayor aumento relativo en el tamaño corporal. Luego la frecuencia de las mudas disminuye con una reducción progresiva del incremento en la talla (Hartnoll, 1982). Por esta característica, en el estudio de crecimiento de los crustáceos se distinguen dos componentes fundamentales como son el incremento que ocurre en cada muda y el lapso de intermuda o intervalo de muda (Petriella y Boschi, 1997).

El incremento por muda, es el aumento en talla, peso, forma o volumen que comúnmente ocurre entre un estadio larval y el siguiente o entre mudas sucesivas del juvenil o adulto. Mientras que la longitud del período o intervalo de muda, es el tiempo que transcurre entre dos mudas sucesivas. Ambos componentes varían no solo con la edad del individuo, sino también con el sexo, estado nutricional y condiciones ambientales (temperatura, salinidad y luz entre otros factores) (Hartnoll, 1982). En diferentes estudios registraron un mayor incremento por muda y un acortamiento de la intermuda del cangrejo *T. borellianus* con el aumento en la temperatura (Renzulli y Collins, 2000), y del camarón *P. argentinus* con la variación del fotoperíodo (Díaz y col., 2003).

El crecimiento de muchas especies de crustáceos resulta severamente afectado por la exposición a contaminantes ambientales. Algunos estudios registraron alteraciones en el ciclo de muda y en la formación del nuevo exoesqueleto, además de frecuentes amputaciones de los apéndices (Fingerman, 1985).

Las investigaciones realizadas con crustáceos decápodos durante las últimas décadas, incrementaron el conocimiento de aspectos relacionados con la biología y ecología de este grupo zoológico de importancia en los ecosistemas locales. Esto permitió que puedan considerarse a las especies de decápodos como efectivos organismos de prueba en estudios sobre los efectos de diferentes biocidas. En experiencias realizadas a campo algunos autores incluyeron a los crustáceos en la evaluación de los xenobióticos sobre los ecosistemas acuáticos. Por ejemplo en ensayos *in situ* con especies de ambientes tributarios del río Arrecifes (provincia de Buenos Aires), Jergentz y col. (2004) registraron una mortalidad del 80% en el anfípodo *Hyalella curvispina* y del 40% en el camarón *Macrobrachium borellii* por exposición a insecticidas, principalmente clorpirifós, provenientes de aplicaciones cercanas.

Esto permite pensar que la reducción o pérdida temporal de especies en ambientes afectados genera cambios en la composición estructural de las comunidades acuáticas disminuyendo la biodiversidad. Lo que a su vez ocasiona variaciones de tipo funcional, ya que afecta la disponibilidad de especies en el flujo de materia y energía (Nimmo, 1985; Walker y col., 2001). Por lo general, en los ecosistemas afectados existen diferencias en la

sensibilidad de las especies y de los individuos de sus poblaciones, dada principalmente por la edad o estadio de vida. Según USEPA (2002) los organismos jóvenes son en general más sensibles a los tóxicos que los adultos, por lo que el uso de los estadios de vida tempranos y juveniles son los más requeridos para los ensayos.

Las experiencias diseñadas en laboratorio y a escala de mesocosmos resultan de gran valor en la interpretación de los efectos adversos de diferentes agroquímicos sobre la biota. En ensayos en laboratorio, especies de camarones y cangrejos autóctonos dieron buenos resultados en cuanto al manejo y mantenimiento en cautividad. Además estos decápodos son de fácil obtención, muy representativos de los ecosistemas locales y han demostrado ser sensibles al ser incorporados en experiencias de toxicidad (Rodríguez Capítulo, 1984a, b; Rodríguez y col., 1998; Williner y Collins, 2003; Collins y Cappello, 2006).

En la evaluación del potencial tóxico de un agroquímico, los ensayos agudos son comúnmente usados en la determinación de la concentración letal media (CL_{50}) del biocida. Este valor indica la concentración estimada que provoca la muerte del 50% de la población de individuos expuestos durante un tiempo determinado (Parrish, 1985; Fränze, 2003). En algunos invertebrados acuáticos y peces, estos ensayos de toxicidad son en general basados en un período de exposición de 96 horas (Ecobichon, 1992; Newman y Unger, 2003). Además, este valor letal medio permite establecer concentraciones de biocidas en la evaluación de posibles alteraciones sobre funciones vitales de los individuos en exposición aguda o crónica, tales como consumo de oxígeno, excreción de elementos nitrogenados y crecimiento (Clements y Newman, 2002; Newman y Unger, 2003). En consecuencia, la toxicidad es considerada como la capacidad de un biocida de ejercer un efecto nocivo sobre un organismo, que depende de las propiedades químicas del compuesto como de la concentración, el tiempo de exposición al tóxico y el ciclo de vida del individuo (Ronco y col., 2004).

Si bien los ensayos de laboratorio, donde la evaluación de las respuestas es en condiciones controladas y estandarizadas, proporcionan información con alcance limitado en su extrapolación a escala ambiental, son considerados fuentes de información predominantes en la evaluación ecológica de los efectos de contaminantes tóxicos (Buikema y col., 1993). Por otra parte, las experiencias diseñadas a escala de mesocosmos brindan información toxicológica que contribuyen en la interpretación de los efectos observables en el contexto del ecosistema acuático (Resetarits y Fauth, 1998). Según Buikema y Voshell (1993), el término mesocosmos fue propuesto por K. Banse en 1982 y consisten en cerramientos físicos de una porción de un ecosistema natural, o estructuras construidas por el hombre como formas aisladas representativas de un ambiente. Estos sistemas de ensayo permiten el estudio de las

comunidades acuáticas expuestas al ingreso de agroquímicos, y los efectos tóxicos sobre algunos de sus componentes tales como macroinvertebrados bentónicos, organismos planctónicos y peces (Buikema y Voshell, 1993; Newman y Unger, 2003).

En el contexto de actividad antrópica es necesario indicar también que los productos biocidas usados por los agricultores son formulaciones comerciales que incluyen el elemento activo y los coadyuvantes. Por esta razón, al abordar el problema de la contaminación resulta imprescindible considerar que el efecto adverso sobre los sistemas biológicos es ejercido por la acción combinada de todas las sustancias nocivas presentes en los productos agroquímicos, ya que es la forma en que son liberados al medio ambiente.

Algunos compuestos son de mayor preferencia y/o consumo por el hombre y son comercializados sin restricciones con diferentes marcas, variando en ellas la concentración del principio activo. Muchos incluso, tienen gran aplicación en una alta diversidad de cultivos y resultan efectivos sobre un amplio espectro de especies. Ejemplos de estos agroquímicos son el glifosato, éster butílico del ácido 2,4-diclorofenoxiacéticos (2,4-D), endosulfán, clorpirifós, cipermetrina, deltametrina, carbendazim, carbendazim-tiram, carbaril, carbofuram, entre otros.

Objetivos

2. Objetivos

El objetivo general propuesto en la presente tesis doctoral fue:

Evaluar la toxicidad de herbicidas, insecticidas y fungicidas a partir de formulaciones comerciales tomando como ejemplo a los agroquímicos glifosato, éster butílico del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), endosulfán, clorpirifós, carbendazim y carbendazim-tiram en representantes de la fauna acuática regional como son el camarón *P. argentinus* y el cangrejo *T. borellianus*.

La evaluación de la toxicidad en estos compuestos fue realizada a través del cumplimiento de los siguientes objetivos específicos desarrollados en laboratorio:

- Determinar la concentración en la que cada biocida resulta letal a la mitad de la población de las especies *P. argentinus* y *T. borellianus* expuestas separadamente durante un período de 24, 48, 72 y 96 horas.
- Evaluar los cambios en la tasa de consumo de oxígeno y excreción de amonio en *P. argentinus* y *T. borellianus* producidos por la exposición tóxica, como variables fisiológicas indicadoras de alteraciones de la homeostasis corporal.
- Determinar los efectos provocados por los biocidas sobre el crecimiento individual de *P. argentinus* y *T. borellianus* durante ciclos de muda consecutivos, analizando las modificaciones en la actividad fisiológica e interpretando las alteraciones metabólica.

Además, los objetivos específicos propuestos en el estudio de toxicidad de agroquímicos a escala de mesocosmos fueron:

- Evaluar el impacto de cada xenobiótico en *P. argentinus* y *T. borellianus* colocados en pequeñas lagunas construidas artificialmente.
- Comparar la letalidad de los biocidas evaluados en las especies *P. argentinus* y *T. borellianus* con la historia de vida que posee cada una de ellas.

3. Hipótesis

Dentro del contexto y los objetivos planteados, las hipótesis correspondientes fueron las siguientes:

- 1) Los agroquímicos glifosato, éster butílico del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), endosulfán, clorpirifós, carbendazim y carbendazim-tiram en sus formulaciones comerciales producen mortalidad en *P. argentinus* y *T. borellianus*.
- 2) Los productos de Clase Toxicológica I y II actúan negativamente sobre *P. argentinus* y *T. borellianus* en concentraciones más bajas que los de Clase III y IV.
- 3) Los agroquímicos glifosato, 2,4-D, endosulfán, clorpirifós, carbendazim y carbendazim-tiram alteran el consumo de oxígeno y la excreción de productos nitrogenados del camarón *P. argentinus* y del cangrejo *T. borellianus*.
- 4) Las sustancias de Clase Toxicológica I y II alteran en mayor grado la tasa de consumo de oxígeno y excreción de productos nitrogenados en *P. argentinus* y *T. borellianus* que los de Clase III y IV.
- 5) Los agroquímicos glifosato, 2,4-D, endosulfán, clorpirifós, carbendazim y carbendazim-tiram afectan el crecimiento del camarón *P. argentinus* y del cangrejo *T. borellianus*.
- 6) Los agroquímicos de Clase Toxicológica I y II provocan cambios más importantes en el crecimiento de *P. argentinus* y *T. borellianus* que los de Clase III y IV.
- 7) La aspersión de los agroquímicos glifosato, 2,4-D, endosulfán, clorpirifós, carbendazim y carbendazim-tiram en un ambiente acuático afecta la supervivencia de poblaciones del camarón *P. argentinus* y del cangrejo *T. borellianus*.
- 8) Los plaguicidas de Clase Toxicológica I y II afectan en mayor medida la supervivencia de las poblaciones de *P. argentinus* y *T. borellianus* que los de Clase III y IV.

Materiales y Métodos

4. Materiales y Métodos

En respuesta a las hipótesis planteadas y en el cumplimiento de los objetivos propuestos fue necesario el desarrollo de experiencias en condiciones controladas en laboratorios y la construcción de ambientes acuáticos artificiales con individuos de las dos especies de crustáceos consideradas.

Captura y mantenimiento de los ejemplares de crustáceos decápodos dulciacuícolas

Los ejemplares de *P. argentinus* y *T. borellianus* procedieron de zonas litorales con abundante vegetación acuática flotante de ríos con caudal medio entre 10600 m³/s y 31000 m³/s tributarios del río Paraná, y de áreas cuyas características físicas y químicas presentaban un menor impacto antrópico.

La captura de estas especies sucedió durante los momentos en que comúnmente estos crustáceos desarrollan una alta actividad trófica y realizan desplazamientos verticales y horizontales (Lopretto, 1995a; Renzulli y Collins, 2001; Collins, 1997; Collins y col., 2007a). Las horas más apropiadas de recolección del camarón correspondieron a las de mayor intensidad lumínica, mientras que en el cangrejo fueron las crepusculares. Las capturas ocurrieron previamente a las experiencias durante los años 2004/2008, mediante el empleo de un copo de mano de 1 mm de abertura de malla. La recolección del cangrejo también fue con un copo retirando los individuos de las raíces de camalotes. El traslado de los ejemplares al laboratorio del Instituto Nacional de Limnología fue en recipientes de plástico de 10 L con agua del ambiente de donde provenían, extremando los cuidados a fin de reducir el estrés.

En el laboratorio, los acuarios de estos crustáceos fueron de vidrio de 0,25 m x 0,50 m de superficie y 0,35 m de profundidad. Los que incluyeron sustratos artificiales a modo de apoyo y refugio, agua y vegetación proveniente de ecosistemas acuáticos naturales (algas, *E. crassipes* y *E. azurea*, *Potamogeton sp.*, entre otras) y agua de red previamente declorinada. El uso de aireadores aseguró la oxigenación del medio líquido. Las condiciones usadas en el laboratorio fueron en función a las características ambientales presentes de acuerdo a la ubicación geográfica de las especies estudiadas (Tabla 4). Estos parámetros ambientales fueron constantes y mantenidos durante las experiencias.

Los ejemplares alimentados *ad libitum*, consumieron una dieta balanceada preparada previamente en el laboratorio (36% de proteínas y 10% de lípidos) (Collins y Petriella, 1996), y músculo de pescado fresco triturado. La limpieza de los acuarios previo al ofrecimiento de alimento preservó la calidad del sistema de cultivo. Esta limpieza fue mediante sifoneado de los restos de alimentos no consumidos y materia fecal, renovando el 30% del medio líquido. Esta primera etapa de 7 a 10 días de duración antecedió a la colocación de los ejemplares en los ensayos. El registro de una mortalidad menor o igual al 5% en las poblaciones de crustáceos a los 7 días de mantenimiento permitió la aceptación de los lotes de individuos capturados.

Tabla 4. Valores de parámetros físico-químicos medidos en los acuarios y sistemas de cultivos en el período de adaptación y mantenimiento de los individuos de cada especie.

| Condiciones de mantenimiento | |
|-------------------------------------|----------------------------|
| Temperatura del agua | 25 ± 1 °C |
| pH | 7,8 ± 0,5 |
| Conductividad | 900 ± 150 µS/cm |
| Oxígeno disuelto | 6,0 ± 0,5 mg/L |
| Dureza | 383 mgCaCO ₃ /L |
| Fotoperíodo | 14-10 hs luz-oscuridad |

Los ejemplares fueron medidos bajo microscopio estereoscópico con un calibre de ± 0,01 mm de precisión, y registrado su peso húmedo con una balanza Sartorius de ± 0,01 g de precisión. La medida usada en *P. argentinus* fue el largo de cefalotórax (LC), definido desde la punta del rostro en el extremo frontal hasta el borde posterior del cefalotórax (Figura 1). Mientras que en el cangrejo *T. borellianus* la talla evaluada fue el ancho de caparazón (AC), considerada como la distancia entre las primeras espinas postorbitales del caparazón (Figura 2).

Biocidas usados: productos comerciales

De cada agroquímico considerado, fue seleccionado para los ensayos el producto comercial de mayor preferencia en las aplicaciones por los agricultores y municipios locales (Tabla 5). Estos productos en formulaciones líquidas o emulsionables, fueron obtenidos de empresas proveedoras de la región.

Tabla 5. Producto comercial de cada agroquímico con indicación de la formulación, composición y fabricante.

| Agroquímico | Marca comercial | Composición | Fabricante |
|-------------------|--------------------------------|---|------------------------|
| Glifosato | Roundup [®] | 48,0 g de glifosato (48%) en 100 cm ³ de surfactante POEA (polioxietilen amina) | Compañía Monsanto S.A. |
| 2,4-D | Herbifen Super [®] | 97,0 g de éster butílico de 2,4-D (97%) (equivalente a 77,4 g del ácido 2,4 diclorofenoxiacético) en 100 cm ³ de solventes | Ciagro S. A. |
| Endosulfán | Zebra Ciagro [®] | 35,0 g de endosulfán (35%) en 100 cm ³ de coadyuvantes | Ciagro S. A. |
| Clorpirifós | Terminator Ciagro [®] | 48,0 g de clorpirifós (48%) en 100 cm ³ de coadyuvantes | Ciagro S. A. |
| Carbendazim | Flow Thin 50 [®] | 50,0 g de carbendazim en 100 cm ³ de coadyuvantes | Ciagro S. A. |
| Carbendazim-tiram | Flow Thin 15-35 [®] | 15,0 g de carbendazim (15%) y 35,0 g de tiram (35%) en 100 cm ³ de humectantes, dispersantes, colorantes y agua | Ciagro S. A. |

4.1. Ensayos de toxicidad letal aguda

Las experiencias de toxicidad fueron realizadas en áreas del Laboratorio de Bioensayos separadas de los cultivos de mantenimiento, a fin de evitar la posible pérdida de los organismos por contaminación cruzada. La evaluación de los biocidas en las especies de crustáceos ocurrió mediante ensayos estáticos uniespecíficos de 96 horas de duración acorde a lo recomendado por APHA (1985) y USEPA (2002). Según la USEPA (2002), en este tipo de ensayos la persistencia relativamente constante de las concentraciones nominales durante las experiencias indicaría una variación menor al 20% de las características físicas y químicas de los plaguicidas empleados (Anexo 9.2). La respuesta letal de los organismos a la exposición tóxica de los agroquímicos fue determinada en dos etapas de ensayo:

Primera etapa: ensayos preliminares. Esta instancia inicial consistió en la evaluación de series de 4 a 6 concentraciones nominales por agroquímico y un control, con al menos una réplica. Las concentraciones abarcaron un rango amplio definido a partir de antecedentes bibliográficos existentes sobre la toxicidad de los biocidas. El desarrollo de estas pruebas iniciales definió las concentraciones en la evaluación definitiva y proporcionó el valor aproximado de la concentración letal media (CL_{50}) del xenobiótico sobre cada especie.

Segunda etapa: ensayo definitivo. Esta parte final comprendió una serie de concentraciones nominales siguiendo una serie geométrica (multiplicadas por un factor de dilución) y un grupo control, cada una contó con 3 réplicas. El rango de concentraciones abarcó desde la menor concentración que en el ensayo preliminar produjo una mortalidad del 100% a la mayor que no provocó muertes. Las concentraciones definidas en los ensayos fueron las observadas en la Tabla 6. Estas experiencias determinaron los valores de la CL_{50} en cada período de tiempo (24, 48, 72, 96 horas), designadas como $CL_{50-24hs}$, $CL_{50-48hs}$, $CL_{50-72hs}$ y $CL_{50-96hs}$.

En ambas etapas de experimentación fue usada agua de red previamente declorinada por liberación del cloro gaseoso. Esto fue realizado mediante la oxigenación continua del agua durante 48 horas con aireadores, y los parámetros de calidad fueron indicados en la Tabla 7.

Tabla 6. Concentraciones nominales de cada biocida usado en la determinación de los valores de CL₅₀.

| Agroquímico | Especie | Concentraciones |
|---|-----------------------|---|
| Glifosato Roundup [®] | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 70,000 - 140,000 - 281,000 - 562,000 - 1124,000 mg/L (Factor de dilución: 0,50) |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 19,000 - 37,000 - 75,000 - 150,000 - 300,000 mg/L (Factor de dilución: 0,50) |
| 2,4-D Herbifen Super [®] | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 1,166 - 1,944 - 3,240 - 5,400 - 9,000 -15,000 mg/L (Factor de dilución: 0,60) |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 6,250 - 12,500 - 25,000 - 50,000 - 100,000 - 200,000 mg/L (Factor de dilución: 0,50) |
| Endosulfán Zebra Ciagro [®] | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 0,976 - 1,952 - 3,904 - 7,808 - 15,616 µg/L (Factor de dilución: 0,50) |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 244,140 - 488,280 - 976,560 - 1953,120 - 3906,250 µg/L (Factor de dilución: 0,50) |
| Clorpirifós Terminator Ciagro [®] | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 0,011 - 0,022 - 0,045 - 0,090 - 0,180 - 0,360 - 0,720 - 1,440 - 2,880 - 5,760 µg/L (Factor de dilución: 0,50) |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 5,760 - 14,400 - 36,000 - 90,000 - 225,000 - 562,000 µg/L (Factor de dilución: 0,40) |
| Carbendazim Flow Thin 50 [®] | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 0,006 - 0,012 - 0,025 - 0,050 - 0,100 - 0,200 - 0,400 - 0,800 g/L (Factor de dilución: 0,50) |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 0,777 - 1,296 - 2,160 - 3,600 - 6,000 - 10,000 g/L (Factor de dilución: 0,60) |
| Carbendazim- tiram Flow Thin 15- 35 [®] | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 0,035 - 0,070 - 0,140 - 0,280 - 0,560 -1,120 - 2,240 mg/L (Factor de dilución: 0,50) |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 279,000 - 777,600 - 2160,000 - 6000,000 mg/L (Factor de dilución: 0,36) |

Cada recipiente contó con 10 individuos juveniles en estado de intermuda, los que fueron colocados unas horas antes de la aplicación del agroquímico a fin de permitir la

adaptación al recipiente de ensayo y la reducción del estrés por manipuleo. Los organismos muertos o inmóviles registrados cada 24 horas, fueron inmediatamente removidos. Además, el cambio en el comportamiento de los individuos de cada especie permitió identificar los efectos de los biocidas en forma cualitativa. Los principales elementos de observación fue la actividad locomotora. Al finalizar las experiencias, los animales fueron medidos y pesados determinando la talla utilizada.

Tabla 7. Condiciones experimentales usadas en los ensayos letales agudos con el camarón *P. argentinus* y el cangrejo *T. borelianus*, y criterios de aceptabilidad de los ensayos.

| | |
|---|---|
| 1. Tipo de ensayo | Estático sin renovación del medio líquido |
| 2. Duración del ensayo | 96 hs |
| 3. Temperatura | 25,0 ± 1,0 °C, acorde a la ubicación geográfica de las especies |
| 4. Calidad de luz | Iluminación del ambiente del laboratorio |
| 5. Intensidad de luz | 10 - 20 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ (niveles del ambiente del laboratorio) |
| 6. Fotoperíodo | 14 hs de luz, 10 horas de oscuridad |
| 7. Tamaño del recipiente de ensayo | 26 cm de diámetro, 11 cm de alto |
| 8. Cantidad de medio líquido del recipiente | 3 L |
| 9. Parámetros físico-químicos del agua | <ul style="list-style-type: none"> - pH 7,4 ± 0,4 (variación registrada desde el inicio de los ensayos hasta las 96 hs) (peachímetro HANNA, modelo HI991003). - Oxígeno disuelto: 7,00 ± 0,30 mg/L al inicio; 5,30 ± 0,41 mg/L a las 48 hs y 4,40 ± 0,35 mg/L a las 96 hs (oxímetro HANNA, modelo HI9143). - Conductividad: 900 ± 150 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (variación registrada desde el inicio de los ensayos hasta las 96 hs) (conductímetro HANNA, modelo HI9033). - Dureza: 383 mgCaCO₃/L |

| | |
|--|---|
| (Continuación) | - Amonio: 0,14 ± 0,06 mg/L |
| 10. Etapa del ciclo de vida de los organismos | juvenil |
| 11. Número de organismos en recipiente de ensayo | 10 por recipiente y 30 por concentración |
| 12. Número de recipientes réplicas | 3 por concentración y 3 controles |
| 13. Alimentación | Sin alimentación durante el ensayo |
| 14. Aireación | Sin aireación del medio durante el ensayo |
| 15. Efecto observado | Mortalidad |
| 16. Criterios de aceptabilidad de los ensayos | <ul style="list-style-type: none"> - Reducida variación de los parámetros temperatura, pH, conductividad y oxígeno disuelto durante el tiempo de ensayo. - Mortalidad menor o igual a 10% en los controles. - Variación de la sensibilidad del grupo de crustáceos ensayados en cada concentración dentro de ± 2 d.e. (desvío estándar). |

Análisis estadístico de los datos obtenidos

El valor de la CL_{50} y los límites de confianza al 95% fueron determinados en cada réplica a intervalos de 24 hs mediante el uso del programa estadístico Probit Analysis Program de la USEPA, Versión 1.5. El Método Probit es un procedimiento estadístico paramétrico para la estimación de la CL_{50} y el cálculo del intervalo de confianza (95%). El análisis consiste en encontrar estimadores m-verisímiles de parámetros de regresión y de tasas naturales (como mortalidad) de respuesta para ensayos biológicos analizando porcentajes de efectos-dosis dentro del marco de la regresión (USEPA, 2002; Díaz Báez y col., 2004).

La distribución normal de los valores de CL_{50} por réplica cada 24 hs fue verificada mediante los test de Chi-cuadrado (X^2) y Shapiro-Wilks, y la homoscedasticidad con el test de Bartlett ($p < 0,10$) a través del programa estadístico PAST (Paleontological Statistics Software) de Hammer y col. (2001). La falta de distribución normal y en algunos casos homoscedasticidad determinó que estos valores de toxicidad (CL_{50}) fueron posteriormente comparados entre sí mediante el test no paramétrico de Kruskal-Wallis. Las diferencias entre las CL_{50} en los distintos días de exposición fueron detectadas a través del post test de

comparaciones múltiples no paramétrico de Tukey, según el test de Nemeyi ($p < 0,05$) (Zar, 1996).

La relación entre los valores de CL_{50} obtenidos por réplica y el tiempo de exposición fue evaluada según el modelo de regresión lineal de mínimos cuadrados y exponencial, con las siguientes ecuaciones:

$$CL_{50} = a + b * \text{tiempo de exposición}$$

$$CL_{50} = \exp^{(a + b * \text{tiempo de exposición})}$$

$$CL_{50} = \exp^{(a + b / \text{tiempo de exposición})}$$

Donde el coeficiente a representa el valor de la intercepción al eje Y (valores de CL_{50}), y b es la variación del nivel letal expresada en la pendiente de la recta de regresión.

4.2. Efectos en el metabolismo: consumo de oxígeno y excreción de amonio

Una forma de evaluar los posibles efectos de la exposición tóxica sobre el metabolismo de los individuos, es mediante el estudio de los cambios provocados en el consumo de oxígeno y la excreción de amonio. Estos parámetros fueron analizados mediante ensayos estáticos de 24 horas en el camarón *P. argentinus* y el cangrejo *T. borellianus* expuestos a 3 concentraciones nominales de cada agroquímico cercanas al valor de la CL_{50} -24hs determinada previamente en cada especie (Tabla 8). Las soluciones tóxicas fueron preparadas previamente al inicio de las experiencias. Para ello fue usada agua de red previamente declorinada por liberación del cloro gaseoso, realizado mediante la oxigenación continua del agua durante 48 horas con aireadores.

Los organismos fueron colocados individualmente en cada cámara respirométrica. Las cámaras utilizadas fueron de acrílico, cilíndricas con 0,090 L de capacidad y cierre hermético. Un orificio en la parte superior de la cámara permitió la colocación del electrodo de oxígeno que permaneció en esa posición durante todo el tiempo de ensayo. La temperatura del medio líquido de ensayo fue mantenida acorde a la temperatura del laboratorio ($25,0 \pm 0,5$ °C) y controlada a través de un sensor de temperatura ubicado adyacente al electrodo de oxígeno (Tabla 9).

Tabla 8. Concentraciones nominales de cada biocida usadas en la evaluación de algunos parámetros metabólicos.

| Agroquímico | Especie | Concentraciones |
|---------------------------------------|-----------------------|--|
| Glifosato Roundup® | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 30,000 - 100,000 - 300,000 mg/L |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 30,000 - 100,000 - 300,000 mg/L |
| 2,4-D Herbifen Super® | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 3,000 - 6,000 - 12,000 mg/L |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 125,000 - 250,000 - 500,000 mg/L |
| Endosulfán Zebra Ciagro® | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 3,000 - 6,000 - 12,000 µg/L |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 625,000 - 1250,000 - 2500,000 µg/L |
| Clorpirifós Terminator Ciagro® | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 0,040 - 0,400 - 4,000 µg/L |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 75,000 - 150,000 - 300,000 µg/L |
| Carbendazim Flow Thin 50® | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 1,500 - 3,000 - 6,000 g/L |
| | <i>T. borellianus</i> | - |
| Carbendazim-tiram Flow Thin 15-35® | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 1,250 - 2,500 - 5,000 mg/L |
| | <i>T. borellianus</i> | - |

La concentración de oxígeno disuelto (OD) en el medio líquido de la cámara fue medida al comienzo de cada experiencia antes de la colocación del animal, y posteriormente en el lapso de 1, 2, 3, 4 y 24 horas.

La determinación del nivel de amonio inicial fue realizada sobre dos muestras de 25 ml del medio líquido de ensayo al comienzo de las experiencias. Luego el mismo procedimiento permitió la medición del amonio excretado por los crustáceos expuestos en los tratamientos con biocida y control al final de las experiencias. Los niveles de amonio fueron determinados colorimétricamente mediante el método de Nessler ajustado (Rodier, 1981). Este consistió en la colocación de reactivos cuyos componentes (nitroferrocianato de sodio, fenol e hipoclorito de sodio con hidroxido de sodio) difieren de los reactivos de Nessler (yoduro mercúrico, yoduro potásico e hidroxido de sodio) a 25 ml de muestra del líquido de ensayo, mientras que otros 25 ml de muestra permanecieron sin reactivo. Luego de 30 minutos, las muestras mantenidas protegidas de la luz fueron medidas con el espectrofotómetro HACH modelo DR/2000 a una longitud de onda de 630 nm. La absorbancia de la coloración producida tras la reacción química entre el ión amonio (NH_4^+) y

los reactivos fue comparada con la muestra sin reactivo. Estos valores fueron posteriormente ajustados según la curva de calibración de amonio (Anexo 9.3).

Tabla 9. Condiciones experimentales usadas de los ensayos de consumo de oxígeno y excreción de amonio del camarón *P. argentinus* y el cangrejo *T. borelianus*, y criterios de aceptabilidad de los ensayos.

| | |
|--|--|
| 1. Tipo de ensayo | Estático sin renovación del medio líquido |
| 2. Duración del ensayo | 24 hs |
| 3. Temperatura del medio líquido de ensayo | 25,0 ± 1,2 °C, acorde a la ubicación geográfica de las especies |
| 4. Calidad de luz | Iluminación del ambiente del laboratorio |
| 5. Intensidad de luz | 10 - 20 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ (niveles del ambiente del laboratorio) |
| 6. Fotoperíodo | 14 hs de luz, 10 horas de oscuridad |
| 7. Tamaño de la cámara respirométrica | 4 cm de diámetro, 8 cm de alto |
| 8. Cantidad de medio líquido de la cámara | 0,090 L |
| 9. Parámetros físico-químicos del agua | <ul style="list-style-type: none"> - pH 7,5 ± 0,2 (variación registrada desde el inicio de los ensayos hasta las 24 hs) (peachímetro HANNA, modelo HI991003). - Oxígeno disuelto: 6,60 ± 0,28 mg/L al inicio (oxímetro HANNA, modelo HI9143). - Conductividad: 900 ± 150 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (variación registrada desde el inicio de los ensayos hasta las 24 hs) (conductímetro HANNA, modelo HI9033). - Dureza: 383 mgCaCO₃/L - Amonio: 0,14 ± 0,06 mg/L |
| 10. Etapa del ciclo de vida de los organismos | juvenil |
| 11. Número de organismos en la cámara respirométrica | 1 por recipiente y 20 por concentración |
| 12. Número de cámaras réplicas | 20 por concentración y 20 controles |

| | |
|---|---|
| (Continuación) | |
| 13. Alimentación | Sin alimentación durante el ensayo |
| 14. Aireación | Sin aireación del medio durante el ensayo |
| 15. Efecto observado | Consumo de oxígeno y excreción de amonio |
| 16. Criterios de aceptabilidad de los ensayos | - Reducida variación de los parámetros temperatura, pH y conductividad durante el tiempo de ensayo. - Mortalidad menor o igual a 10% en controles. |

Durante el tiempo de ensayo fue observado el comportamiento de los organismos y registrados los efectos por la exposición al tóxico. Posteriormente, los individuos fueron medidos y registrado su peso húmedo. La cantidad de oxígeno consumida por los organismos fue calculada a través de la diferencia de OD medido en el medio líquido de ensayo en cada hora y a las 24 hs, y expresada como $\text{mgO}_2/\text{g.h}$. Por otra parte, la cantidad de amonio excretado definida como la diferencia entre el nivel de amonio inicial y el medido al término de las experiencias fue expresada como $\text{mgNH}_4\text{-N/g.h}$.

El índice O:N fue usada como una herramienta que identifica el sustrato metabólico que los animales usan en la demanda energética corporal durante la exposición a los biocidas. Esta razón atómica es el producto de la relación entre el oxígeno consumido y el amonio excretado y se expresa como la cantidad de átomos de cada molécula por gramo de peso del organismo (Díaz-Iglesias y col, 2002).

Análisis estadístico de los datos obtenidos

La distribución normal de los pesos en los ejemplares y los valores obtenidos de consumo de oxígeno y excreción de amonio fue evaluada en cada grupo mediante los test de Chi-cuadrado (X^2) y Shapiro-Wilks, y la homoscedasticidad con el test de Bartlett ($p < 0,10$) mediante el programa estadístico PAST (Paleontological Statistics Software) de Hammer y col. (2001). Luego, estos valores fueron comparados a través del análisis de la varianza de una vía (ANOVA) o por el método no paramétrico de Kruskal-Wallis. Las diferencias significativas entre las concentraciones de biocidas y controles fueron detectadas con el post

test de comparaciones múltiples no paramétrico de Tukey, según el test de Nemeyi ($p < 0,05$) (Zar, 1996).

La relación entre el oxígeno consumido, OD y peso húmedo de los ejemplares fue analizada por regresión lineal de mínimos cuadrados, mediante las ecuaciones:

$$\text{Consumo de oxígeno} = a + b * \text{oxígeno disuelto}$$

$$\text{Consumo de oxígeno} = a + b * \text{peso}$$

Donde el valor a representa la intercepción del eje Y, y b es la pendiente de la recta de regresión. Posteriormente, las pendientes obtenidas en las concentraciones de cada agroquímico y grupo control fueron comparadas mediante el test t de comparación de pendientes basado en una modificación del test de Student ($p < 0,05$) (Zar, 1996). Esta comparación fue indicada como $t_{(\alpha; 2; v)}$ = valor de t observado, donde α = nivel de significancia (0,05) y $v = n - 1$.

Los consumos fueron convertidos en equivalentes energéticos usando el valor oxalórico de 20,11 J/(mlO₂/g.h) (Pillai y Diwan, 2002).

Mediante un factor de conversión, los datos de consumo de oxígeno y excreción de amonio fueron expresados en sus equivalentes atómicos tomando el peso atómico de las moléculas de oxígeno y amonio. Estos valores fueron transformados en sus equivalentes en mg y relacionados con los valores de consumo de oxígeno (mgO₂/g.h) y excreción de amonio (mgNH₄-N/g.h) de los ejemplares usados en los ensayos.

4.3. Ensayos de toxicidad crónica: crecimiento individual

La toxicidad de los biocidas puede afectar el crecimiento de los decápodos, provocando alteraciones importantes en el incremento en talla por muda y/o en el período de intermuda. A través de ensayos estáticos en laboratorio fue evaluado el efecto de los agroquímicos sobre el crecimiento de *P. argentinus* y *T. borellianus* colocados aislados en cada recipientes de cultivo. Inicialmente, los ejemplares fueron mantenidos en estos recipientes con agua sin tóxico hasta la primera muda, la cual fue medida en la determinación del valor inicial de referencia de la talla del animal. Después de la muda inicial y en estado de intermuda, los decápodos fueron expuestos a los diferentes agroquímicos manteniendo un

grupo control (Tabla 10). La medición de la talla en la muda y no en los ejemplares vivos permitió reducir el estrés por manipulación. El largo de cefalotórax (LC) del camarón y ancho del caparazón (AC) del cangrejo fue registrado como índice de crecimiento, que representa el aumento ocurrido en la totalidad del cuerpo de los individuos.

Tabla 10. Concentraciones nominales de cada biocida usadas en la evaluación del crecimiento durante la exposición crónica.

| Agroquímico | Especie | Concentraciones |
|---------------------------------------|-----------------------|--|
| Glifosato Roundup® | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 17,000 - 35,000 - 70,000 mg/L |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 4,000 - 9,000 - 19,000 - 37,000 mg/L |
| 2,4-D Herbifen Super® | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 0,375 - 0,750 - 1,500 mg/L |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 1,250 - 2,500 - 5,000 mg/L |
| Endosulfán Zebra Ciagro® | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 0,122 - 0,244 - 0,488 µg/L |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 250,000 - 500,000 - 1000,000 µg/L |
| Clorpirifós Terminator Ciagro® | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 0,005 - 0,011 - 0,022 µg/L |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 0,625 - 1,250 - 2,500 µg/L |
| Carbendazim Flow Thin 50® | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 0,001 - 0,002 - 0,004 g/L |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 0,010 - 0,020 - 0,040 g/L |
| Carbendazim-tiram Flow Thin 15-35® | <i>P. argentinus</i> | 0,000 - 1,000 - 2,000 - 4,000 µg/L |
| | <i>T. borellianus</i> | 0,000 - 0,100 - 0,200 - 0,400 µg/L |

En cada uno de los animales aislados fue observando el tiempo entre ecdisis consecutivas y el incremento en la talla. La alimentación en estas experiencias fue *ad libitum* con una combinación de alimentos semejantes al período de aclimatación. Los recipientes de cultivo fueron limpiados extrayendo mediante sifón restos de alimento ofrecido anteriormente y no consumido y materia fecal, con la renovación del 60% del medio de ensayo cada 48 hs a fin de reducir el estrés de los organismos. Luego el líquido de los recipientes fue repuesto con la concentración del biocida correspondiente, la que fue preparada en forma inmediatamente anterior a su colocación. Debido a la ausencia de aireadores en estos recipientes, la frecuente renovación del medio mantuvo los valores de OD entre 6,7 y 4,8 mg/L (Tabla 11). Además,

las soluciones con los biocidas fueron preparadas previamente a su colocación en las experiencias con agua de red previamente declorinada por liberación del cloro gaseoso, realizado mediante la oxigenación continua del agua durante 48 horas con aireadores.

La presencia de exuvias y de ejemplares muertos fue observada diariamente. El tiempo de exposición de los ejemplares a los diferentes biocidas fue el necesario para que los mismos desarrollaran ciclos de muda durante 2 a 3 meses aproximadamente. Cada muda detectada fue extraída y medida.

Tabla 11. Condiciones experimentales usadas en los ensayos de toxicidad crónica en el camarón *P. argentinus* y el cangrejo *T. borelianus*, y criterios de aceptabilidad de los ensayos.

| | |
|---|---|
| 1. Tipo de ensayo | Estático con renovación del medio líquido |
| 2. Renovación del medio líquido de ensayo | Cada 48 hs |
| 3. Duración del ensayo | 2 a 3 meses aproximadamente |
| 4. Temperatura | 25,0 ± 1,5 °C, acorde a la ubicación geográfica de las especies |
| 5. Calidad de luz | Iluminación del ambiente del laboratorio |
| 6. Intensidad de luz | 10 - 20 μE/m ² /s (niveles del ambiente del laboratorio) |
| 7. Fotoperíodo | 14 hs de luz, 10 horas de oscuridad |
| 8. Tamaño del recipiente de cultivo | 8 cm de diámetro, 7 cm de alto |
| 9. Cantidad de medio líquido del recipiente | 0,180 ± 0,002 L |
| 10. Parámetros físico-químicos del agua | - pH 7,5 ± 0,2 (variación registrada desde el inicio de los ensayos hasta las 24 hs) (peachímetro HANNA, modelo HI991003). - Oxígeno disuelto: 6,70 ± 0,41 mg/L al inicio; 4,80 ± 0,51 mg/L a las 48 hs (oxímetro HANNA, modelo HI9143). - Conductividad: 900 ± 150 μS/cm (variación registrada en periodos de 48 hs) (conductímetro HANNA, modelo HI9033). |

| | |
|---|---|
| (Continuación) | - Dureza: 383 mgCaCO ₃ /L - Amonio: 0,14 ± 0,06 mg/L |
| 11. Etapa del ciclo de vida de los organismos | juvenil |
| 12. Número de organismos en recipiente de cultivo | 1 por recipiente y 20 por concentración |
| 13. Número de recipientes réplicas | 20 por concentración y 20 controles |
| 14. Alimentación | Con alimentación durante el ensayo |
| 15. Tipo de alimento | Alimento balanceado (36% de proteínas y 10% de lípidos) y músculo de pescado fresco |
| 16. Aireación | Sin aireación del medio durante el ensayo |
| 17. Efecto observado | Crecimiento de los ejemplares |
| 18. Criterios de aceptabilidad de los ensayos | - Reducida variación de los parámetros temperatura, pH, conductividad y oxígeno disuelto durante 48 hs. - Mortalidad menor o igual a 10% en controles. |

Análisis estadístico de los datos obtenidos

En principio, la normalidad de los valores de LC y AC de los animales en cada grupo fue evaluada mediante los test de Chi-cuadrado (X^2) y Shapiro-Wilks, y la homoscedasticidad con el test de Bartlett ($p < 0,10$) mediante el programa estadístico PAST (Paleontological Statistics Software) de Hammer y col. (2001). La comparación de las talla de los ejemplares en los diferentes grupos fue realizada mediante el análisis de la varianza de una vía (ANOVA) o el test no paramétrico de Kruskall-Wallis (Zar, 1996; Piegorsch y Bailer, 1997). De la misma manera, fue comparada la duración de los períodos de intermuda del camarón y cangrejo expuestos a las concentraciones de los agroquímicos.

En el análisis del incremento en talla de estas especies de crustáceos fue aplicado el método gráfico de Hiatt descrito en 1948, en una ecuación de regresión lineal que relaciona el parámetro de crecimiento antes (premuda) y después de la muda (postmuda) (Kurata, 1962; Hartnoll, 1982; Petriella y Boschi, 1997). La ecuación usada en la evaluación de los efectos

de los biocidas sobre el aumento en talla por muda del camarón y cangrejo fue representada de la siguiente manera:

$$LC_{t+1}(\text{postmuda}) = a + b * LC_t(\text{premuda})$$

$$AC_{t+1}(\text{postmuda}) = a + b * AC_t(\text{premuda})$$

Donde el valor a representa la intercepción al eje Y, mientras que b es la constante de crecimiento expresada como la pendiente de la recta de regresión. Los valores de pendientes obtenidos en las concentraciones de agroquímicos y grupo control fueron luego comparados a fin de detectar diferencias mediante el test t de comparación de pendientes basado en una modificación del test de Student ($p < 0,05$) (Zar, 1996). Esta comparación fue indicada como $t_{(\alpha; 2; v)}$ = valor de t observado, donde α = nivel de significancia (0,05) y $v = n - 1$.

4.4. Ensayos a nivel de mesocosmos

Estos ensayos incluyeron componentes del ecosistema de las especies consideradas, e incorporaron en la naturaleza a fin de lograr un mayor realismo en los resultados obtenidos. Los mesocosmos consistieron en excavaciones en el suelo de 8 “lagunas” de 1,80 m x 1,90 m (3,42 m² de superficie) con 0,25 m de profundidad (0,855 m³ de volumen) en áreas pertenecientes al Instituto Nacional de Limnología. Estas lagunas fueron recubiertas con un nylon transparente de alta densidad evitando la pérdida de agua por filtración y llenada con agua de río y de red de clorinada. Además, fueron colocadas macrófitas flotantes como *E. crassipes*, *E. azurea*, *Ludwigia peploides*, *Paspalum repens* y *Salvinia herzogii*. Luego de un tiempo, el material particulado de la columna de agua precipitó y junto a la descomposición microbiana de fragmentos de vegetales y posiblemente plancton muerto formó en el fondo de estas lagunas un sustrato semejante al observado en los ambientes acuáticos naturales.

Los crustáceos *P. argentinus* y *T. borellianus* fueron colocados en jaulas o limnocorrales dentro de las lagunas, lo que permitió una mejor observación de los mismos durante la experiencia. Las jaulas tuvieron un tamaño de 0,35 m de largo x 0,25 m de ancho con 0,10 m de alto (0,087 m² de superficie) construidas con tela metálica. Por jaula, ambas especies de decápodos fueron puestas juntas en una cantidad de 8 camarones y 5 cangrejos, según la densidad más frecuente en que estas especies habitan en los ambientes (95 camarones/m² y 60 cangrejos/m²) (Collins, 2000).

En cada mesocosmos se ubicaron 2 jaulas con crustáceos, una suspendida en la columna de agua cercana a la superficie y entre la vegetación, y otra sobre el fondo. Estas jaulas fueron introducidas 48 hs antes de las aplicaciones de los agroquímicos, a fin de reducir el estrés causado por la manipulación de los animales y permitir la adaptación a las condiciones del sistema. Además del alimento natural que desarrollaron las lagunas artificiales fue adicionado músculo de pescado fresco triturado *ad libitum* cada tres días.

Luego, un solo agroquímico fue aplicado en cada laguna manteniendo dos mesocosmos como controles. La aplicación realizada en un solo evento fue a una altura de 0,50 m del nivel del agua de la laguna cubriendo toda la superficie de la misma. En esta aplicación fue utilizada una mochila de 2 L de capacidad. Las concentraciones usadas fueron seleccionadas entre las máximas concentraciones recomendadas en las aplicaciones a los productores (CASAFE, 2001, 2007) (Tabla 12).

La concentración usada de carbendazim-tiram fue calculada en base a la cantidad de fungicidas que poseen las semillas tratadas y la cantidad sembrada en una superficie similar a la del mesocosmos. Los profesionales del INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) aconsejan que por cada 1 m lineal siembren 31 semillas de soja en líneas separadas por 0,70 m.

Inmediatamente después de la aplicación de los agroquímicos, fue tomada una muestra de 1 L de agua de cada laguna para la identificación de las concentraciones de los compuestos químicos de estos biocidas presentes en las lagunas. Este tipo de análisis requirió los servicios a terceros del Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC-CONICET) donde está el instrumental específico. La técnica empleada en la determinación de los biocidas fue mediante la extracción de un litro de muestra, con cloruro de metileno/hexano, seguida por concentración y clean-up en columna de alúmina. La identificación y cuantificación de los insecticidas endosulfán y clorpirifós fue a través de cromatografía gaseosa, con detectores de captura electrónica y termoiónico específico. Los límites de detección fueron α endosulfán: 4 ng/L; β endosulfán: 4 ng/L y etil clorpirifós: 8 ng/L.

Por otra parte, la identificación y cuantificación del herbicida 2,4-D fue mediante cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa y detección U.V. con detector de arreglo de diodos y sistema de adquisición de datos Empower. El límite de detección del 2,4-D fue de 0,1 μ g/L. Los restantes agroquímicos (glifosato, carbendazim y carbendazim-tiram) usados en los ensayos a mesocosmos no pudieron ser cuantificados debido a dificultades en la detección por el equipamiento.

Tabla 12. Concentraciones aplicadas y esperadas de cada agroquímico en los mesocosmos según las recomendadas por hectárea y 100 Kg de semilla.

| Agroquímico | Conc. recomendadas | Conc. aplicadas por superficie del mesocosmos | Conc. aplicadas por volumen del mesocosmos (ml de formulado) | Conc. nominales esperadas (elemento activo) |
|------------------------------------|---|--|---|--|
| Glifosato Roundup® | 6 L/ha | 0,58 ml/ m ² | 0,0023 ml/L | 0,0011 g |
| 2,4-D Herbifen Super® | 2 L/ha | 0,17 ml/ m ² | 0,0007 ml/L | 0,0006 g |
| Endosulfán Zebra Ciagro® | 3 L/ha | 0,29 ml/ m ² | 0,0012 ml/L | 0,0004 g |
| Clorpirifós Terminator Ciagro® | 6 L/ha | 0,58 ml/ m ² | 0,0023 ml/L | 0,0011 g |
| Carbendazim Flow Thin 50® | 1 L/ha | 0,10 ml/ m ² | 0,0004 ml/L | 0,0002 g |
| Carbendazim-tiram Flow Thin 15-35® | 200 cm ³ /100 Kg de semillas (en soja) | 0,01 ml/ m ² | 0,00006 ml/L | 0,00003 g |

La mortalidad e inmovilidad de los crustáceos fue registrada cada 12 horas durante todo el período del ensayo. Los animales muertos fueron inmediatamente retirados.

El tiempo de duración de la experiencia fue de 5 días en el mes de abril de 2008. En este período, las condiciones ambientales fueron estables con días soleados y sin lluvias. Los parámetros de calidad de agua medidos en las lagunas durante el desarrollo de los ensayos fueron indicados en la Tabla 13. Estas mediciones fueron realizadas empleando el peachímetro HANNA modelo HI991003, el conductímetro HANNA modelo HI9033 y el oxímetro HANNA modelo HI9143.

Tabla 13. Parámetros físicos y químicos del agua de las lagunas mantenidos durante el período de experimentación. (media \pm d.e.): variación registrada desde el inicio hasta el final de los ensayos.

| Lagunas | Temperatura (°C) | pH | Oxígeno disuelto (mg/L) | Conductividad (μ S/cm) |
|-------------------------------------|------------------|---------------|-------------------------|-----------------------------|
| Controles | 21,1 \pm 1,1 | 8,1 \pm 0,3 | 7,20 \pm 2,54 | 943 \pm 74 |
| Glifosato Roundup® | 20,6 \pm 1,2 | 8,2 \pm 0,4 | 7,44 \pm 1,78 | 873 \pm 129 |
| 2,4-D Herbifen Super® | 20,8 \pm 0,9 | 8,1 \pm 0,4 | 6,91 \pm 2,77 | 904 \pm 129 |
| Endosulfán Zebra Ciagro® | 20,9 \pm 1,7 | 8,2 \pm 0,3 | 6,74 \pm 2,34 | 906 \pm 127 |
| Clorpirifós Terminator Ciagro® | 20,6 \pm 0,2 | 8,1 \pm 0,3 | 6,63 \pm 2,65 | 862 \pm 188 |
| Carbendazim Flow Thin 50® | 21,1 \pm 0,8 | 8,0 \pm 0,4 | 6,80 \pm 2,46 | 866 \pm 153 |
| Carbendazim –tiram Flow Thin 15-35® | 20,4 \pm 0,5 | 8,0 \pm 0,3 | 6,76 \pm 2,42 | 880 \pm 148 |

Análisis estadístico de los datos obtenidos

Los datos de mortalidad registrados en las jaulas fueron ordenados en una tabla de contingencia. En esta tabla, las variables cantidad de individuos muertos por jaula según su ubicación en las lagunas (una cercana a la superficie y sobre el fondo) y tiempo de exposición fueron analizadas mediante Chi-cuadrado (X^2) ($p < 0,05$) (Zar, 1996).

Resultados

5. Resultados

En las experiencias realizadas con el objeto de cumplimentar los objetivos planteados oportunamente, los ejemplares obtenidos del camarón *P. argentinus* y cangrejo *T. borellianus* fueron de ambientes naturales no afectados visiblemente por el hombre y alejados de cualquier actividad antrópica. Estos animales durante el período de aclimatación post-captura mantuvieron un estado normal en sus condiciones comportamentales y fisiológicas básicas. Por ejemplo, los individuos alternaron momentos de actividad natatoria o caminata con reposo, interaccionaron en forma intra e interespecífica, buscaron refugios, tuvieron respuesta normal a estímulos como el de la presencia de alimento y completaron el ciclo de muda en tiempo y forma. Además, durante esta etapa inicial no murió ningún individuo de ambas especies de decápodos.

5.1. Ensayos de toxicidad letal aguda

Los primeros resultados correspondieron a la determinación de los valores de CL_{50} en ambas especies describiendo la variabilidad intra e interespecífica. Estos resultados fueron los siguientes:

5.1.1. Exposición aguda del camarón *P. argentinus* a diferentes herbicidas.

En la exposición al herbicida glifosato Roundup[®] los ejemplares de *P. argentinus* utilizados en las experiencias tuvieron un largo de cefalotórax (LC) medio de $8,04 \pm 1,01$ mm y peso húmedo medio de $0,11 \pm 0,03$ g. Estos fueron distribuidos aleatoriamente en grupos y la comparación de los pesos en los grupos control y expuestos a concentraciones de glifosato no presentaron diferencias significativas (KW= 8,52; p= 0,0974). Por otra parte, en los ensayos con éster butílico del ácido 2,4-D Herbifen Super[®] los camarones tuvieron un LC medio de $7,64 \pm 1,23$ mm y peso medio de $0,10 \pm 0,01$ g. En este caso los grupos también fueron homogéneos en relación al peso de los individuos (KW= 11,02; p= 0,1041).

La supervivencia de los camarones expuestos al glifosato Roundup[®] disminuyó en las concentraciones más elevadas y en el tiempo de exposición. Hasta las 48 hs de ensayo, la mortalidad registrada en todos los tratamientos fue menor al 50%. Luego aumentó alcanzando

el 80% de los individuos en la concentración de glifosato Roundup® de 562,000 mg/L y el total en los ejemplares expuestos al tratamiento de 1124,000 mg/L luego de 96 hs.

El camarón *P. argentinus* expuesto a 2,4-D Herbifen Super® tuvo una respuesta distinta, donde la mortalidad en la concentración de 3,240 mg/L fue de 3,3% y ningún animal sobrevivió en el tratamiento de 15,000 mg/L luego de 24 hs. Además, la toxicidad de la concentración de 9,000 mg/L fue letal para el 50% de los ejemplares desde el inicio hasta las 96 hs. A partir de las 48 hs, la concentración de 1,900 mg/L provocó el 6,6% de muertos. Mientras que los grupos controles no tuvieron ningún individuo muerto.

La variación de los niveles letales provocada por el glifosato Roundup® a lo largo del tiempo de ensayo fue descripta mediante una ecuación exponencial ($r= 0,95$; $F_{(0,05; 2; 3)} = 21,67$; $p= 0,0432$) (Figura 3A). La falta de normalidad en la distribución de los valores de CL_{50} en el tiempo, determinó la comparación de los mismos mediante el test no paramétrico de Kruskal-Wallis, siendo la CL_{50} -24hs significativamente diferente de los restantes tiempos ($KW= 8,12$; $p= 0,0434$) (Tukey, $p < 0,05$). Por otra parte, la toxicidad del glifosato Roundup® determinó una relación de concentración-respuesta a las 96 hs con CL_{50} 17,6 veces mayores que las CL_1 (correspondientes a la muerte del 1% de la población) y 13,5 veces menores que las CL_{90} (Tabla 14). Los parámetros de esta regresión lineal y los valores de Chi-cuadrado (X^2) fueron indicados en Anexo 9.4: Tabla 1.

En los ensayos con 2,4-D Herbifen Super®, los niveles de CL_{50} fueron estadísticamente similares en el transcurso de las horas con un leve aumento de la letalidad del producto ($KW= 2,56$; $p= 0,46336$) (Tukey, $p < 0,05$). La variación de estos valores fue lineal en relación al tiempo, mostrando un incremento gradual del efecto tóxico del biocida en los camarones ($r= 0,97$; $F_{(0,05; 2; 3)} = 36,48$; $p= 0,0263$) (Figura 3B). Este herbicida Herbifen Super® incrementó 4 veces la concentración que resulta letal del 1 al 50% de los ejemplares expuestos, y 2 veces del 50 al 90% (Tabla 14; Anexo 9.4: Tabla 1).

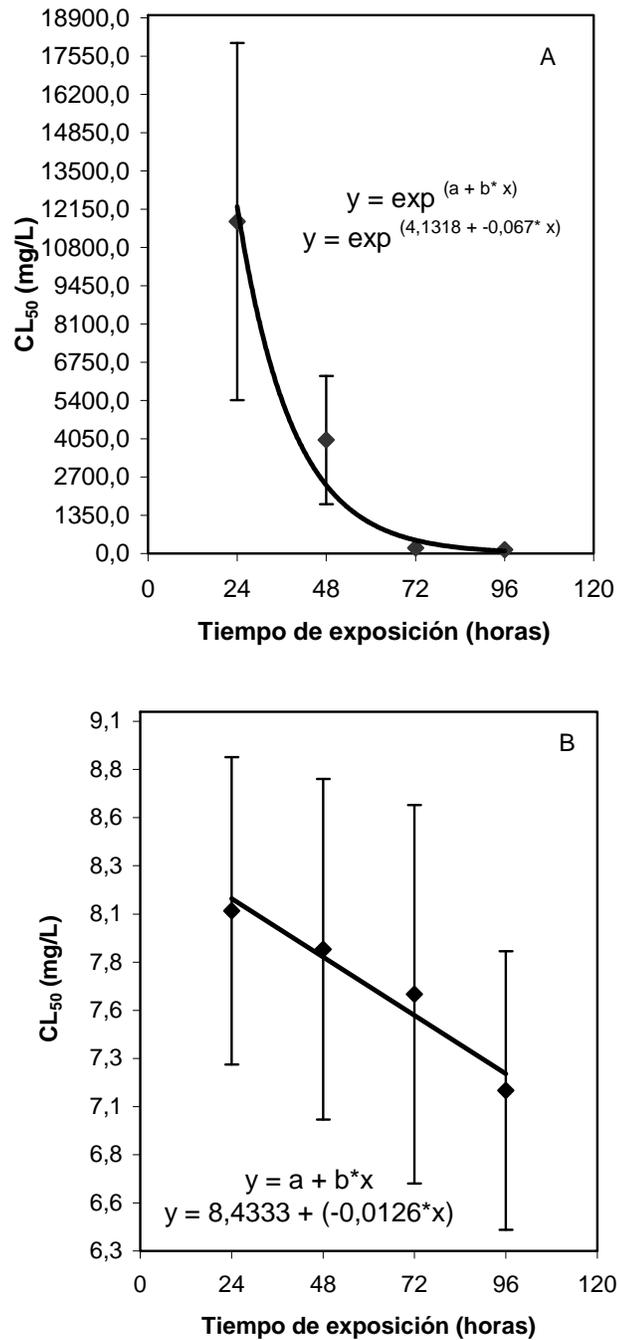


Figura 3. Concentraciones letales medias (CL₅₀) (medias ± desvío estándar) obtenidas de *P. argentinus* expuesto a los herbicidas glifosato Roundup® (A) y 2,4-D Herbifen Super® (B) durante 96 horas.

Tabla 14. Valores estimados de CL (medias \pm d.e.) y límites de confianza (medias \pm d.e.) de los herbicidas glifosato Roundup[®] y 2,4-D Herbifen Super[®] en *P. argentinus* a las 96 hs de exposición.

| Herbicida | Exposición letal aguda | | Límites de confianza al 95% | |
|---|------------------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------|
| | Concentraciones | | Inferior | Superior |
| Glifosato Roundup [®] (mg/L) | CL ₁ | 8,000 \pm 0,010 | 1,000 \pm 0,001 | 36,000 \pm 0,014 |
| | CL ₅ | 18,000 \pm 0,018 | 3,000 \pm 0,004 | 60,000 \pm 0,017 |
| | CL ₁₀ | 27,000 \pm 0,025 | 7,000 \pm 0,008 | 81,000 \pm 0,018 |
| | CL ₁₅ | 36,000 \pm 0,031 | 11,000 \pm 0,012 | 98,000 \pm 0,017 |
| | CL ₅₀ | 141,000 \pm 0,051 | 83,000 \pm 0,030 | 274,000 \pm 0,009 |
| | CL ₈₅ | 1050,000 \pm 0,820 | 340,000 \pm 0,050 | 2668,000 \pm 2,089 |
| | CL ₉₀ | 1905,000 \pm 1,955 | 427,000 \pm 0,084 | 5537,000 \pm 5,270 |
| | CL ₉₅ | 4936,000 \pm 2,652 | 586,000 \pm 0,156 | 17335,000 \pm 9,685 |
| | CL ₉₉ | 33792,000 \pm 6,982 | 1036,000 \pm 0,395 | 64150,000 \pm 12,268 |
| 2,4-D Herbifen Super [®] (mg/L) | CL ₁ | 1,841 \pm 0,916 | 0,423 \pm 0,212 | 2,194 \pm 0,493 |
| | CL ₅ | 2,732 \pm 1,166 | 0,894 \pm 0,313 | 3,061 \pm 0,482 |
| | CL ₁₀ | 3,378 \pm 1,310 | 1,327 \pm 0,356 | 3,691 \pm 0,441 |
| | CL ₁₅ | 3,902 \pm 1,410 | 1,726 \pm 0,367 | 4,216 \pm 0,388 |
| | CL ₅₀ | 7,137 \pm 1,451 | 4,602 \pm 0,086 | 8,623 \pm 0,608 |
| | CL ₈₅ | 13,551 \pm 2,400 | 8,814 \pm 0,795 | 25,513 \pm 8,020 |
| | CL ₉₀ | 15,755 \pm 2,723 | 10,041 \pm 1,144 | 33,946 \pm 12,622 |
| | CL ₉₅ | 19,723 \pm 3,552 | 12,108 \pm 1,801 | 52,324 \pm 23,787 |
| | CL ₉₉ | 30,197 \pm 6,976 | 17,035 \pm 3,635 | 120,329 \pm 72,268 |

A lo largo del ensayo, la exposición a los herbicidas provocó la alteración del comportamiento de los camarones, especialmente en aquellos expuestos a las mayores concentraciones de 2,4-D. Entre los efectos que exhibieron fueron movimientos espasmódicos con posición lateral.

5.1.2. Exposición aguda del cangrejo *T. borellianus* a diferentes herbicidas.

En los ensayos agudos con *T. borellianus*, el ancho de caparazón (AC) medio de los ejemplares fue de $5,87 \pm 0,16$ mm y el peso húmedo de $0,14 \pm 0,47$ g. La comparación de los pesos de los animales no mostró diferencias estadísticas en los grupos de cangrejos expuestos a las concentraciones de glifosato Roundup® y controles (KW= 1,31; p= 0,8560). Mientras que en 2,4-D Herbifen Super® el tamaño de los individuos fue de $6,19 \pm 0,28$ mm de AC y peso húmedo de $0,16 \pm 0,05$ g, sin variaciones significativas entre los grupos incluidos como tratamientos con tóxicos y grupo control (KW= 7,23; p= 0,6120).

Durante las primeras 24 y 48 hs de ensayo ningún cangrejo murió en las cinco concentraciones de glifosato Roundup®. Recién a partir de las 72 hs ocurrió la disminución de la supervivencia en los cangrejos expuestos al herbicida, a excepción del grupo de cangrejos expuestos en la concentración menor (19,000 mg/L). Al finalizar la experiencia, la concentración de 300,000 mg/L provocó la mortalidad del 100% de los animales. Mientras que el herbicida 2,4-D Herbifen Super® fue letal en *T. borellianus* desde el primer día de ensayo produciendo una mortalidad del 3,3% de los ejemplares expuestos a 25,000 mg/L, y del 33,3% a 200,000 mg/L. Esta última concentración registró el 100% de muertes a las 48 hs. La mitad de los individuos expuestos murieron en 50,000 mg/L y el total en 100,000 mg/L después de las 72 hs. Ningún animal murió en los controles.

La exposición del cangrejo *T. borellianus* al glifosato Roundup®, solo permitió la determinación de la CL₅₀ luego de las 72 y 96 hs (Figura 4A). El aumento del efecto letal del herbicida hacia las 96 hs mostró diferencias entre las CL_{50-72hs} y CL_{50-96hs}, siendo evaluadas de manera no paramétrica (KW= 3,85; p= 0,0495) (Tukey, p< 0,05). Los valores de concentración letal determinados al final del ensayo (96 hs) incrementaron 6 veces de CL₁ a CL₅₀, y 1,1 veces de CL₅₀ a CL₉₀ (Tabla 15). La pendiente e intercepción de esta relación concentración-efecto letal fue mostrada en Anexo 9.4: Tabla 1.

Por otra parte, la exposición a 2,4-D Herbifen Super® provocó una reducción de la supervivencia en los cangrejos después de las 24 hs, siendo la CL_{50-24hs} diferente significativamente de los valores letales obtenidos en los restantes días (KW= 8,01; p= 0,04563) (Tukey, p< 0,05). La inmediata respuesta de los individuos a la toxicidad del herbicida en las primeras horas del ensayo fue representada mediante una ecuación exponencial ($r = 0,98$; $F_{(0,05; 2; 3)} = 69,32$; p= 0,0141) (Figura 4B). La relación entre las concentraciones de 2,4-D Herbifen Super® y el efecto letal a las 96 hs mostró una variación de 3,2 veces entre los valores del herbicida que provocan la muerte del 1 al 50% de la

población expuesta, y 2,2 veces del 50 al 90% (Tabla 15). Los parámetros de esta relación y los valores de Chi-cuadrado (X^2) fueron indicados en Anexo 9.4: Tabla 1.

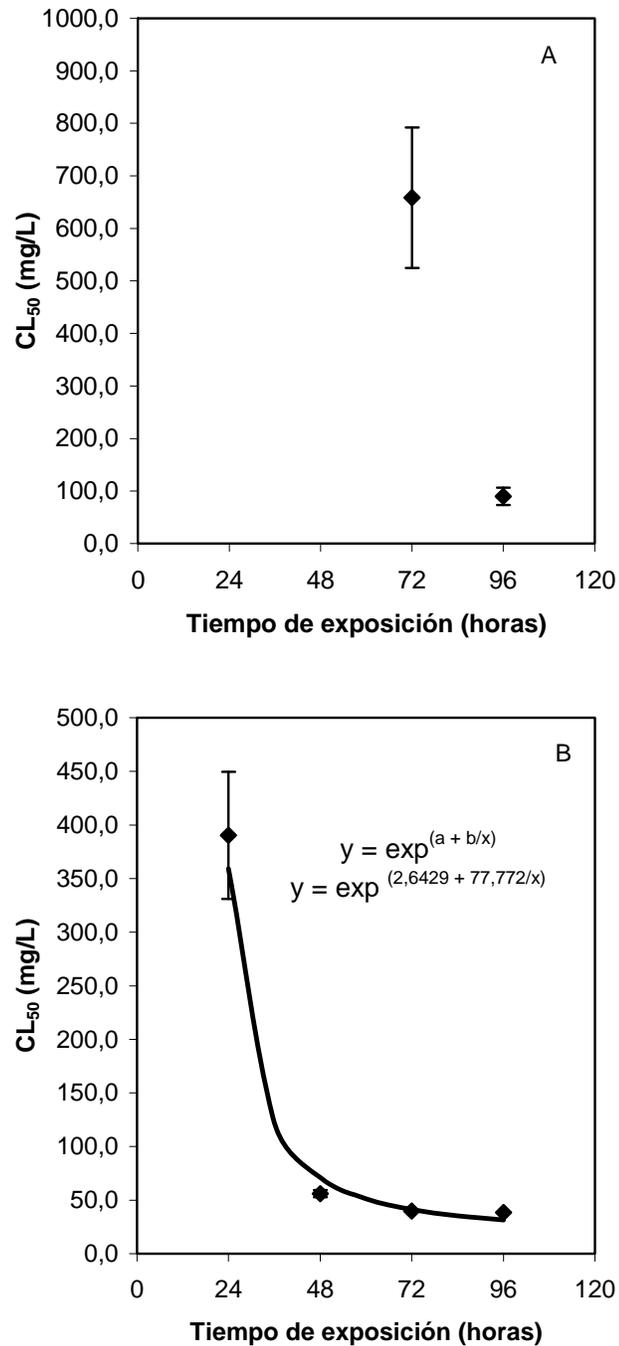


Figura 4. Concentraciones letales medias (CL₅₀) (medias ± d.e.) obtenidas de *T. borellianus* expuesto a los herbicidas glifosato Roundup® (A) y 2,4-D Herbifen Super® (B) durante 96 horas.

Además, los cangrejos exhibieron comportamientos anormales con la exposición al tóxico, principalmente en las concentraciones más altas de los herbicidas. Entre ellos disminuyó la respuesta a estímulos mecánicos y realizaron movimientos locomotores incoordinados.

Tabla 15. Valores estimados de CL (medias \pm d.e.) y límites de confianza (medias \pm d.e.) de los herbicidas glifosato Roundup[®] y 2,4-D Herbifen Super[®] en *T. borellianus* a las 96 hs de exposición.

| Herbicida | Exposición letal aguda | | Límites de confianza al 95% | |
|---|------------------------|-----------------------|-----------------------------|----------------------|
| | Concentraciones | | Inferior | Superior |
| Glifosato Roundup [®] (mg/L) | CL ₁ | 23,000 \pm 0,016 | 3,000 \pm 0,003 | 38,000 \pm 0,026 |
| | CL ₅ | 30,000 \pm 0,008 | 5,000 \pm 0,009 | 41,000 \pm 0,016 |
| | CL ₁₀ | 55,000 \pm 0,011 | 9,000 \pm 0,012 | 84,000 \pm 0,017 |
| | CL ₁₅ | 80,000 \pm 0,012 | 51,000 \pm 0,011 | 128,000 \pm 0,019 |
| | CL ₅₀ | 138,000 \pm 0,001 | 99,000 \pm 0,030 | 195,000 \pm 0,009 |
| | CL ₈₅ | 142,000 \pm 0,020 | 110,000 \pm 0,071 | 208,000 \pm 0,080 |
| | CL ₉₀ | 153,000 \pm 0,050 | 138,000 \pm 0,065 | 319,000 \pm 0,170 |
| | CL ₉₅ | 198,000 \pm 0,056 | 166,000 \pm 0,046 | 445,000 \pm 0,214 |
| | CL ₉₉ | 319,000 \pm 0,189 | 300,000 \pm 0,095 | 650,000 \pm 0,178 |
| 2,4-D Herbifen Super [®] (mg/L) | CL ₁ | 11,688 \pm 8,903 | 5,758 \pm 2,112 | 21,048 \pm 5,611 |
| | CL ₅ | 15,996 \pm 9,026 | 9,656 \pm 3,567 | 27,005 \pm 3,162 |
| | CL ₁₀ | 19,115 \pm 8,527 | 12,641 \pm 4,563 | 31,604 \pm 0,533 |
| | CL ₁₅ | 21,658 \pm 7,842 | 15,094 \pm 6,415 | 35,858 \pm 2,450 |
| | CL ₅₀ | 38,373 \pm 0,664 | 28,918 \pm 5,972 | 49,589 \pm 4,379 |
| | CL ₈₅ | 73,241 \pm 28,767 | 41,141 \pm 1,508 | 94,583 \pm 8,039 |
| | CL ₉₀ | 86,231 \pm 41,015 | 46,547 \pm 2,110 | 112,892 \pm 17,629 |
| | CL ₉₅ | 110,577 \pm 65,440 | 54,832 \pm 7,834 | 147,737 \pm 20,782 |
| | CL ₉₉ | 179,845 \pm 141,178 | 72,484 \pm 20,994 | 247,685 \pm 52,110 |

5.1.3. Exposición aguda del camarón *P. argentinus* a diferentes insecticidas.

En estos ensayos, los ejemplares de *P. argentinus* tuvieron un LC medio de $9,21 \pm 1,15$ mm y peso húmedo de $0,11 \pm 0,04$ g. Estos individuos distribuidos en forma aleatoria en los grupos expuestos a endosulfán Zebra Ciagro[®] y controles no presentaron diferencias en la comparación de los pesos de cada grupo (KW= 5,01; p= 0,1919). Por otra parte, camarones de $8,82 \pm 0,91$ mm de LC y peso húmedo de $0,10 \pm 0,58$ g ubicados en los diferentes grupos expuestos a las concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro[®] y control fueron similares entre si (KW= 4,42; p= 0,5700).

La toxicidad de endosulfán Zebra Ciagro[®] a las 24 hs provocó mortalidades entre 3,3% y 56,6% de los individuos en las concentraciones de 3,906 µg/L y 15,625 µg/L respectivamente. El grupo expuestos a 1,953 µg/L de este insecticida, registró el 6,6% de animales muertos a partir de las 48 hs de ensayo. A las 72 hs de estar en una solución de 7,812 µg/L de endosulfán provocó el 43,3% de muertes en este camarón. Mientras que ninguno sobrevivió a 15,625 µg/L del biocida al finalizar el ensayo. El insecticida clorpirifós Terminator Ciagro[®] provocó una mortalidad mayor en los camarones expuestos luego de las primeras 24 hs. El 13,3% de los animales se murieron en la concentración de 0,045 µg/L, mientras que el 100% en aquellos colocados en la solución mayor (5,760 µg/L) luego de las 48 hs de exposición. En la concentración de 0,360 µg/L la mortalidad fue del 53,3% a las 72 hs, y ningún individuo sobrevivió en la solución de 2,880 µg/L al final del ensayo. Por otra parte, no hubo muertos entre los camarones de los controles.

En los ensayos con endosulfán Zebra Ciagro[®], los valores de CL₅₀ disminuyeron con el tiempo de exposición describiendo una curva exponencial ($r= 0,93$; $F_{(0,05; 2; 3)} = 14,80$; $p= 0,0614$) (Figura 5A). A pesar de la variación observada entre las CL₅₀ halladas a las 24 hs con las de los restantes tiempos de exposición, estas no mostraron diferencias estadísticas entre si (KW= 7,42; p= 0,0595). Por otra parte, las concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro[®] que provocaron la muerte del 50% de los individuos a las 96 hs incrementaron 3,5 veces aproximadamente en relación a las del 1%, y fueron 2 veces inferiores a las correspondientes al 90% (Tabla 16). Los valores de Chi-cuadrado (X^2) y los parámetros de la regresión entre las concentraciones y el efecto letal fueron indicados en Anexo 9.4: Tabla 2.

En clorpirifós Terminator Ciagro[®], la toxicidad letal del insecticida determinó valores de CL₅₀-24hs estadísticamente diferentes de las restantes observaciones temporales (KW= 9,15; p= 0,0273) (Tukey, $p < 0,05$). La disminución de la supervivencia de los camarones fue descripta mediante una ecuación exponencial ($r= 0,98$; $F_{(0,05; 2; 3)} = 49,10$; $p= 0,0198$) (Figura 5B). La relación concentración-respuesta analizada al final del ensayo mostró un incremento

de 52,2 veces entre CL_1 y CL_{50} , y de 9,9 veces entre CL_{50} y CL_{90} (Tabla 16) (Anexo 9.4: Tabla 2).

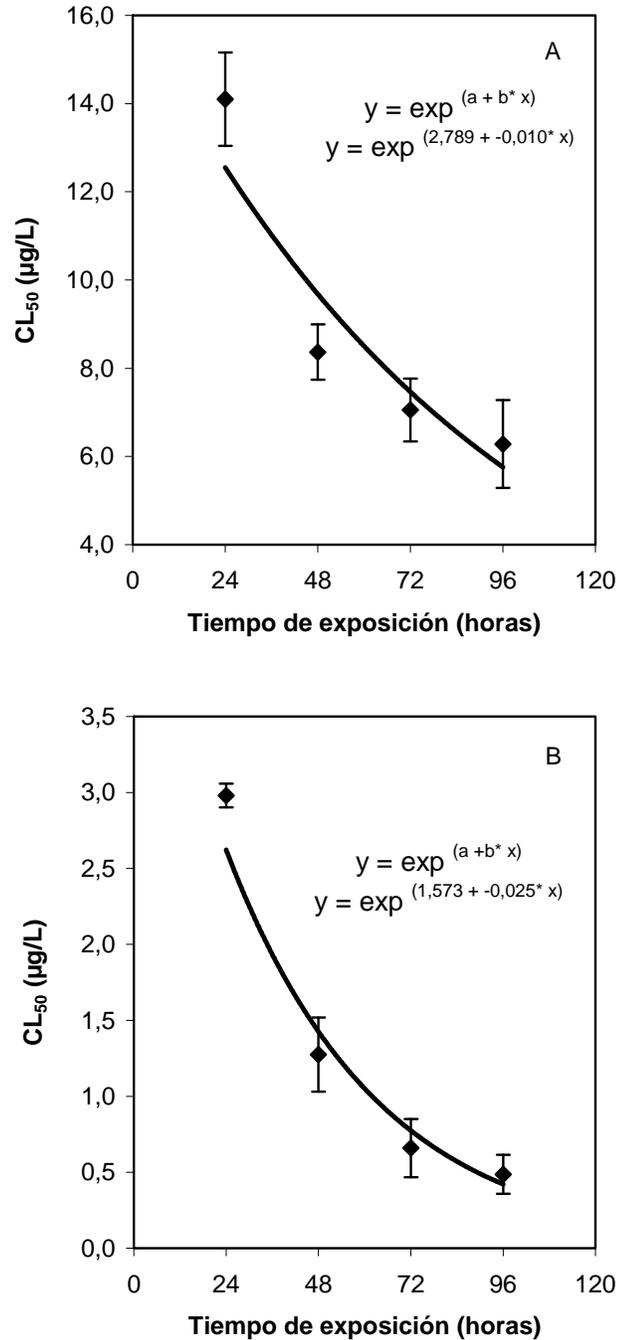


Figura 5. Concentraciones letales medias (CL_{50}) (medias \pm desvío estándar) obtenidas de *P. argentinus* expuesto a los insecticidas endosulfán Zebra Ciagro[®] (A) y clorpirifós Terminator Ciagro[®] (B) durante 96 horas.

Tabla 16. Valores estimados de CL (medias \pm d.e.) y límites de confianza (medias \pm d.e.) de los insecticidas endosulfán Zebra Ciagro[®] y clorpirifós Terminator Ciagro[®] en *P. argentinus* a las 96 hs de exposición.

| Insecticida | Exposición letal aguda | | Límites de confianza al 95% | |
|---|------------------------|---------------------|-----------------------------|----------------------|
| | Concentraciones | | Inferior | Superior |
| Endosulfán Zebra Ciagro [®] ($\mu\text{g/L}$) | CL ₁ | 1,738 \pm 1,210 | 0,475 \pm 0,377 | 2,764 \pm 1,653 |
| | CL ₅ | 2,482 \pm 1,463 | 0,946 \pm 0,642 | 3,606 \pm 1,835 |
| | CL ₁₀ | 3,013 \pm 1,590 | 1,365 \pm 0,829 | 4,200 \pm 1,923 |
| | CL ₁₅ | 3,441 \pm 1,666 | 1,744 \pm 0,969 | 4,689 \pm 1,976 |
| | CL ₅₀ | 6,144 \pm 1,764 | 4,417 \pm 1,469 | 8,689 \pm 2,039 |
| | CL ₈₅ | 11,331 \pm 1,388 | 8,0936 \pm 1,335 | 24,346 \pm 5,063 |
| | CL ₉₀ | 13,165 \pm 1,629 | 9,099 \pm 1,247 | 32,372 \pm 9,058 |
| | CL ₉₅ | 16,505 \pm 2,797 | 10,760 \pm 1,235 | 50,224 \pm 20,220 |
| | CL ₉₉ | 25,542 \pm 7,970 | 14,626 \pm 2,323 | 119,573 \pm 77,264 |
| Clorpirifós Terminator Ciagro [®] ($\mu\text{g/L}$) | CL ₁ | 0,009 \pm 0,008 | 0,0006 \pm 0,001 | 0,039 \pm 0,033 |
| | CL ₅ | 0,029 \pm 0,023 | 0,003 \pm 0,004 | 0,088 \pm 0,065 |
| | CL ₁₀ | 0,054 \pm 0,039 | 0,008 \pm 0,011 | 0,139 \pm 0,096 |
| | CL ₁₅ | 0,082 \pm 0,056 | 0,015 \pm 0,019 | 0,195 \pm 0,127 |
| | CL ₅₀ | 0,475 \pm 0,235 | 0,202 \pm 0,153 | 1,439 \pm 0,800 |
| | CL ₈₅ | 2,980 \pm 0,562 | 1,153 \pm 0,549 | 11,334 \pm 1,785 |
| | CL ₉₀ | 4,671 \pm 0,499 | 1,616 \pm 0,737 | 20,679 \pm 3,134 |
| | CL ₉₅ | 9,203 \pm 0,855 | 2,622 \pm 1,159 | 50,962 \pm 6,019 |
| | CL ₉₉ | 34,304 \pm 12,877 | 6,356 \pm 2,841 | 282,187 \pm 36,913 |

5.1.4. Exposición aguda del cangrejo *T. borellianus* a diferentes insecticidas.

Individuos de *T. borellianus* de AC medio de $6,19 \pm 0,28$ mm y peso húmedo medio $0,16 \pm 0,05$ g separados en grupos fueron expuestos a diferentes concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro[®] y control. Los cangrejos de cada grupo fueron similares en sus pesos (KW= 3,24; p= 0,7621). Por otra parte, los cangrejos usados en las experiencias con clorpirifós Terminator Ciagro[®] tuvieron un AC medio de $6,19 \pm 0,28$ mm y peso húmedo de $0,16 \pm 0,05$ g. Los pesos de los individuos entre los diferentes grupos tampoco mostraron variaciones significativas (KW= 7,10; p= 0,5901).

Desde las 24 hs y hasta el final de la experiencia, endosulfán Zebra Ciagro[®] provocó la muerte del 56,6% de los cangrejos en la concentración de 1953,120 $\mu\text{g/L}$ y el 100% en aquellos expuestos a la 3906,250 $\mu\text{g/L}$ de este biocida. Si bien los ejemplares de *T. borellianus* expuestos a las concentraciones menores del insecticida estuvieron visiblemente afectados desde el inicio, durante el tiempo de ensayo los niveles de toxicidad no indicaron letalidad. En todas estas concentraciones, los individuos exhibieron movimientos lentos, pérdida de respuesta a estímulos mecánicos, tendencia a apiñarse, algunos volcados dorsalmente, con pereiópodos doblados hacia adentro y frecuente amputación de apéndices. Cuando los cangrejos estuvieron expuestos a clorpirifós Terminator Ciagro[®], luego de las 24 hs la mortalidad fue del 43,3% en la concentración de 225,000 $\mu\text{g/L}$ y el total de los individuos murieron en la solución mayor (562,500 $\mu\text{g/L}$). A las 48 hs, la exposición a 90,000 $\mu\text{g/L}$ del insecticida registró el 30,0% de mortalidad y el 100% en el tratamiento de 225,000 $\mu\text{g/L}$. A las 96 hs de ensayo, el número de cangrejos muertos expuestos a 90,000 $\mu\text{g/L}$ ascendió al 96,6%, mientras que fue el 10% en la concentración de 14,400 $\mu\text{g/L}$. Durante el tiempo de experimentación sobrevivieron todos los cangrejos del grupo control.

La respuesta de los cangrejos a la exposición del insecticida endosulfán Zebra Ciagro[®] varió en el tiempo en forma exponencial ($r= 0,89$; $F_{(0,05; 2; 3)} = 8,00$; p= 0,1056) (Figura 6A). Los valores de CL_{50} hallados cada 24 hs fueron estadísticamente similares entre si (KW= 1,22; p= 0,7476). Las CL_{50} incrementaron 2 veces en relación a las CL_1 determinadas a las 96 hs (Tabla 17). Los valores hallados en esta regresión de concentración-efecto letal en los ejemplares fueron indicados en Anexo 9.4: Tabla 2.

En los ensayos con clorpirifós Terminator Ciagro[®], las concentraciones letales determinadas a las 24 hs fueron diferentes significativamente de las CL_{50} halladas en los otros tiempos del ensayo (KW= 10,42; p= 0,0153) (Tukey, p< 0,05). Además, estos valores letales variaron en relación al tiempo de manera exponencial ($r= 0,99$; $F_{(0,05; 2; 3)} = 109,9$; p= 0,0090) (Figura 6B). A las 96 hs, la variación entre las concentraciones que provocaron la muerte del

1 al 50% de los individuos fue de 5,4 veces, mientras que entre 50 y 90% fue 2 veces (Tabla 17) (Anexo 9.4: Tabla 2).

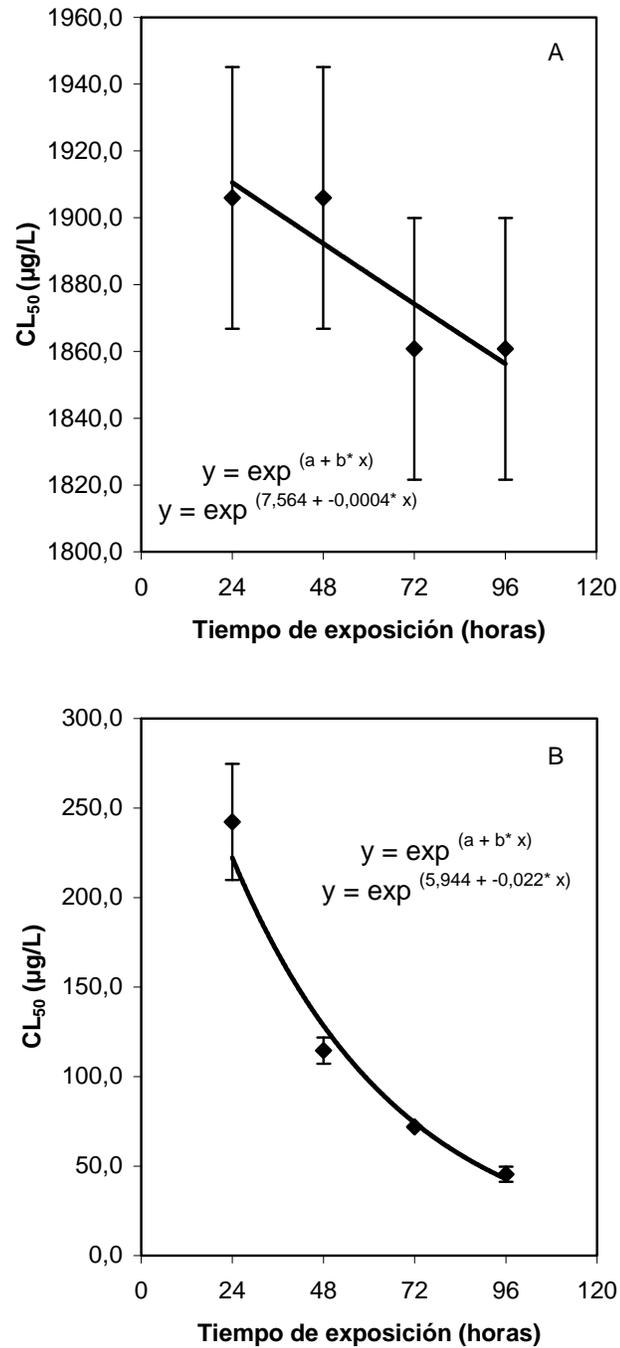


Figura 6. Concentraciones letales medias (CL₅₀) (medias ± desvío estándar) obtenidas de *T. borellianus* expuestos a los insecticidas endosulfán Zebra Ciagro[®] (A) y clorpirifós Terminator Ciagro[®] (B) durante 96 horas.

Tabla 17. Valores estimados de CL (medias \pm d.e.) y límites de confianza (medias \pm d.e.) de los insecticidas endosulfán Zebra Ciagro[®] y clorpirifós Terminator Ciagro[®] en *T. borellianus* a las 96 hs de exposición.

| Insecticida | Exposición letal aguda | | Límites de confianza al 95% | |
|---|------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|
| | Concentraciones | | Inferior | Superior |
| Endosulfán Zebra Ciagro [®] ($\mu\text{g/L}$) | CL ₁ | 906,646 \pm 24,529 | 484,685 \pm 10,121 | -* |
| | CL ₅₀ | 1860,758 \pm 78,297 | -* | -* |
| Clorpirifós Terminator Ciagro [®] ($\mu\text{g/L}$) | CL ₁ | 8,329 \pm 2,967 | 1,751 \pm 0,625 | 14,787 \pm 4,021 |
| | CL ₅ | 12,918 \pm 3,251 | 4,068 \pm 1,047 | 20,510 \pm 3,787 |
| | CL ₁₀ | 16,363 \pm 3,186 | 6,326 \pm 1,292 | 24,702 \pm 3,372 |
| | CL ₁₅ | 19,211 \pm 2,996 | 8,470 \pm 1,427 | 28,218 \pm 2,914 |
| | CL ₅₀ | 45,532 \pm 0,384 | 25,288 \pm 0,553 | 67,750 \pm 2,566 |
| | CL ₈₅ | 76,943 \pm 13,529 | 51,954 \pm 6,338 | 175,549 \pm 34,108 |
| | CL ₉₀ | 91,000 \pm 19,521 | 59,594 \pm 9,227 | 236,823 \pm 54,512 |
| | CL ₉₅ | 116,847 \pm 31,689 | 72,352 \pm 14,650 | 373,308 \pm 105,818 |
| | CL ₉₉ | 187,574 \pm 70,341 | 102,486 \pm 29,622 | 896,693 \pm 342,977 |

* La variación reducida de los valores letales impidieron la determinación de los límites de confianza.

5.1.5. Exposición aguda del camarón *P. argentinus* a diferentes fungicidas.

Los camarones utilizados en este ensayo tuvieron un LC medio de $9,03 \pm 1,11$ mm y $0,13 \pm 0,04$ g de peso húmedo. Estos fueron ubicados aleatoriamente en grupos y expuestos a concentraciones de carbendazim Flow Thin 50[®] quedando un grupo como control. Los pesos de los ejemplares controles y de los tratamientos tóxicos no fueron diferentes entre si (KW= 6,08; p= 0,0798). Además, los camarones de LC medio de $8,24 \pm 1,06$ mm y $0,12 \pm 0,10$ g de peso húmedo medio tampoco mostraron diferencias entre los grupos expuestos a carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] y control (KW= 0,99; p= 0,0801).

A las 24 hs, el fungicida carbendazim Flow Thin 50[®] provocó el 13,3% de mortalidad en la concentración de 0,100 g/L y el 20,0% en el tratamiento más elevado (0,800 g/L). La exposición a 0,012 g/L provocó la mortalidad del 6,6% de los individuos a las 48 hs. Mientras que la concentración de 0,800 g/L registró el 73,3% de muertes a las 72 hs, y el 100% a las 96 hs. Por otra parte, en la exposición del camarón *P. argentinus* al fungicida carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] ocurrió entre el 3,3% y 36,6% de mortalidad en los animales expuestos a 0,560 mg/L y 2,240 mg/L respectivamente a las 24 hs. A las 48 hs, la concentración de 0,280 mg/L tuvo el 3,3% de muertes. A las 96 hs, el producto Flow Thin 15-35[®] registró una mortalidad del 3,3% de camarones en la concentración de 0,070 mg/L, del 66,6% en 0,560 mg/L y el total de los individuos en la solución de 2,240 mg/L. Mientras que ningún camarón murió en los grupos controles.

La CL₅₀ varió en el tiempo de exposición al fungicida carbendazim Flow Thin 50[®] mediante una relación exponencial ($r= 0,98$; $F_{(0,05; 2; 3)} = 61,56$; p= 0,0159) (Figura 7A). La variación de los valores letales de los primeros días no mostró diferencias estadísticas con los obtenidos en las restantes mediciones (KW= 6,66; p= 0,0833). Las CL₅₀ obtenidas al final del ensayo incrementaron 10 veces en relación a CL₁, y fueron 4 veces inferiores a las CL₉₀ (Tabla 18). En Anexo 9.4: Tabla 3, fueron indicados los valores de Chi-cuadrado (X^2) y los parámetros de la relación concentración – respuesta a las 96 hs de exposición.

Como en el caso anterior, este camarón también tuvo una respuesta inmediata al efecto tóxico del fungicida carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®]. Los valores de CL₅₀ a las 24 hs y 48 hs fueron significativamente diferentes entre si y con los obtenidos a las 72 hs y 96 hs de exposición, siendo estos dos últimos tiempos no diferente entre si (KW= 10,38; p= 0,0155) (Tukey, p< 0,05). La relación entre las concentraciones letales y el tiempo del ensayo fue descrita por regresión exponencial ($r= 0,99$; $F_{(0,05; 2; 3)} = 2948,03$; p= 0,0003) (Figura 7B). Además, las concentraciones que resultaron letales al 50% de los ejemplares expuestos a las

96 hs fueron 6 veces mayores que las correspondientes al 1%, y 3 veces menores que las que provocaron la muerte al 90% de la población (Tabla 18) (Anexo 9.4: Tabla 3).

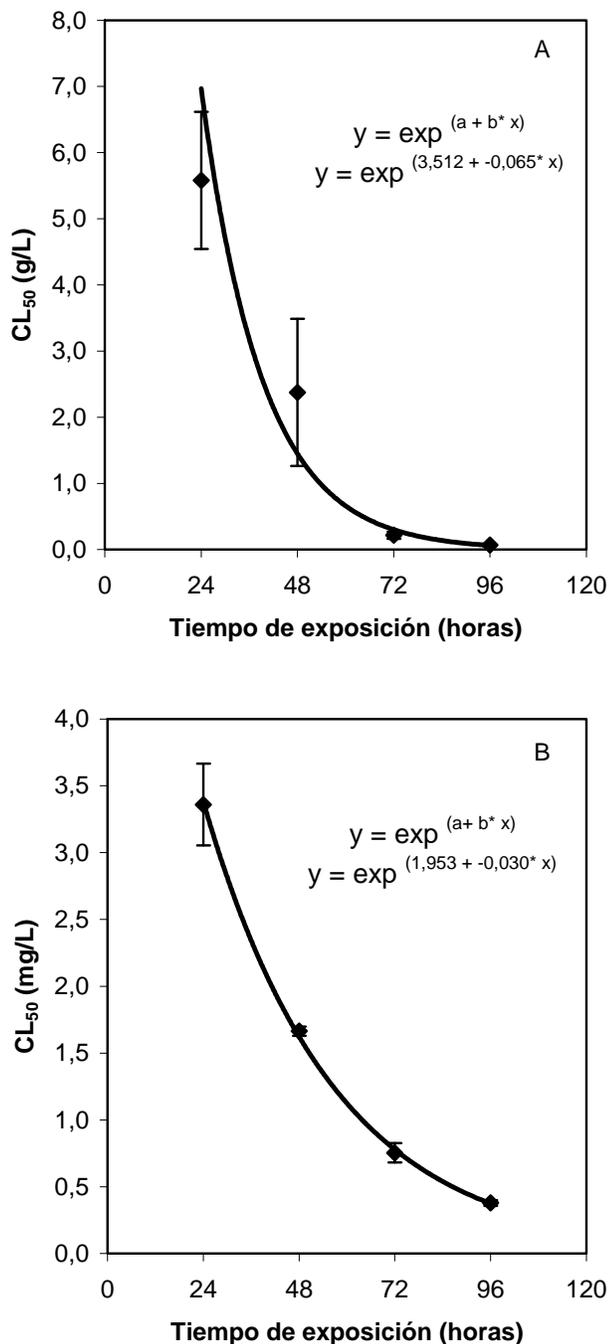


Figura 7. Concentraciones letales medias (CL_{50}) (medias \pm desvío estándar) obtenidas de *P. argentinus* expuesto a los fungicidas carbendazim Flow Thin 50[®] (A) y carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] (B) durante 96 horas.

Tabla 18. Valores estimados de CL (medias \pm d.e.) y límites de confianza (medias \pm d.e.) del fungicida carbendazim Flow Thin 50[®] y mezcla de fungicidas carbendazim-tiram del producto Flow Thin 15-35[®] en *P. argentinus* a las 96 hs de exposición.

| Fungicida | Exposición letal aguda | | Límites de confianza al 95% | |
|--|------------------------|-------------------|-----------------------------|---------------------|
| | Concentraciones | | Inferior | Superior |
| Carbendazim Flow Thin 50 [®] (g/L) | CL ₁ | 0,006 \pm 0,004 | 0,001 \pm 0,001 | 0,012 \pm 0,007 |
| | CL ₅ | 0,011 \pm 0,006 | 0,004 \pm 0,003 | 0,020 \pm 0,008 |
| | CL ₁₀ | 0,016 \pm 0,007 | 0,007 \pm 0,004 | 0,027 \pm 0,009 |
| | CL ₁₅ | 0,021 \pm 0,008 | 0,009 \pm 0,005 | 0,033 \pm 0,011 |
| | CL ₅₀ | 0,065 \pm 0,012 | 0,040 \pm 0,007 | 0,094 \pm 0,006 |
| | CL ₈₅ | 0,188 \pm 0,031 | 0,118 \pm 0,009 | 0,422 \pm 0,121 |
| | CL ₉₀ | 0,246 \pm 0,057 | 0,147 \pm 0,021 | 0,633 \pm 0,236 |
| | CL ₉₅ | 0,369 \pm 0,120 | 0,203 \pm 0,045 | 1,172 \pm 0,585 |
| | CL ₉₉ | 0,795 \pm 0,395 | 0,366 \pm 0,132 | 3,893 \pm 2,779 |
| Carbendazim- tiram Flow Thin 15-35 [®] (mg/L) | CL ₁ | 0,063 \pm 0,035 | 0,013 \pm 0,016 | 0,130 \pm 0,046 |
| | CL ₅ | 0,107 \pm 0,044 | 0,030 \pm 0,032 | 0,192 \pm 0,054 |
| | CL ₁₀ | 0,142 \pm 0,047 | 0,046 \pm 0,046 | 0,240 \pm 0,058 |
| | CL ₁₅ | 0,172 \pm 0,049 | 0,062 \pm 0,058 | 0,283 \pm 0,063 |
| | CL ₅₀ | 0,378 \pm 0,043 | 0,223 \pm 0,098 | 0,848 \pm 0,465 |
| | CL ₈₅ | 0,920 \pm 0,094 | 0,555 \pm 0,096 | 20,032 \pm 6,789 |
| | CL ₉₀ | 1,129 \pm 0,162 | 0,655 \pm 0,116 | 33,718 \pm 11,114 |
| | CL ₉₅ | 1,533 \pm 0,310 | 0,826 \pm 0,167 | 44,332 \pm 39,459 |
| | CL ₉₉ | 2,737 \pm 0,834 | 1,252 \pm 0,353 | 80,127 \pm 37,914 |

5.1.6. Exposición aguda del cangrejo *T. borellianus* a diferentes fungicidas.

Ejemplares de *T. borellianus* con AC medio de $5,78 \pm 0,80$ mm y peso húmedo de $0,14 \pm 0,05$ g colocados en grupos, fueron expuestos a los tratamientos de carbendazim Flow Thin 50[®], carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] y control. Estos no presentaron diferencias significativas en la comparación de los pesos de los individuos (KW= 9,50; p= 0,8001).

El rango de concentraciones entre 0,777 g/L y 10,000 g/L del fungicida carbendazim Flow Thin 50[®] y el rango entre 279,000 mg/L y 6000,000 mg/L de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] no provocaron la muerte de ningún cangrejo de *T. borellianus* luego de 96 hs de exposición. En todos los tratamientos los animales presentaron apariencia y comportamiento normal con respuesta normal a estímulos mecánicos. Cabe destacar que aún en las concentraciones menores, la disolución de los fungicidas produjo una gran turbidez en los medios de ensayo. Por lo que fue necesario el uso de canastillas construidas con alambre y tela blanca para alojar a los cangrejos y poder observarlos. Las canastillas fueron colocadas en el interior de los recipientes hasta una altura inferior a la superficie del medio líquido de ensayo. Con el transcurso del tiempo sedimentó parte de los productos en las concentraciones más altas de los fungicidas, y los cangrejos estuvieron en el fondo inmersos en ese medio de aspecto lodoso.

A modo de prueba, los cangrejos continuaron expuestos a la concentración mayor de carbendazim Flow Thin 50[®] (10,000 g/L) hasta las 264 hs (11 días). En estos individuos sólo ocurrió mortalidad en aquellos que iniciaron la muda, muriendo en el momento de salida del viejo exoesqueleto. Los demás cangrejos estuvieron visiblemente afectados, retraídos y con movimientos lentos como respuesta a estímulos.

5.2. Efectos en el metabolismo: consumo de oxígeno y excreción de amonio

Los valores letales determinados en la evaluación de la toxicidad aguda de los agroquímicos permitieron establecer las concentraciones usadas en la experiencia de los efectos de los biocidas sobre el consumo de oxígeno y excreción de amonio de las especies de decápodos *P. argentinus* y *T. borellianus*. En estos ensayos los resultados obtenidos fueron los siguientes:

5.2.1. Exposición del camarón *P. argentinus* a diferentes herbicidas.

Ejemplares de *P. argentinus* de LC medio de $8,53 \pm 0,10$ mm y el peso húmedo de $0,10 \pm 0,10$ g colocados en grupos fueron expuestos a glifosato Roundup[®] y control sin observar diferencias entre los grupos en relación a los pesos (KW= 7,62; p= 0,0544). Mientras que camarones de LC medio de $9,21 \pm 1,15$ mm y peso húmedo de $0,11 \pm 0,04$ g fueron expuestos a los tratamientos del éster butílico del ácido 2,4-D Herbifen Super[®] y controles, siendo similares los grupos utilizados en las distintas concentraciones (KW= 1,66; p= 0,6453).

En la primera hora, la exposición de *P. argentinus* a glifosato Roundup[®] provocó un consumo de oxígeno ($\text{mgO}_2/\text{g.h}$) significativamente menor que en los camarones controles (KW= 34,70; p< 0,0001) (Tukey, p< 0,05) (Figura 8A). Si bien no hubo diferencias entre los tratamientos, esta función fisiológica fue mayormente afectada por la toxicidad del glifosato en las concentraciones más bajas utilizadas. El consumo de oxígeno registrado en las horas siguientes determinó una tendencia decreciente en todos los grupos siendo el consumo de oxígeno muy inferior en las concentraciones menores (KW= 14,62; p= 0,0021) (Tukey, p< 0,05). El gasto energético determinado en este primer período de ensayo fue menor entre los individuos expuestos a glifosato, con variaciones entre los tratamientos tóxicos (Figura 8B).

Sin embargo, los camarones *P. argentinus* expuestos a 2,4-D Herbifen Super[®] tuvieron valores altos de consumo de oxígeno conjuntamente con un mayor gasto energético en la primera hora de ensayo. Si bien en las concentraciones superiores los valores fueron inferiores, estos no variaron significativamente de los restantes grupos (KW= 4,73; p= 0,1922) (Figura 9A y B). En las siguientes horas del período 1-4 hs, el oxígeno consumido y la energía expedita en cada hora mostró en general una tendencia decreciente sin diferencias significativas entre los individuos expuestos a las distintas concentraciones (KW= 4,82; p= 0,18532).

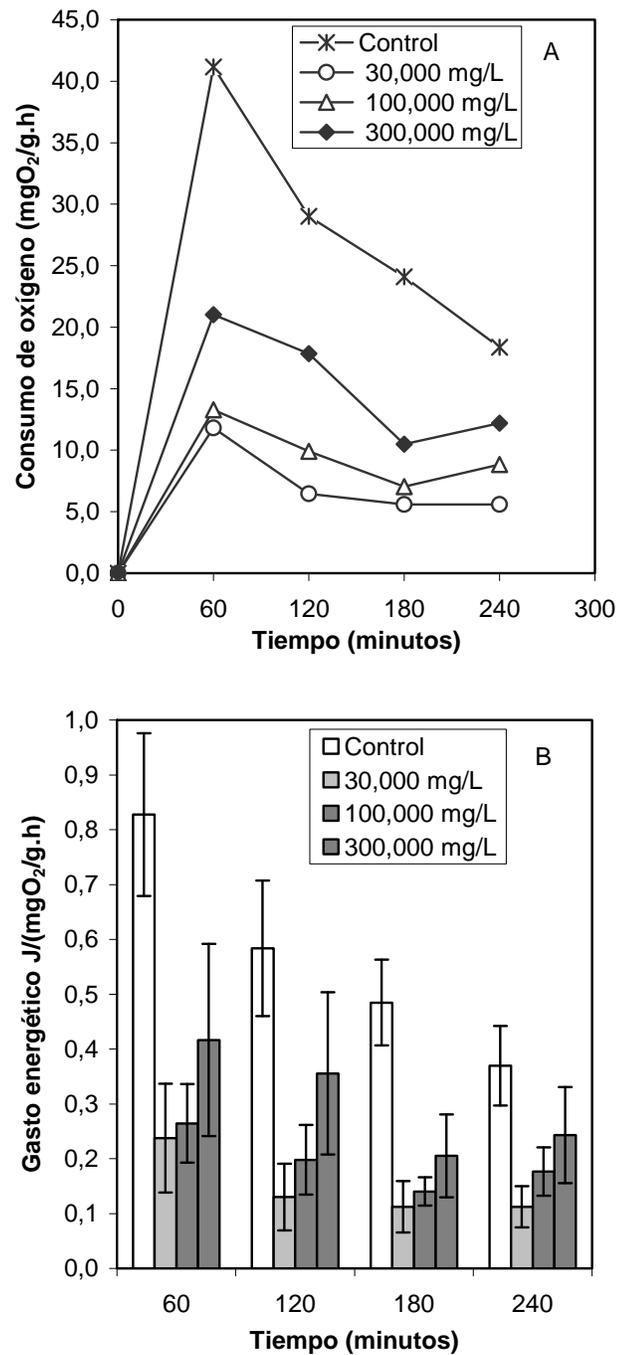


Figura 8. Consumo de oxígeno (A) y gasto de energía (B) de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de glifosato Roundup® en función del tiempo (1-4 horas). Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

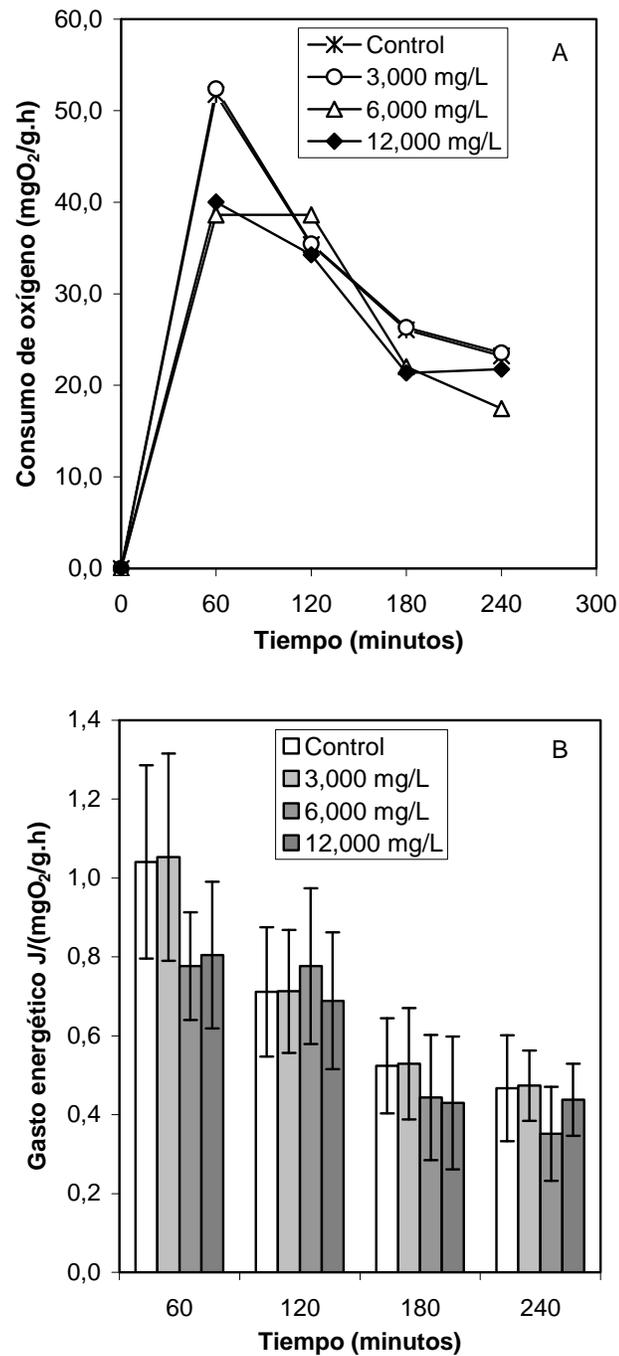


Figura 9. Consumo de oxígeno (A) y gasto de energía (B) de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de 2,4-D Herbifen Super[®] en función del tiempo (1-4 horas). Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

El consumo de oxígeno de los camarones varió linealmente con la disminución de la concentración disuelta del gas en el medio líquido. No obstante, en los tratamientos de glifosato los consumos fueron muy inferiores a los de los animales sin tóxico con similares niveles de oxígeno disponible (Figura 10). Esta alteración en los consumos determinó diferentes pendientes entre las distintas soluciones. La variabilidad de los datos provocó un coeficiente de correlación (r) relativamente bajo (Tabla 19).

La exposición al herbicida 2,4-D provocó en el camarón un efecto en el requerimiento de oxígeno disuelto a medida que aumentaron las concentraciones (Figura 11). La relación lineal entre estos consumos y el oxígeno determinó valores de pendiente estadísticamente diferentes entre los tratamientos del herbicida y grupo control (Tabla 20).

Por otra parte, el consumo de oxígeno de *P. argentinus* varió linealmente con el peso de los ejemplares, siendo más alto en los individuos más pequeños y la menor demanda de oxígeno correspondió a los adultos. La toxicidad de glifosato provocó la disminución del consumo de oxígeno en todos los camarones del rango de tallas usada (Figura 12). Los individuos de menor tamaño expuestos a la concentración de 300,000 mg/L, fueron aparentemente menos afectados por la exposición tóxica. En esta relación, los valores bajos obtenidos de r no permitieron una correcta comparación de los grupos (Tabla 21).

La reducción del consumo de oxígeno también fue evidente en todo el rango de pesos de los camarones expuestos a las concentraciones mayores de 2,4-D (Figura 13). Sin embargo, las pendientes obtenidas de la relación entre los parámetros no mostraron diferentes entre los diferentes tratamientos (Tabla 22). En la concentración de 3,000 mg/L, el oxígeno consumido determinó un valor de pendiente diferente de los restantes grupos. Si bien en estos ensayos el coeficiente r fue bajo, tuvo valores más altos que las experiencias anteriores.

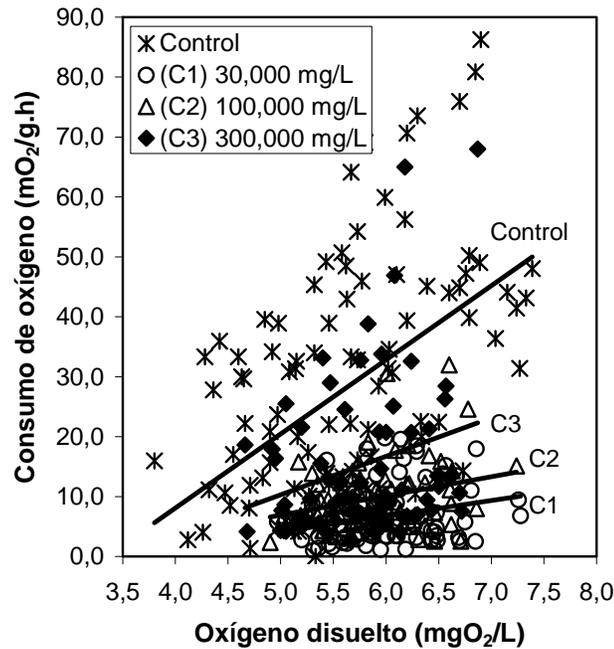


Figura 10. Relación entre el consumo de oxígeno de *P. argentinus* y el oxígeno disponible en control y expuesto a diferentes concentraciones de glifosato Roundup®.

Tabla 19. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno de *P. argentinus* y el oxígeno disuelto en control y expuesto a distintas concentraciones de glifosato Roundup® ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* oxígeno disuelto | | | | | |
|--|----------------------------|--------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | -40,537 | 12,254 | 0,47 | 20 | <0,0001 |
| 30,000 mg/L | -8,885 | 2,605* | 0,24 | 20 | 0,0380 |
| 100,000 mg/L | -9,132 | 3,203* | 0,27 | 20 | 0,0228 |
| 300,000 mg/L | -21,661 | 6,396* | 0,26 | 20 | 0,0303 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

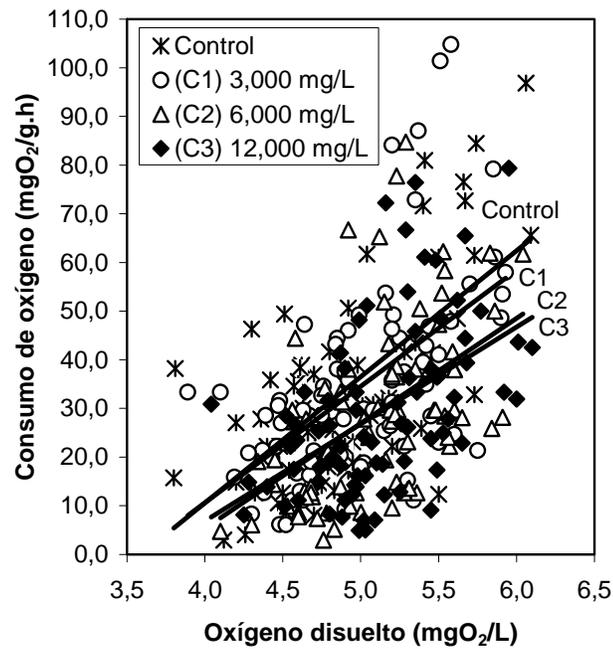


Figura 11. Relación entre el consumo de oxígeno de *P. argentinus* y el oxígeno disponible en control y expuesto a diferentes concentraciones de 2,4-D Herbifen Super®.

Tabla 20. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno de *P. argentinus* y el oxígeno disuelto en control y expuesto a distintas concentraciones de 2,4-D Herbifen Super® ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* oxígeno disuelto | | | | | |
|--|----------------------------|---------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | -93,122 | 25,930 | 0,64 | 20 | <0,0001 |
| 3,000 mg/L | -84,965 | 23,905* | 0,54 | 20 | <0,0001 |
| 6,000 mg/L | -81,135 | 21,615* | 0,50 | 20 | <0,0001 |
| 12,000 mg/L | -72,748 | 19,912* | 0,49 | 20 | <0,0001 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

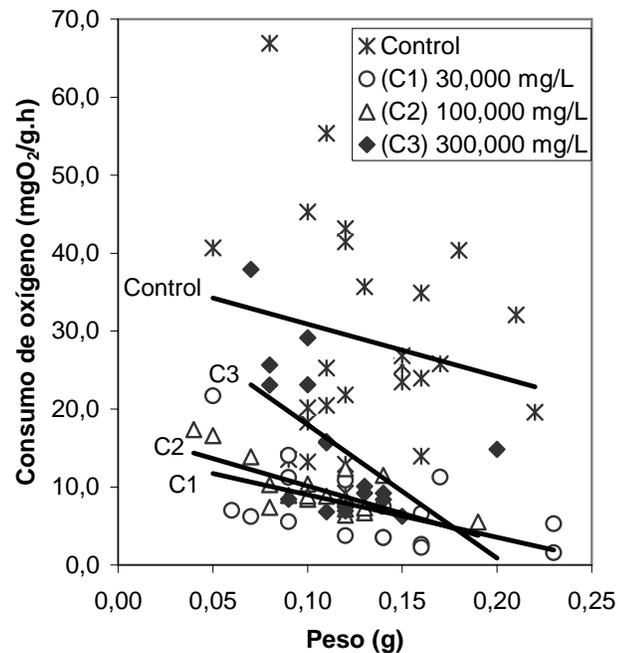


Figura 12. Relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de glifosato Roundup®.

Tabla 21. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *P. argentinus* en control y expuesto a distintas concentraciones de glifosato Roundup® ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* peso | | | | | |
|----------------------------------|----------------------------|-----------|------|----|--------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 37,576 | -67,005 | 0,18 | 20 | 0,0230 |
| 30,000 mg/L | 14,453 | -54,546 | 0,55 | 20 | 0,0163 |
| 100,000 mg/L | 17,937 | -77,944 | 0,73 | 20 | 0,0006 |
| 300,000 mg/L | 42,425 | -236,915* | 0,64 | 20 | 0,0050 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes, $t_{0,05; 2; 39} = -4,206$).

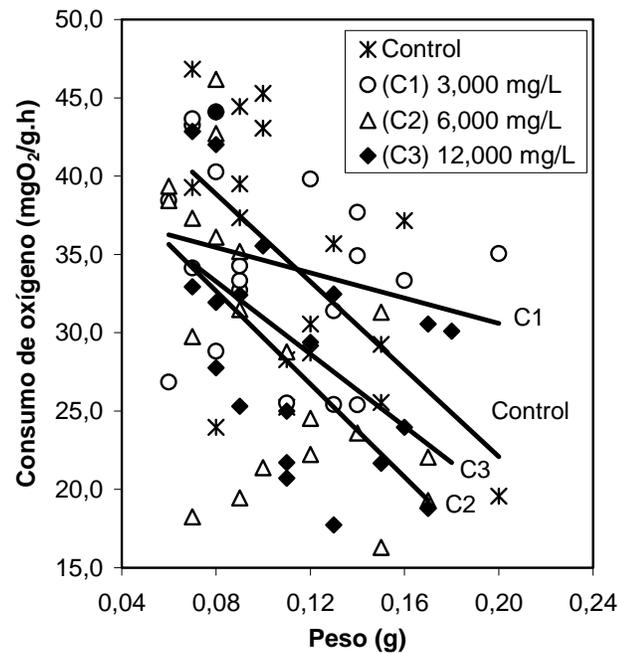


Figura 13. Relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de 2,4-D Herbifen[®].

Tabla 22. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *P. argentinus* en control y expuesto a distintas concentraciones de de 2,4-D Herbifen[®] ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* peso | | | | | |
|----------------------------------|----------------------------|----------|------|----|--------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 50,054 | -139,796 | 0,58 | 20 | 0,0135 |
| 3,000 mg/L | 38,688 | -40,468* | 0,25 | 20 | 0,2779 |
| 6,000 mg/L | 44,563 | -148,588 | 0,59 | 20 | 0,0054 |
| 12,000 mg/L | 42,549 | -115,789 | 0,53 | 20 | 0,0150 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes, $t_{0,05; 2; 33} = 2,281$).

A las 24 hs de ensayo, en las tres concentraciones de glifosato murió el 5% de los camarones expuestos. Mientras que en 2,4-D la mortalidad fue del 10% en la concentración de 6,000 mg/L, y del 95% de los individuos en 12,000 mg/L. En esta última concentración, los camarones estuvieron muy afectados a lo largo de las horas de exposición y la mayoría de las muertes ocurrieron al final de los ensayos.

Los ejemplares de *P. argentinus* expuestos a las mayores concentraciones de glifosato Roundup® consumieron oxígeno de manera similar a los controles (Figura 14A). Mientras que los camarones expuestos a la concentración menor (30,000 mg/L) fueron los más afectados, siendo el consumo de oxígeno significativamente inferior al de los demás grupos evaluados (KW= 24,45; $p < 0,0001$) (Tukey, $p < 0,05$). Este consumo bajo también fue reflejado en un menor gasto energético demandado en la respiración (Figura 14B).

Por otra parte en similares niveles de oxígeno disuelto, el consumo de oxígeno y el gasto energético de los ejemplares expuestos a 2,4-D Herbifen Super® no fueron diferentes del control (KW= 4,17; $p = 0,2430$) (Figura 15Ay B).

En la evaluación de la excreción de amonio, los niveles determinados en los individuos expuestos a glifosato fueron significativamente inferiores del grupo control, aunque no diferentes entre las concentraciones del herbicida (KW= 27,08; $p < 0,0001$) (Tukey, $p < 0,05$) (Figura 16A). Además en esta experiencia, los valores de la relación O:N fueron mayores comparados con el control (KW= 30,75; $p < 0,0001$) (Tukey, $p < 0,05$) (Figura 16B).

Los camarones colocados en las soluciones de 2,4-D la excreción de amonio no fue diferente al del grupo control (Figura 17A). Sin embargo, la exposición en la concentración de 12,000 mg/L, provocó niveles significativamente menores en la excreción de los camarones (KW= 17,96; $p = 0,0004$) (Tukey, $p < 0,05$). Por otra parte, la relación O:N mostró valores elevados en los tratamientos mayores de 2,4-D, incrementando significativamente en la concentración de 12,000 mg/L (KW= 22,54; $p < 0,0001$) (Tukey, $p < 0,05$) (Figura 17B).

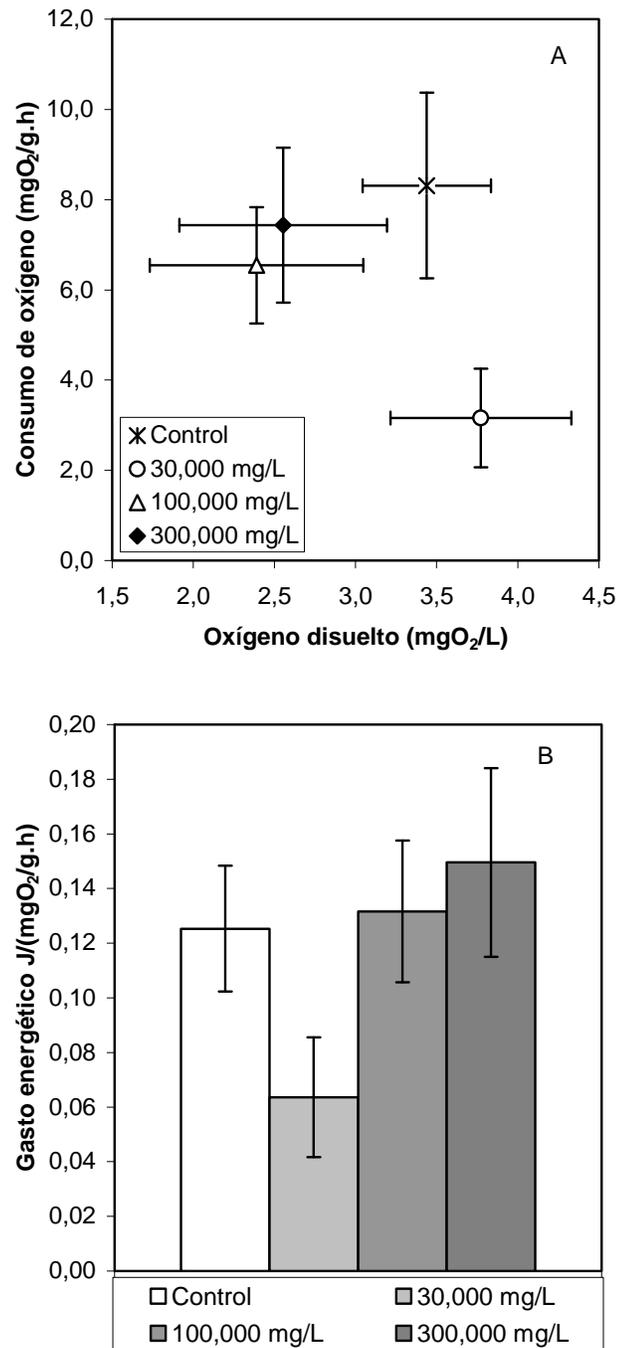


Figura 14. Consumo de oxígeno de *P. argentinus* en relación al oxígeno disuelto (A) y energía expedita (B) en concentraciones de glifosato Roundup® y control a las 24 hs de ensayo. Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

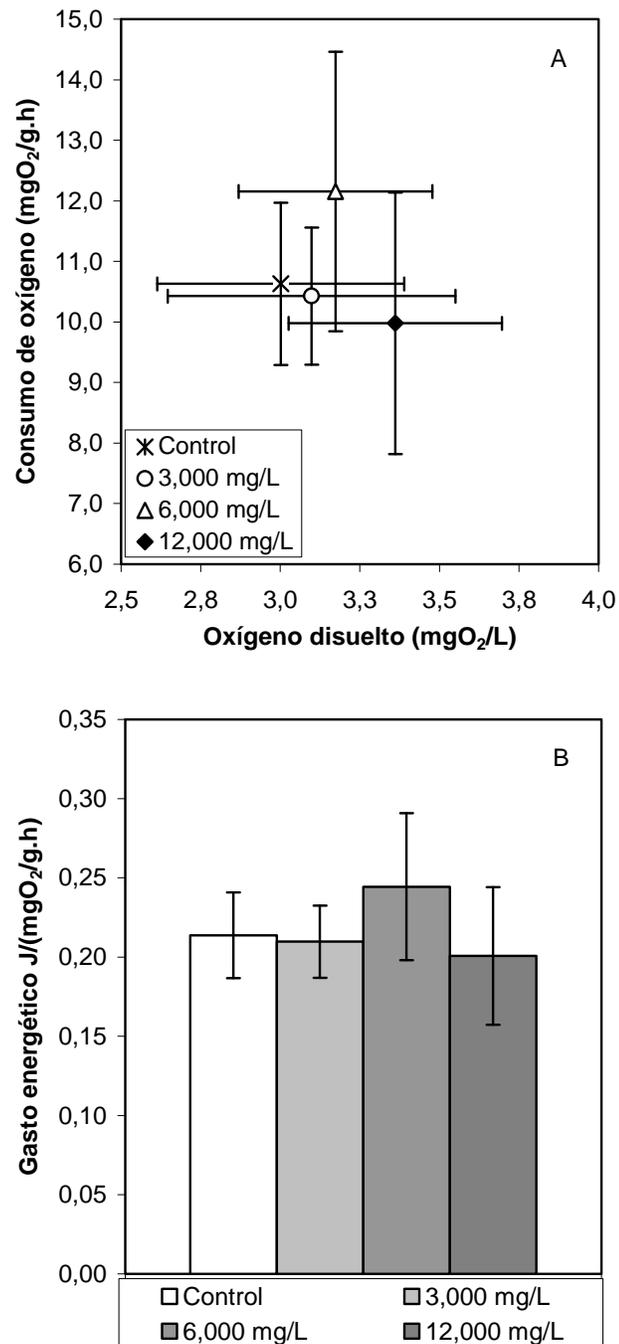


Figura 15. Consumo de oxígeno de *P. argentinus* en relación al oxígeno disuelto (A) y energía expedita (B) en concentraciones de 2,4-D Herbifen Super[®] y control a las 24 hs de ensayo. Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

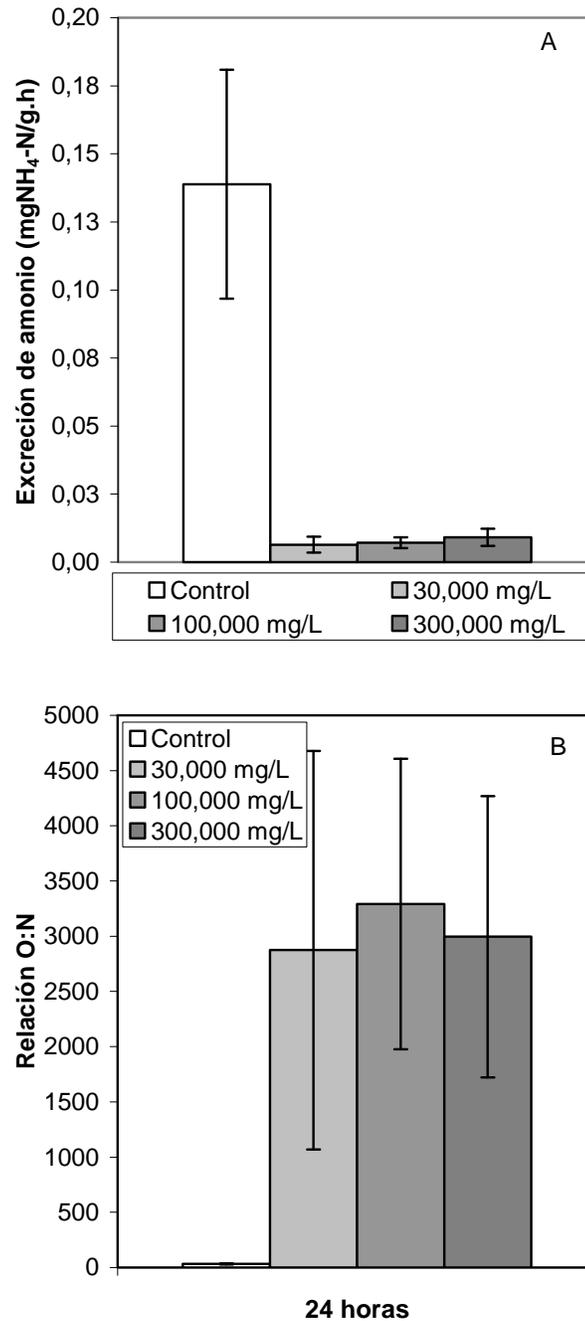


Figura 16. Excreción de amonio (A) y relación O:N (B) de *P. argentinus* en concentraciones de glifosato Roundup® y control a las 24 hs de ensayo. Barras de valores medios y desvío estándar.

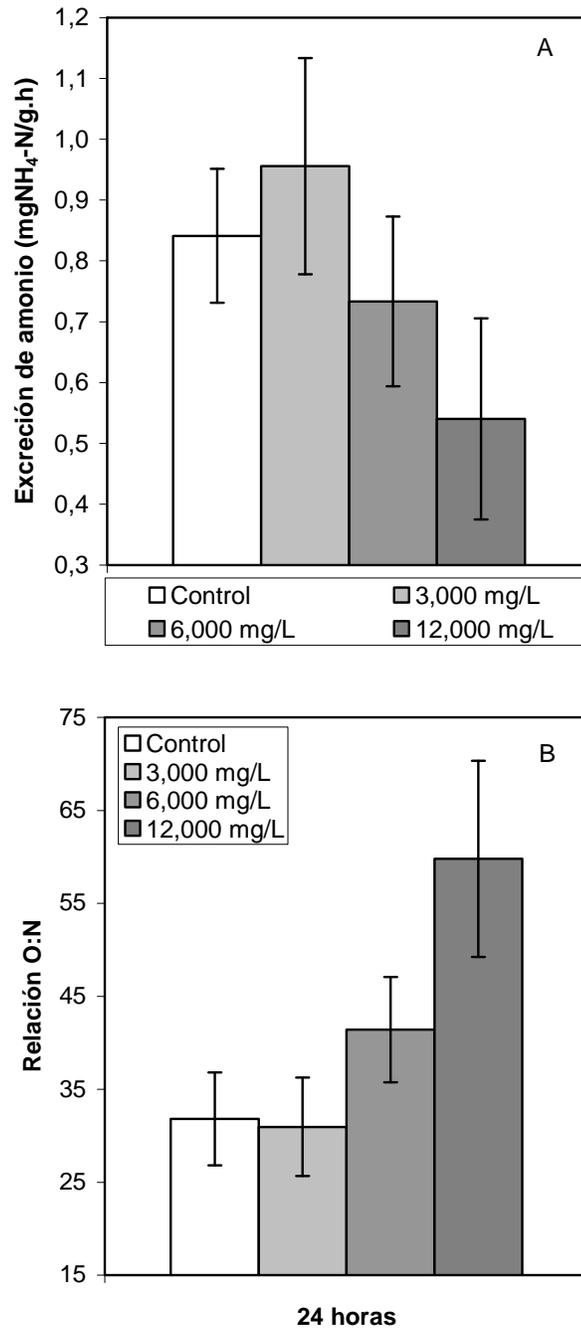


Figura 17. Excreción de amonio (A) y relación O:N (B) de *P. argentinus* en concentraciones de 2,4-D Herbifen Super[®] y control a las 24 hs de ensayo. Barras de valores medios y desvío estándar.

5.2.2. Exposición del cangrejo *T. borellianus* a diferentes herbicidas.

Cangrejos de *T. borellianus* con AC medio de $6,76 \pm 1,47$ mm y peso húmedo medio de $0,23 \pm 0,15$ g ubicados en forma aleatoria en diferentes grupos fueron expuestos a las concentraciones de glifosato Roundup® y control. En estos, no hubo diferencias estadísticas en relación al peso de los animales (ANOVA, $F_{0,05; 2; 35} = 0,72$; $p = 0,5469$). Por otra parte, en los ensayos con 2,4-D Herbifen Super®, cangrejos con AC medio de $5,99 \pm 0,88$ mm y $0,15 \pm 0,05$ g de peso húmedo medio fueron expuestos a tratamientos con este biocida. De la misma manera, los ejemplares utilizados en cada grupo fueron similares en relación al peso (KW= 0,31; $p = 0,9564$).

Si bien el glifosato Roundup® provocó un consumo de oxígeno y de energía menor en los cangrejos de las concentraciones inferiores luego de la primera hora de exposición, estos valores no fueron diferentes al del control (KW= 3,72; $p = 0,2926$). Posteriormente, el oxígeno consumido disminuyó sin diferencias entre los valores de las concentraciones más bajas. En la cuarta hora de exposición, estos consumos no mostraron diferencias significantes entre los grupos (KW= 2,06; $p = 0,5586$) (Figura 18A y B).

Por otra parte, la exposición al herbicida 2,4-D Herbifen Super® no modificó el consumo de oxígeno y el gasto energético de los cangrejos de *T. borellianus* en la primer hora de ensayo (KW= 1,50; $p = 0,6814$) (Figura 19A y B). En la segunda medición, el consumo de oxígeno y de energía en 2,4-D disminuyó significativamente con relación al grupo control (KW= 11,50; $p = 0,0092$) (Tukey, $p < 0,05$). Luego los valores incrementaron en todas las concentraciones, tendencia que continuó hasta la cuarta hora en 500,000 mg/L sin diferencia entre los grupos evaluados (KW= 5,60; $p = 0,1324$).

Cabe aclarar que los animales fueron muy afectados por la exposición a las concentraciones de los herbicidas, principalmente de 2,4-D. En algunos casos los cangrejos llegaron al final del ensayo en estado moribundo, volteados dorsoventralmente y con ausencia de respuestas a estímulos.

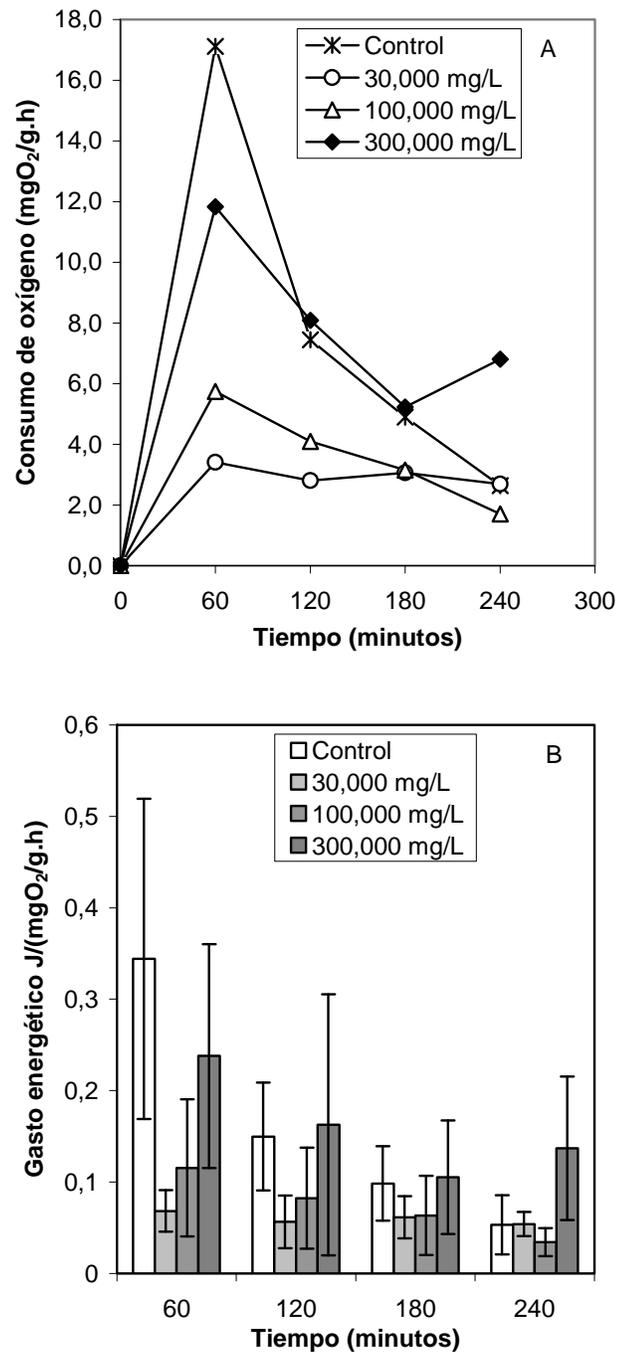


Figura 18. Consumo de oxígeno (A) y gasto de energía (B) de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de glifosato Roundup® en función del tiempo (1-4 horas). Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

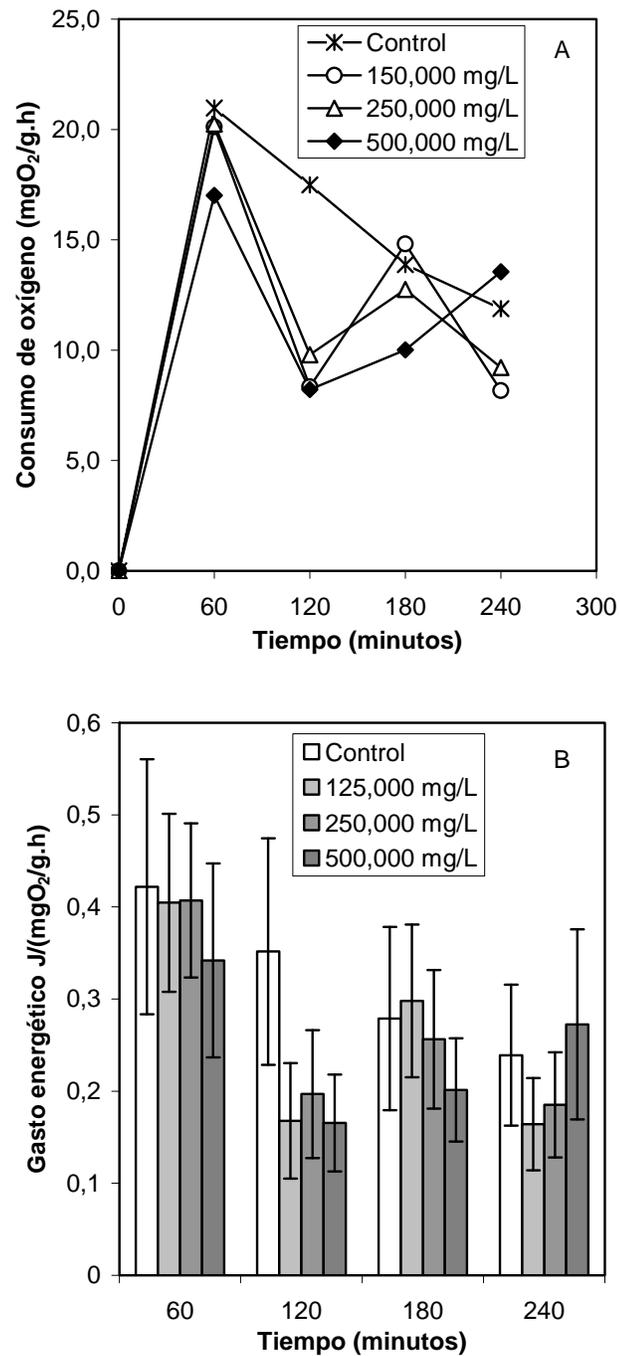


Figura 19. Consumo de oxígeno (A) y gasto de energía (B) de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de 2,4-D Herbifen Super[®] en función del tiempo (1-4 horas). Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

El consumo de oxígeno en los cangrejos disminuyó linealmente con la menor concentración de oxígeno disuelta en el medio. En los individuos colocados en las concentraciones menores de glifosato, la relación entre el OD y el consumo de oxígeno fue diferente al del control (Figura 20). La variabilidad de los datos provocó valores de coeficiente r bajo (Tabla 23).

En los ensayos con 2,4-D, la toxicidad del herbicida afectó el oxígeno consumido en los cangrejos de las concentraciones inferiores, donde disminuyó levemente con la reducción del gas disuelto en el medio (Figura 21). Además los cangrejos expuestos en la concentración de 500,000 mg/L, incrementaron los consumos con la reducción del recurso (Tabla 24). Como en el caso anterior, los valores bajos de r impidieron la correcta comparación de los grupos.

Por otra parte, en todos los cangrejos expuestos al glifosato Roundup® el oxígeno consumido disminuyó con mayor pesos de los cangrejos, como también ocurrió en aquellos cangrejos no expuestos al biocida (Figura 22). La principal variación fue en los ejemplares más pequeños expuestos al herbicida, siendo diferentes entre aquellos colocados a la concentración de 30,000 mg/L y el grupo control (Tabla 25).

En cuanto al herbicida 2,4-D, la reducción que provocó en el consumo de oxígeno en todo el rango de pesos utilizado fue similar entre aquellos expuestos y no colocados en el biocida (Figura 23). La variación de los valores determinó bajos coeficientes de r (Tabla 26).

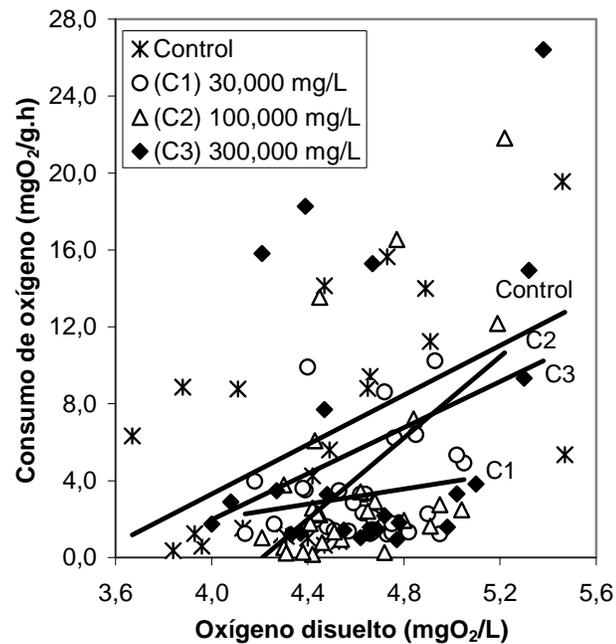


Figura 20. Relación entre el consumo de oxígeno de *T. borellianus* y el oxígeno disponible en control y expuesto a diferentes concentraciones de glifosato Roundup®.

Tabla 23. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno de *T. borellianus* y el oxígeno disuelto en control y expuesto a distintas concentraciones de glifosato Roundup® ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* oxígeno disuelto | | | | | |
|--|----------------------------|---------|------|----|--------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | -22,439 | 6,434 | 0,52 | 20 | 0,0104 |
| 30,000 mg/L | -5,856 | 1,964* | 0,17 | 20 | 0,3345 |
| 100,000 mg/L | -44,510 | 10,568* | 0,53 | 20 | 0,0042 |
| 300,000 mg/L | -21,962 | 5,982 | 0,32 | 20 | 0,1234 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

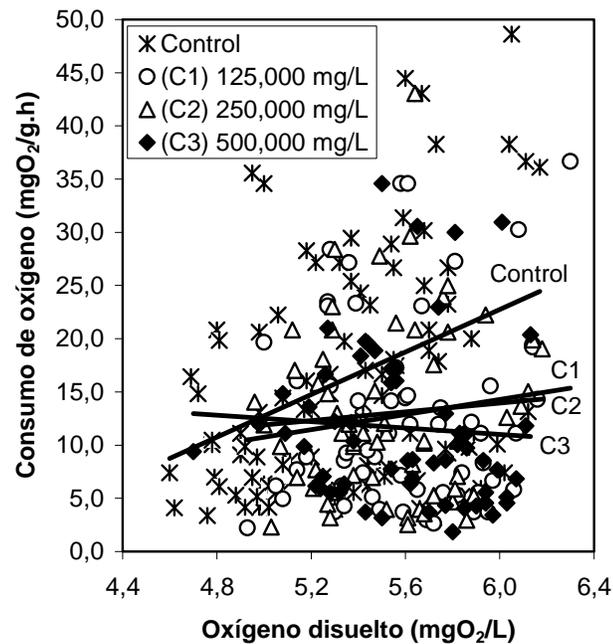


Figura 21. Relación entre el consumo de oxígeno de *T. borellianus* y el oxígeno disponible en control y expuesto a diferentes concentraciones de 2,4-D Herbifen Super[®].

Tabla 24. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno de *T. borellianus* y el oxígeno disuelto en control y expuesto a distintas concentraciones de 2,4-D Herbifen Super[®] ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = $a + b \cdot \text{oxígeno disuelto}$ | | | | | |
|--|----------------------------|---------|------|----|--------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | -37,272 | 10,005 | 0,33 | 20 | 0,0006 |
| 125,000 mg/L | -7,019 | 3,552* | 0,13 | 20 | 0,3212 |
| 250,000 mg/L | 1,579 | 2,062* | 0,07 | 20 | 0,5680 |
| 500,000 mg/L | 20,070 | -1,512* | 0,06 | 20 | 0,6330 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

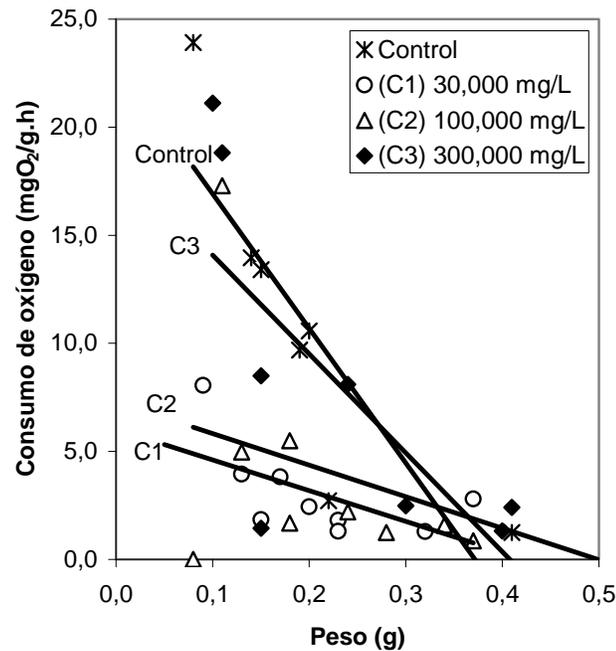


Figura 22. Relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de glifosato Roundup®.

Tabla 25. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *T. borellianus* en control y expuesto a distintas concentraciones de glifosato Roundup® ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* peso | | | | | |
|----------------------------------|----------------------------|----------|------|----|--------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 21,311 | -50,980 | 0,86 | 20 | 0,0059 |
| 30,000 mg/L | 5,709 | -13,000* | 0,62 | 20 | 0,0544 |
| 100,000 mg/L | 9,579 | -21,302 | 0,57 | 20 | 0,0794 |
| 300,000 mg/L | 18,652 | -45,724 | 0,72 | 20 | 0,0418 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes, $t_{0,05; 2; 14} = 2,236$).

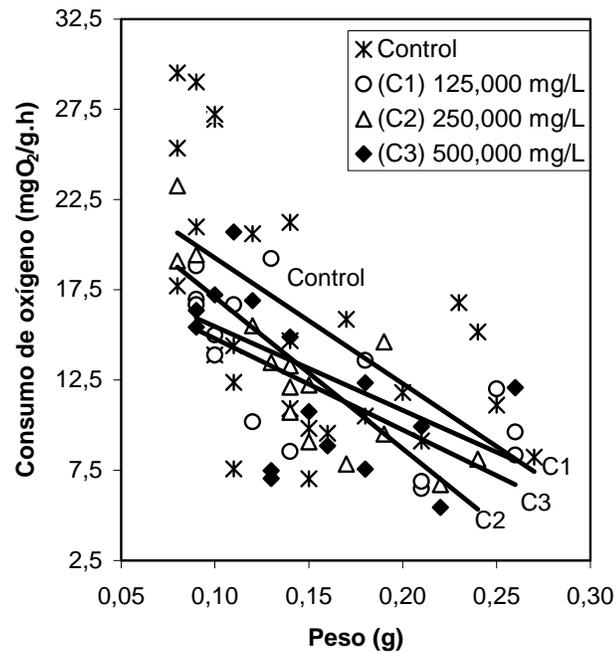


Figura 23. Relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de 2,4-D Herbifen Super[®].

Tabla 26. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *T. borellianus* en control y expuesto a distintas concentraciones de 2,4-D Herbifen Super[®] ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* peso | | | | | |
|----------------------------------|----------------------------|---------|------|----|--------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 26,223 | -69,592 | 0,56 | 20 | 0,0025 |
| 125,000 mg/L | 20,092 | -46,376 | 0,70 | 20 | 0,0034 |
| 250,000 mg/L | 25,465 | -83,876 | 0,83 | 20 | 0,0001 |
| 500,000 mg/L | 19,846 | -50,544 | 0,56 | 20 | 0,0298 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

La exposición a las distintas concentraciones de glifosato Roundup® no provocó muertes entre los cangrejos a las 24 hs. Sin embargo, aquellos expuestos al herbicida 2,4-D la mortalidad fue del 25% de los individuos en la concentración de 500,000 mg/L y del 5% en 250,000 mg/L.

El consumo de oxígeno y gasto energético en los cangrejos colocados a las concentraciones de glifosato fueron significativamente inferiores de los obtenidos en los animales control (KW= 40,63; $p < 0,0001$) (Tukey, $p < 0,05$) (Figura 24A y B).

Los ejemplares que sobrevivieron al final del ensayo en las concentraciones de 2,4-D Herbifen Super® registraron un consumo de oxígeno y gasto energético mayor que los controles. Este incremento de los valores fue proporcional al aumento en la toxicidad del biocida e inversamente proporcional a la cantidad de oxígeno disponible (Figura 25A y B). En los tratamientos menores del herbicida, la variación del consumo no fue diferente del control. Sin embargo, si se detectó diferencias con los obtenidos en la concentración mayor (500,000 mg/L) (KW= 9,67; $p = 0,0215$) (Tukey, $p < 0,05$).

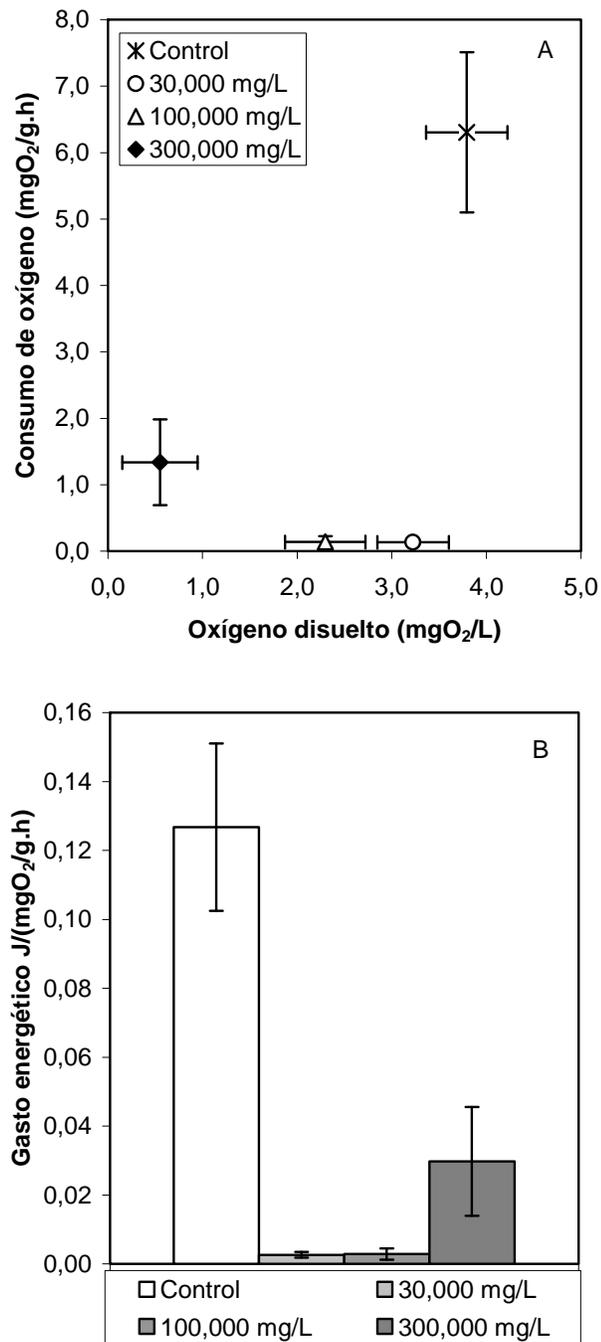


Figura 24. Consumo de oxígeno de *T. borellianus* en relación al oxígeno disuelto (A) y energía expedita (B) en concentraciones de glifosato Roundup® y control a las 24 hs de ensayo. Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

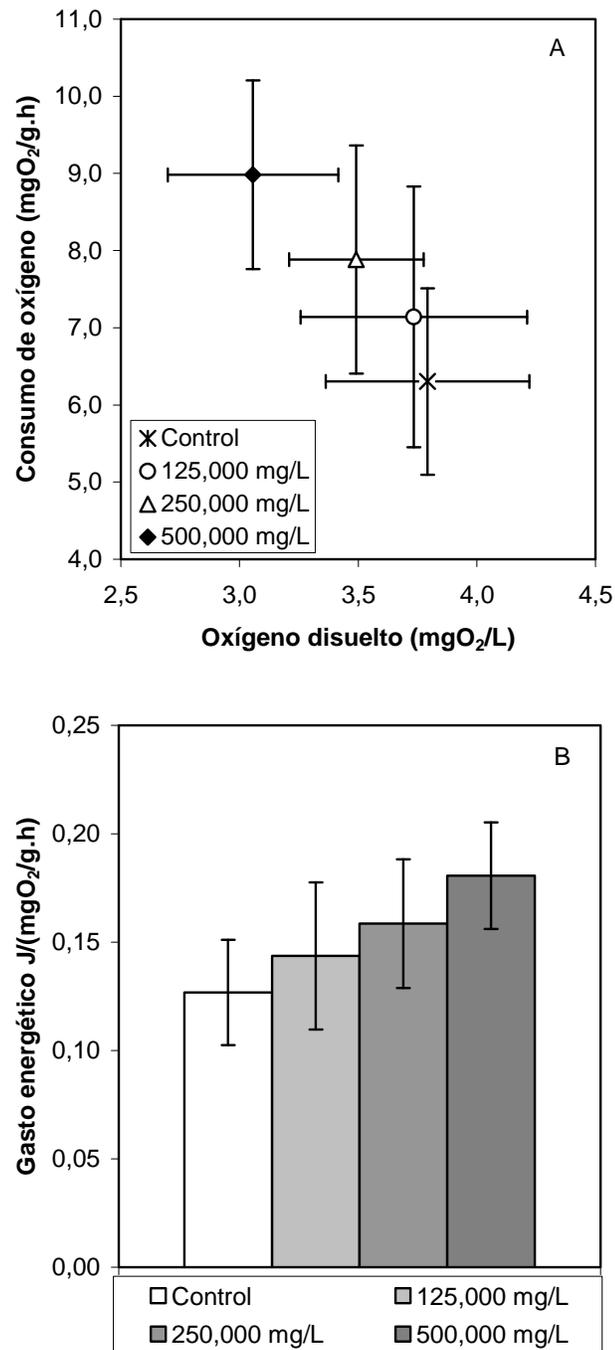


Figura 25. Consumo de oxígeno de *T. borellianus* en relación al oxígeno disuelto (A) y energía expedita (B) en concentraciones de 2,4-D Herbifen Super[®] y control a las 24 hs de ensayo. Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

5.2.3. Exposición del camarón *P. argentinus* a diferentes insecticidas.

En estos ensayos, los ejemplares de *P. argentinus* tuvieron un LC medio de $9,40 \pm 1,09$ mm y peso húmedo medio de $0,13 \pm 0,04$ g. Estos camarones colocados aleatoriamente en grupos fueron expuestos a distintas concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro® sin diferencias estadísticas en la comparación de los pesos entre los grupos (KW= 1,80; p= 0,6136). De la misma manera, los camarones con LC medio de $9,53 \pm 1,19$ mm y peso húmedo medio de $0,14 \pm 0,04$ g expuestos a concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro® tuvieron similares pesos entre los grupos definidos a cada solución (KW= 7,33; p= 0,0618).

En la primera hora de exposición a endosulfán los camarones obtuvieron menos oxígeno del sistema que los controles, al igual que el gasto energético, con el incremento en la toxicidad del insecticida (KW= 10,29; p= 0,0161). En la segunda medición los consumos se incrementaron en los tratamientos tóxicos, siendo los de las concentraciones inferiores similares a los controles. El aumento del consumo de oxígeno de los camarones colocados en 12,000 µg/L no fue diferente estadísticamente al de los otros grupos (KW= 7,39; p= 0,0602). Luego los consumos de oxígeno disminuyeron en la mayoría de los grupos de camarones, sin variaciones significativas entre las concentraciones de endosulfán y controles (KW= 6,05; p= 0,1087) (Figura 26A y B).

Por otro lado, el insecticida clorpirifós Terminator Ciagro® indujo un consumo de oxígeno y de energía similar a los controles en la primera hora, especialmente en los camarones expuestos a los tratamientos mayores (Figura 27A y B). El mayor valor de consumo de los animales de la concentración de 0,040 µg/L no fue diferente al de los otros grupos (KW= 4,25; p= 0,2350). Luego el oxígeno consumido disminuyó progresivamente, sin diferencias estadísticas entre las concentraciones del insecticida y los controles (KW= 3,14; p= 0,3692).

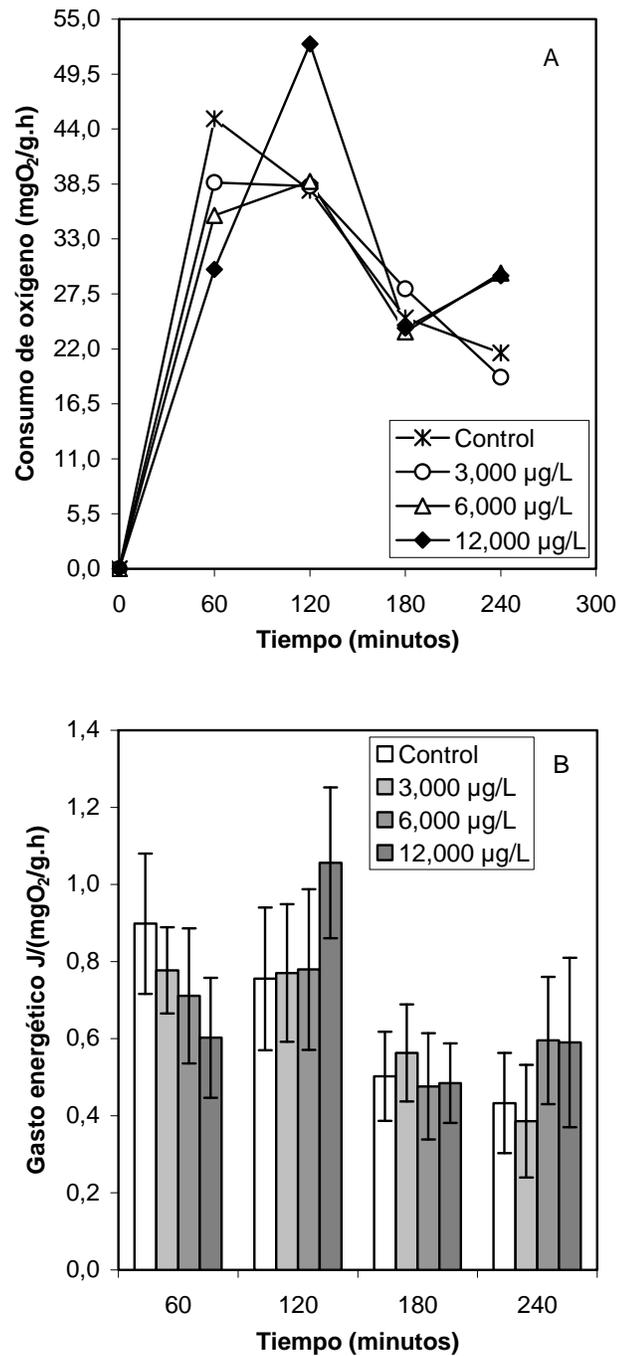


Figura 26. Consumo de oxígeno (A) y gasto de energía (B) de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro[®] en función del tiempo (1-4 horas). Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

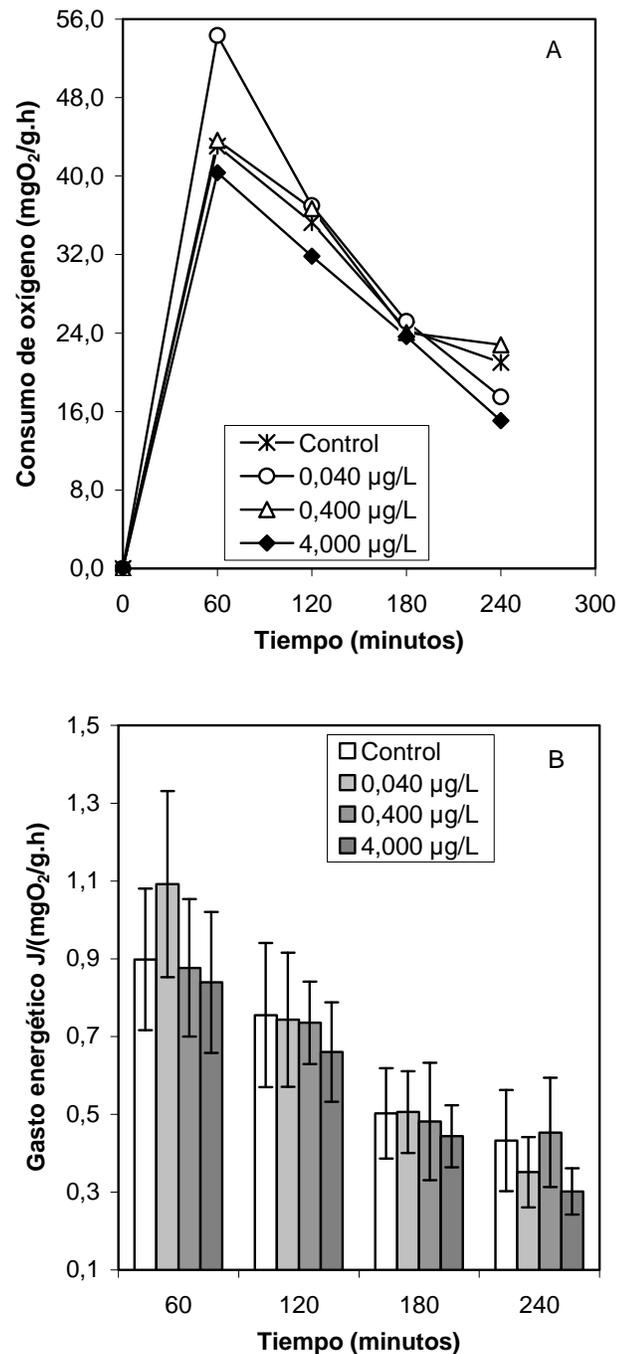


Figura 27. Consumo de oxígeno (A) y gasto de energía (B) de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro[®] en función del tiempo (1-4 horas). Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

En las concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro[®] se observó una reducción menor en el consumo de oxígeno realizado por los camarones expuestos (Figura 28). La relación entre oxígeno consumido y disuelto fue diferente en los distintos grupos evaluados. Estas regresiones obtuvieron coeficientes de correlación (r) medios y bajos. La dispersión de los datos aumentó con una mayor presencia de oxígeno disuelto en el medio (Tabla 27).

La toxicidad de clorpirifós Terminator Ciagro[®] indujo a un mayor consumo de oxígeno, especialmente en las concentraciones menores del biocida. Las pendientes de la relación entre consumo de oxígeno y oxígeno disuelto en las concentraciones del insecticida fueron diferentes a la del grupo control (Figura 29). Mientras que los valores de r fueron medios, con una menor dispersión de los datos (Tabla 28).

Por otra parte, el consumo de oxígeno de los camarones expuestos a endosulfán Zebra Ciagro[®] varió con el peso de los individuos en forma similar al grupo control (Figura 30). La variabilidad de los datos provocó un coeficiente de correlación (r) relativamente bajo (Tabla 29).

Las concentraciones menores de clorpirifós Terminator Ciagro[®] provocaron un incremento en el consumo de oxígeno de los camarones de mayor tamaño (Figura 31). Además, la toxicidad del insecticida afectó los animales más pequeños expuestos en la concentración de 0,400 $\mu\text{g/L}$, con valores reducidos de consumo de oxígeno. En esta relación entre el consumo de oxígeno y el peso de los individuos, los valores bajos obtenidos de r no permitieron una correcta comparación de los grupos (Tabla 30).

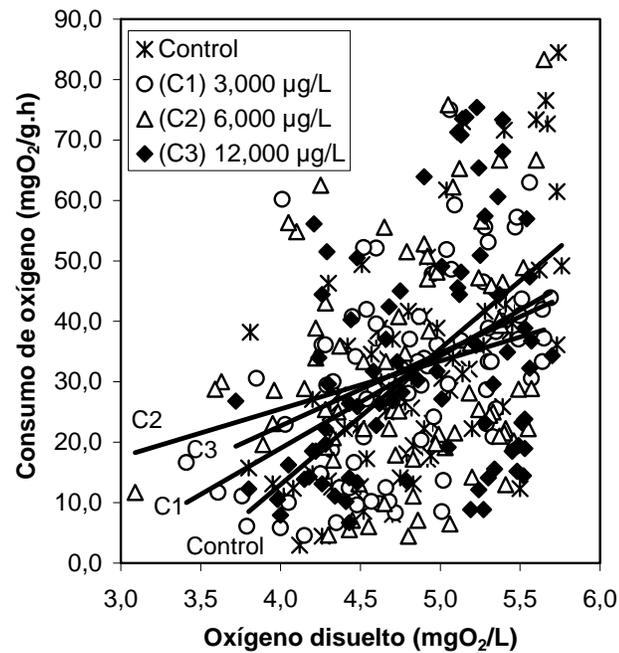


Figura 28. Relación entre el consumo de oxígeno de *P. argentinus* y el oxígeno disponible en control y expuesto a diferentes concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro[®].

Tabla 27. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno de *P. argentinus* y el oxígeno disuelto en control y expuesto a distintas concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro[®] ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* oxígeno disuelto | | | | | |
|--|----------------------------|---------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | -76,896 | 22,473 | 0,62 | 20 | <0,0001 |
| 3,000 µg/L | -41,987 | 15,250* | 0,50 | 20 | <0,0001 |
| 6,000 µg/L | -6,213 | 7,931* | 0,23 | 20 | 0,0349 |
| 12,000 µg/L | -25,535 | 12,055* | 0,32 | 20 | 0,0033 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

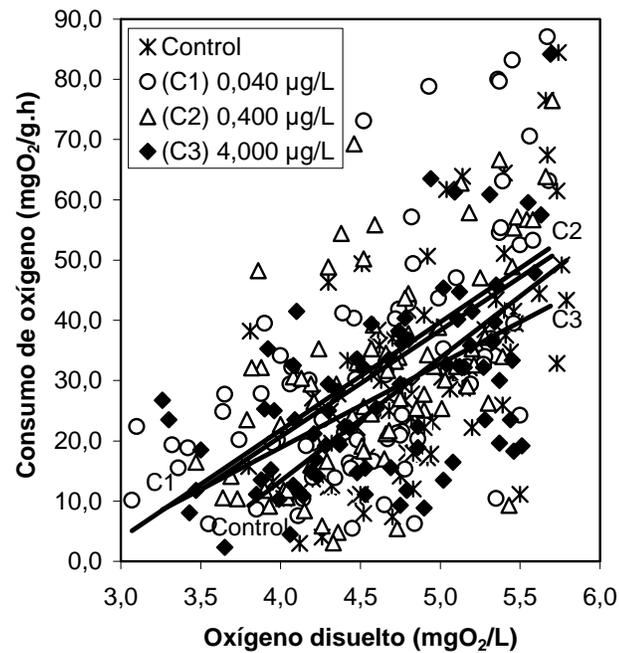


Figura 29. Relación entre el consumo de oxígeno de *P. argentinus* y el oxígeno disponible en control y expuesto a diferentes concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro[®].

Tabla 28. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno de *P. argentinus* y el oxígeno disuelto en control y expuesto a distintas concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro[®] ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* oxígeno disuelto | | | | | |
|--|----------------------------|---------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | -68,398 | 20,436 | 0,61 | 20 | <0,0001 |
| 0,040 µg/L | -49,985 | 17,936* | 0,58 | 20 | <0,0001 |
| 0,400 µg/L | -49,925 | 17,651* | 0,56 | 20 | <0,0001 |
| 4,000 µg/L | -36,740 | 13,908* | 0,55 | 20 | <0,0001 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

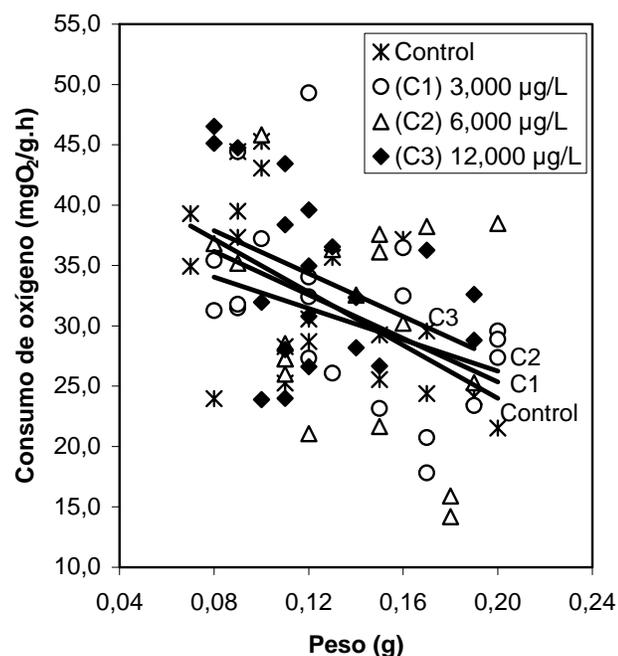


Figura 30. Relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro®.

Tabla 29. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *P. argentinus* en control y expuesto a distintas concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro® ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N : número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* peso | | | | | |
|----------------------------------|----------------------------|----------|------|----|--------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 45,955 | -109,805 | 0,58 | 20 | 0,0069 |
| 3,000 µg/L | 43,377 | -90,133 | 0,50 | 20 | 0,0229 |
| 6,000 µg/L | 39,217 | -64,870 | 0,27 | 20 | 0,2538 |
| 12,000 µg/L | 44,983 | -88,803 | 0,39 | 20 | 0,0867 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

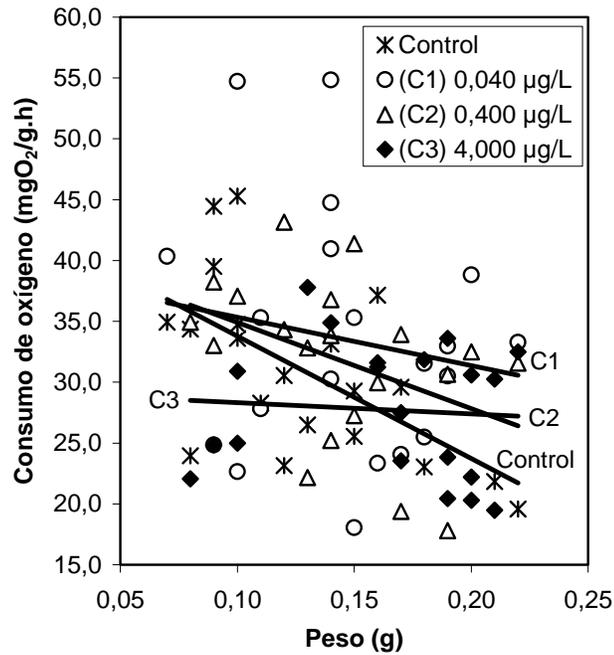


Figura 31. Relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro®.

Tabla 30. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *P. argentinus* en control y expuesto a distintas concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro® ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* peso | | | | | |
|----------------------------------|----------------------------|----------|------|----|--------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 43,848 | -100,591 | 0,59 | 20 | 0,0052 |
| 0,040 µg/L | 39,287 | -39,588 | 0,16 | 20 | 0,5004 |
| 0,400 µg/L | 41,982 | -70,768 | 0,40 | 20 | 0,0746 |
| 4,000 µg/L | 29,265 | -9,406* | 0,07 | 20 | 0,7530 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes, $t_{0,05; 2; 36} = 3,3415$).

A las 24 horas de exposición, el insecticida endosulfán Zebra Ciagro[®] sólo provocó camarones muertos en la concentración de 12,000 µg/L con el 35% de los individuos. En los individuos vivos de esta concentración, fue frecuente el estado de excitación con pérdida de equilibrio, y cambio de coloración del abdomen a blanco. En clorpirifós Terminator Ciagro[®] también ocurrieron muertes. Esto sucedió sólo en la concentración mayor, con el 85% de los ejemplares. Estos camarones permanecieron en el fondo en reposo o con desplazamientos leves, y algunos nadaron cercanos a la superficie de la cámara respirométrica.

En endosulfán, los camarones expuestos a la concentración de 12,000 µg/L tuvieron un consumo de oxígeno y gasto energético significativamente elevado en relación a los otros grupos (KW= 12,20; p= 0,0067) (Tukey, p< 0,05). Los consumos en las restantes soluciones del insecticida no fueron diferentes a los controles (Figura 32A y B).

A diferencia de endosulfán, en los individuos que sobrevivieron en la concentración mayor de clorpirifós registraron consumos inferiores, aunque no diferentes de los restantes grupos analizados (KW= 4,13; p= 0,2468) (p< 0,05) (Figura 33A y B).

Por otra parte, la variación de la excreción de amonio en los camarones expuestos a endosulfán no fue diferente a los del grupo de animales sin tóxico (KW= 0,44; p= 0,9317) (Tukey, p< 0,05) (Figura 34A y B). La relación O:N en endosulfán mostró valores significativamente inferiores a los controles (KW= 36,34; p< 0,0001) (Tukey, p< 0,05).

La exposición a clorpirifós provocó menor excreción de amonio, especialmente en los camarones de la concentración de 4,000 µg/L, aunque sin diferencia significativa con los restantes grupos (KW= 6,99; p= 0,0721) (Tukey, p< 0,05) (Figura 35A y B). Además, la relación O:N definió valores bajos en aquellos individuos expuestos a clorpirifós y diferentes del control (KW= 35,36; p< 0,0001) (Tukey, p< 0,05).

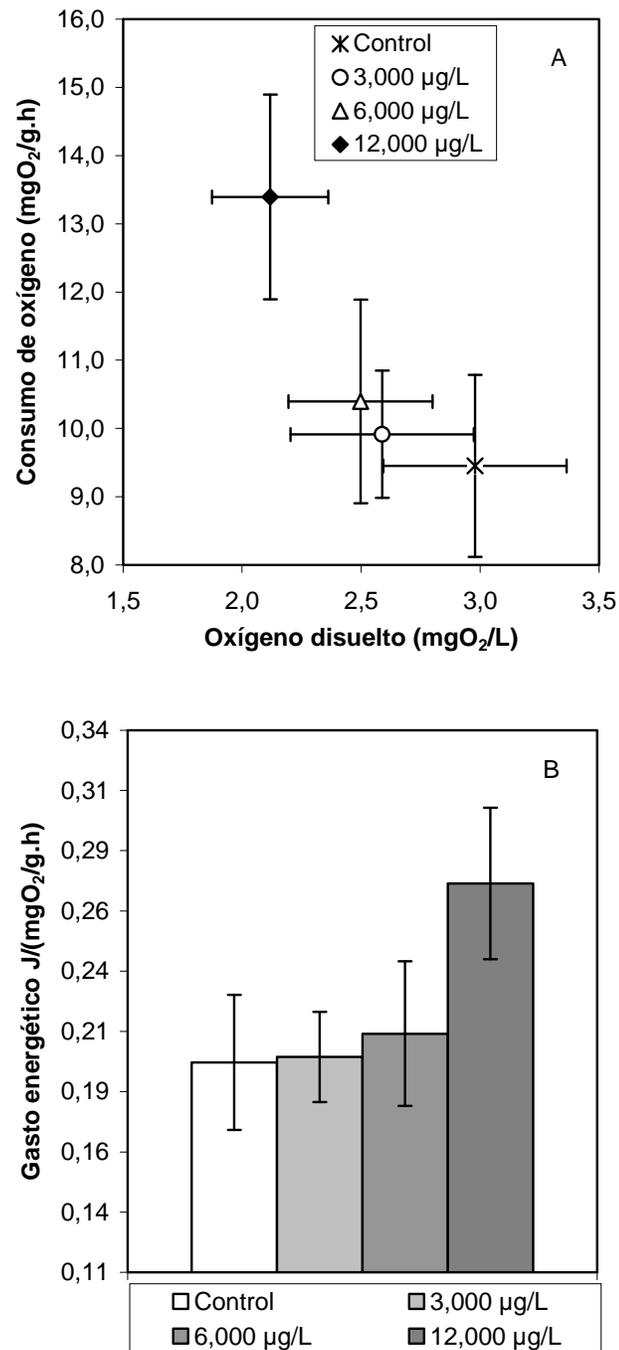


Figura 32. Consumo de oxígeno de *P. argentinus* en relación al oxígeno disuelto (A) y energía expedita (B) en concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro® y control a las 24 hs de ensayo. Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

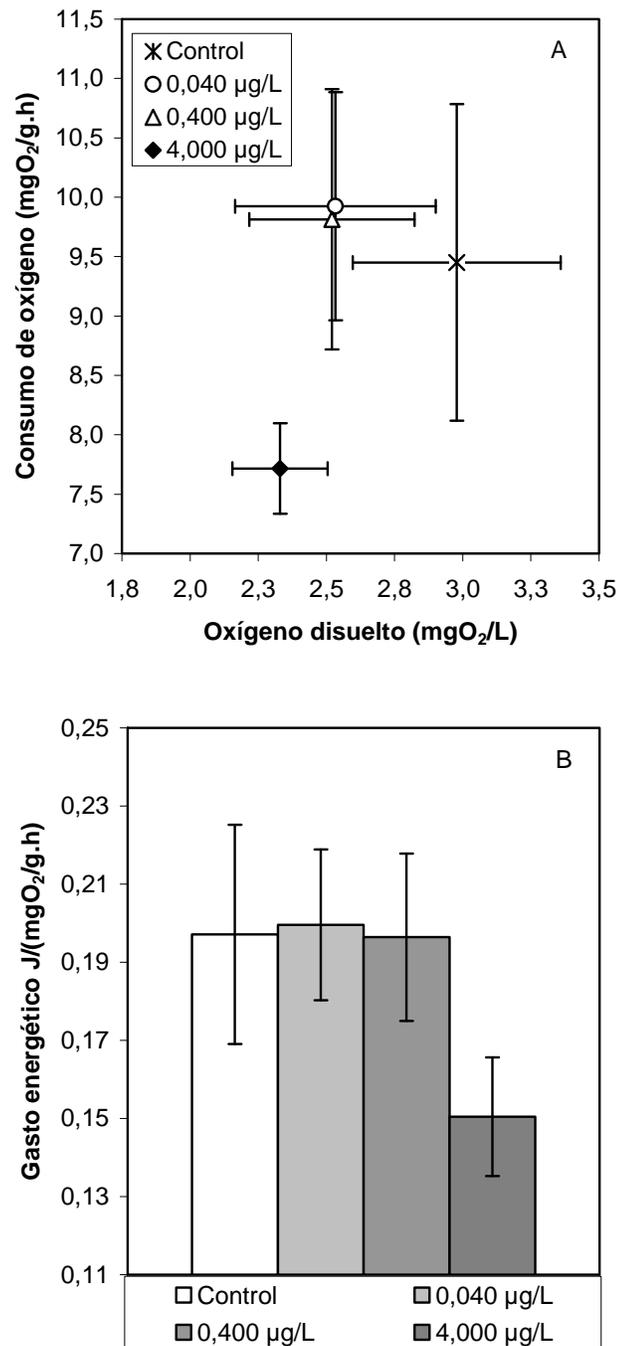


Figura 33. Consumo de oxígeno de *P. argentinus* en relación al oxígeno disuelto (A) y energía expedita (B) en concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro[®] y control a las 24 hs de ensayo. Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

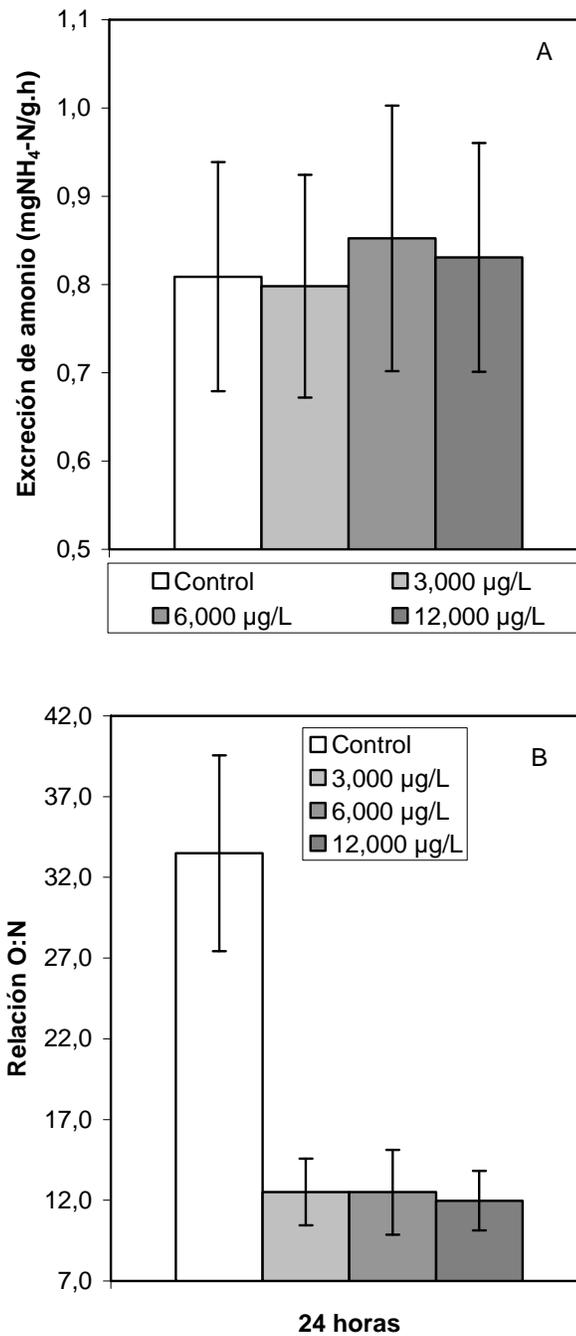


Figura 34. Excreción de amonio (A) y relación O:N (B) de *P. argentinus* en concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro® y control a las 24 hs de ensayo. Barras de valores medios y desvío estándar.

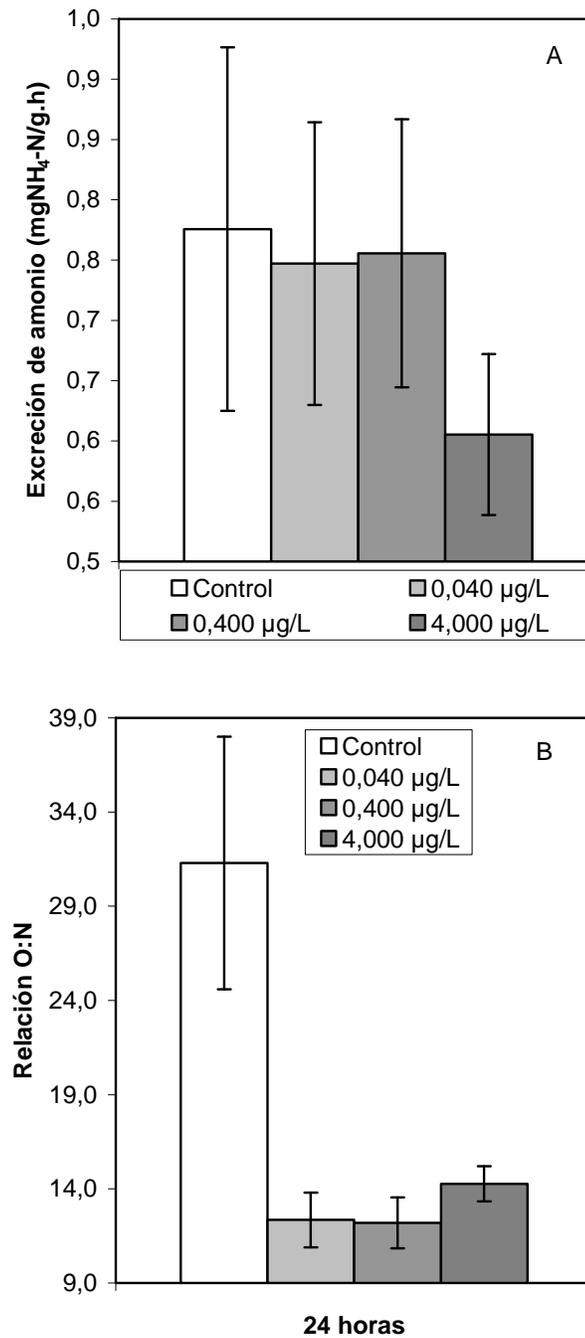


Figura 35. Excreción de amonio (A) y relación O:N (B) de *P. argentinus* en concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro[®] y control a las 24 hs de ensayo. Barras de valores medios y desvío estándar.

5.2.4. Exposición del cangrejo *T. borellianus* a diferentes insecticidas.

Ejemplares de *T. borellianus* con AC medio de $5,78 \pm 0,81$ mm y peso húmedo medio de $0,14 \pm 0,05$ g fueron agrupados aleatoriamente. Estos grupos fueron colocados en control y expuestos a concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro[®] sin diferencias en la comparación de los pesos (KW= 0,59; p= 0,8979). Por otra parte, cangrejos con AC medio de $5,97 \pm 0,92$ mm y peso húmedo medio de $0,16 \pm 0,07$ g fueron ubicados en las soluciones de clorpirifós Terminator Ciagro[®] y el grupo control sin diferencia en los pesos en los grupos (KW= 0,10; p= 0,9907).

Como en las otras experiencias en la primera hora de ensayo ocurrió el mayor consumo de oxígeno y de energía, siendo el más alto el correspondiente a la concentración más baja de endosulfán (625,000 µg/L) aunque sin diferenciarse de los grupos restantes (KW= 2,78; p= 0,4260) (Tukey, p< 0,05). Posteriormente, un aumento del consumo de oxígeno comparado con los ejemplares en el control fue observado en los colocados en la concentración de 2500,000 µg/L, con diferencias en los valores de consumo en la cuarta hora de exposición (KW= 18,14; p= 0,0004) (Tukey, p< 0,05) (Figura 36A y B).

De la misma forma, en las experiencias con clorpirifós Terminator Ciagro[®] ocurrió un alto consumo de oxígeno y energía de los cangrejos en la primera hora sin diferencias con los controles (KW= 7,37; p= 0,0608) (Figura 37A y B). Luego disminuyeron estos valores sin diferenciarse (KW= 2,64; p= 0,4502), hasta la cuarta medición en la cual el consumo fue mayor en las concentraciones más altas (KW= 9,90; p= 0,0194) (Tukey, p< 0,05).

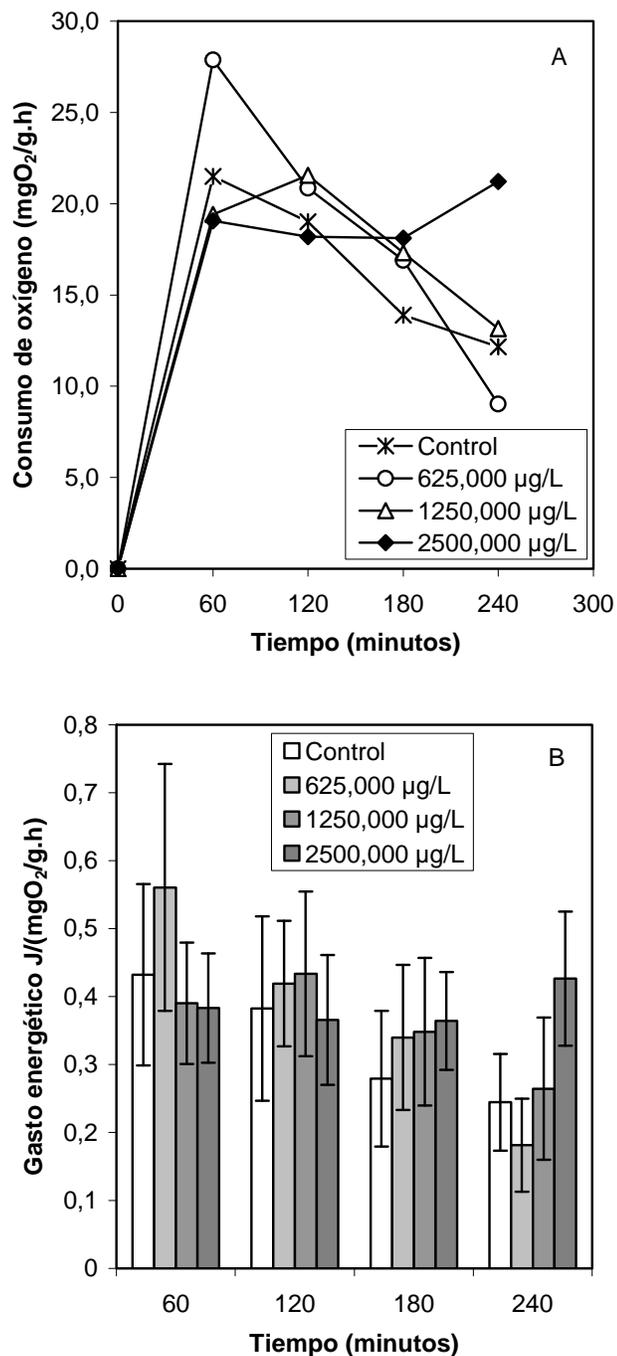


Figura 36. Consumo de oxígeno (A) y gasto de energía (B) de *T. borellianus* en exposición a endosulfán Zebra Ciagro[®] y control en función del tiempo (1-4 horas). Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

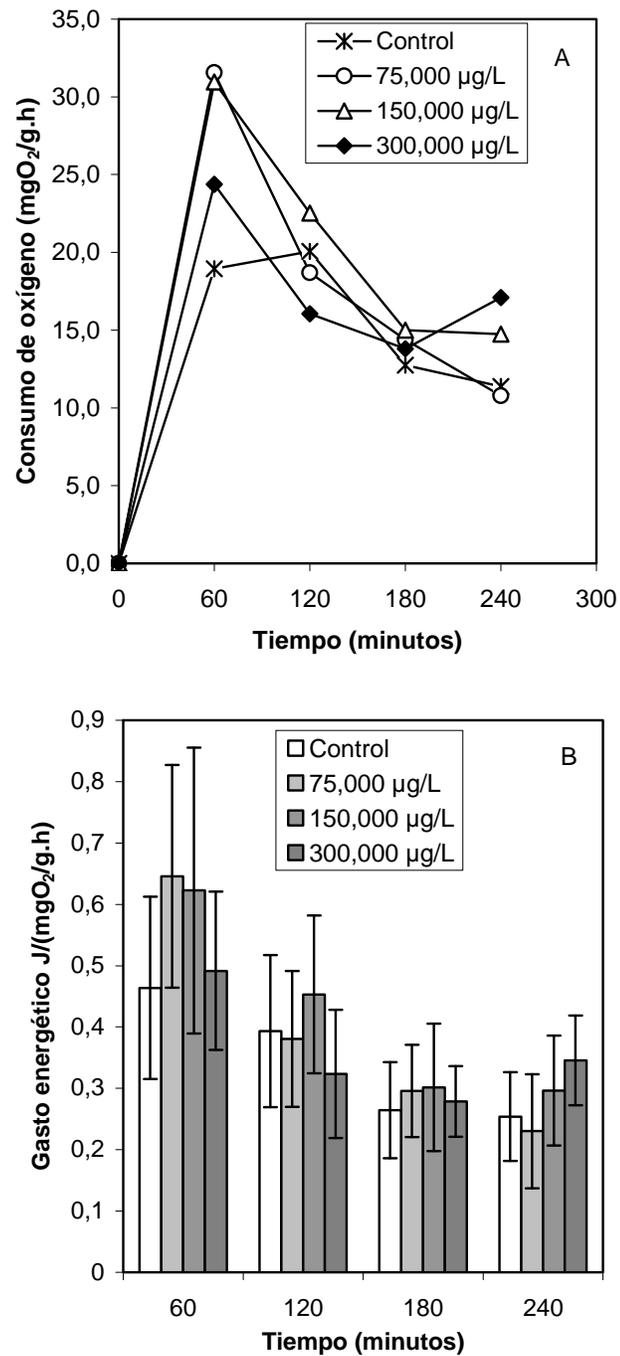


Figura 37. Consumo de oxígeno (A) y gasto de energía (B) de *T. borellianus* en exposición a clorpirifós Terminator Ciagro[®] y control en función del tiempo (1-4 horas). Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

La cantidad de oxígeno disuelto indujo de manera diferente el consumo de este en los cangrejos expuestos a endosulfán (Figura 38). La relación lineal entre el oxígeno consumido y el disponible en las concentraciones del insecticida mostró pendientes diferentes del grupo control (Tabla 31). En esta relación, los valores de la correlación fueron bajos aportando solo una tendencia entre estas variables.

La relación entre el consumo de oxígeno y el disuelto registró un elevado consumo en los tratamientos de clorpirifós, aunque el incremento fue más acentuado en los individuos de las concentraciones inferiores del insecticida durante los niveles mayores de oxígeno (Figura 39). Si bien las pendientes obtenidas en los tratamientos tóxicos fueron diferentes al control, estas indicaron una reducción del consumo en forma proporcional con la disminución de los niveles disponibles (Tabla 32). En este caso también los coeficientes de r fueron medios y bajos lo que indica la variabilidad de los datos obtenidos.

En ambos insecticidas, los valores de consumo de oxígeno variaron en forma inversa al peso de los cangrejos expuestos. El efecto tóxico del endosulfán indujo un incremento en los consumos de los individuos de mayor tamaño, principalmente en la concentración de 2500,000 $\mu\text{g/L}$ donde el valor de la pendiente fue diferente del grupo control (Figura 40). Esta concentración alta del insecticida produjo una mayor variabilidad de los valores de consumo expresado en un coeficiente r bajo (Tabla 33).

Los organismos expuestos a clorpirifós tuvieron mayores consumos de oxígeno que los individuos en control en todo el rango de pesos evaluado (Figura 41). La interacción entre el consumo de oxígeno y el peso no mostró diferencias en las pendientes de las concentraciones del insecticida con el grupo control. La variabilidad individual determinó, a pesar de la tendencia observada e inducida por el biocida, valores bajos de r (Tabla 34).

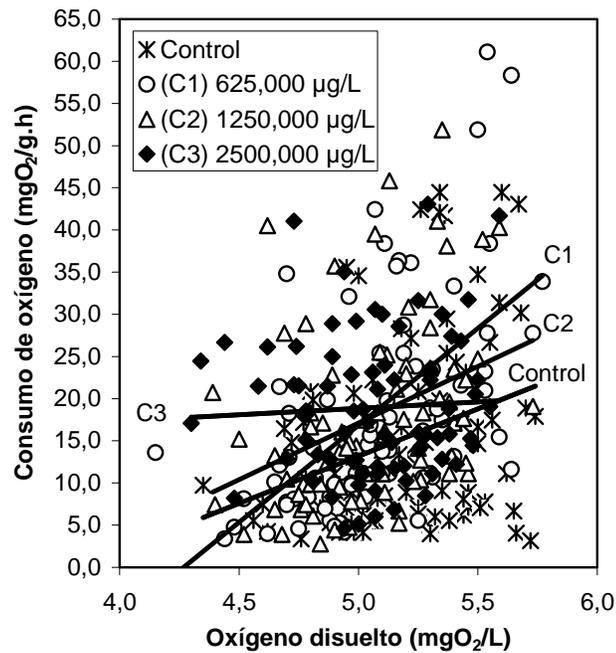


Figura 38. Relación entre el consumo de oxígeno de *T. borellianus* y el oxígeno disponible en control y expuesto a diferentes concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro®.

Tabla 31. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno de *T. borellianus* y el oxígeno disuelto en control y expuesto a distintas concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro® ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* oxígeno disuelto | | | | | |
|--|----------------------------|---------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | -42,911 | 11,220 | 0,31 | 20 | 0,0035 |
| 625,000 µg/L | -98,214 | 23,012* | 0,55 | 20 | <0,0001 |
| 1250,000 µg/L | -50,065 | 13,434* | 0,35 | 20 | 0,0011 |
| 2500,000 µg/L | 11,306 | 1,509* | 0,05 | 20 | 0,6628 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

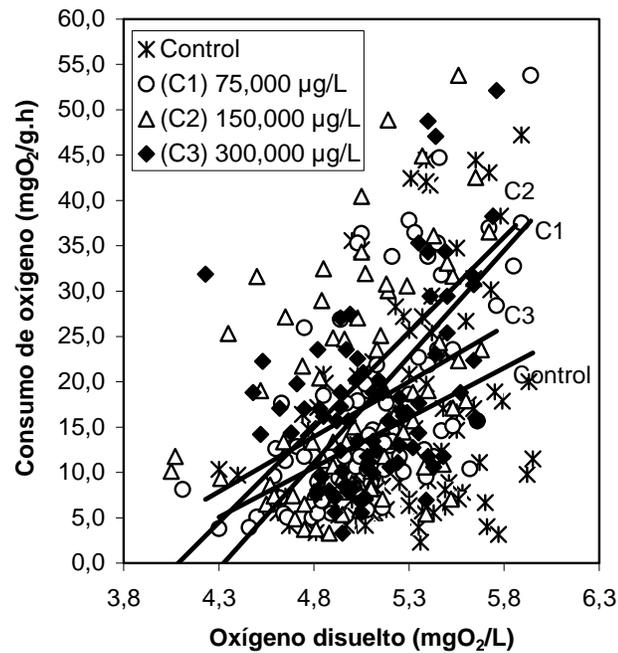


Figura 39. Relación entre el consumo de oxígeno de *T. borellianus* y el oxígeno disponible en control y expuesto a diferentes concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro®.

Tabla 32. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno de *T. borellianus* y el oxígeno disuelto en control y expuesto a distintas concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro® ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* oxígeno disuelto | | | | | |
|--|----------------------------|---------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | -41,551 | 10,972 | 0,33 | 20 | 0,0007 |
| 75,000 µg/L | -99,851 | 23,358* | 0,62 | 20 | <0,0001 |
| 150,000 µg/L | -84,751 | 20,998* | 0,50 | 20 | <0,0001 |
| 300,000 µg/L | -43,618 | 12,118* | 0,37 | 20 | 0,0006 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

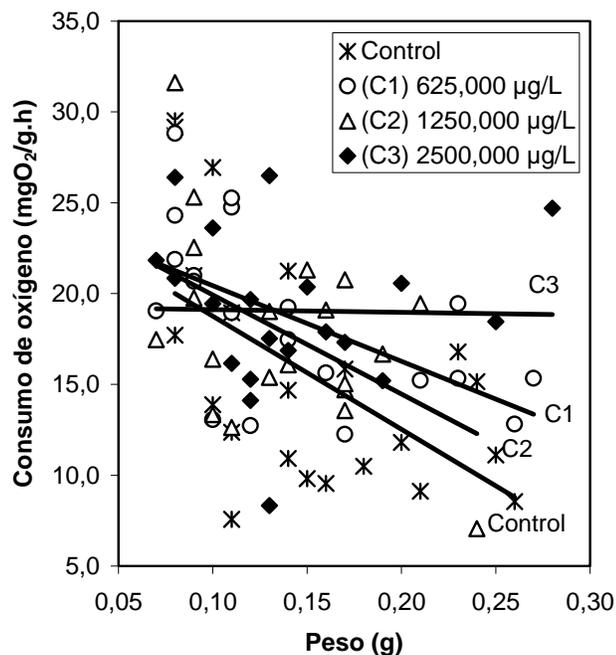


Figura 40. Relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro®.

Tabla 33. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *T. borellianus* en control y expuesto a distintas concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro® ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* peso | | | | | |
|----------------------------------|----------------------------|---------|------|----|--------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 24,983 | -62,304 | 0,55 | 20 | 0,0071 |
| 625,000 µg/L | 24,591 | -41,633 | 0,56 | 20 | 0,0089 |
| 1250,000 µg/L | 25,390 | -54,608 | 0,49 | 20 | 0,0267 |
| 2500,000 µg/L | 19,258 | -1,459* | 0,01 | 20 | 0,9393 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes, $t_{0,05; 2; 36} = 3,0557$).

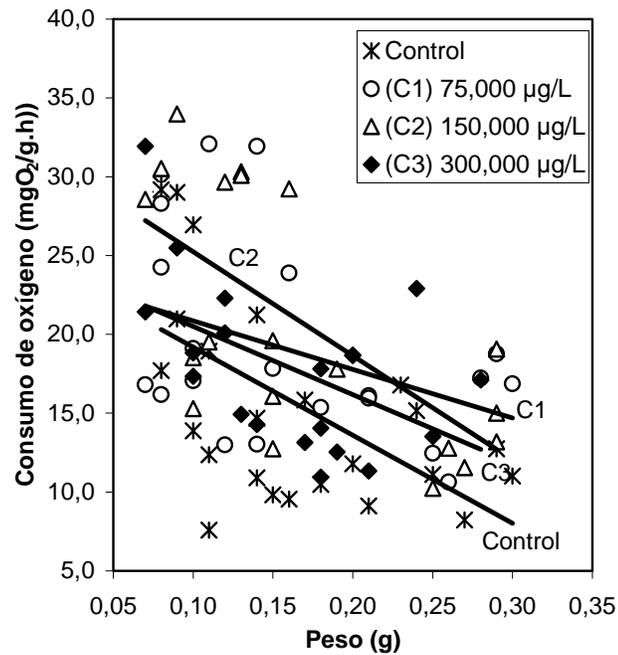


Figura 41. Relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro®.

Tabla 34. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *T. borellianus* en control y expuesto a distintas concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro® ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* peso | | | | | |
|----------------------------------|----------------------------|---------|------|----|--------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 24,765 | -55,847 | 0,57 | 20 | 0,0028 |
| 75,000 µg/L | 23,948 | -30,839 | 0,38 | 20 | 0,0913 |
| 150,000 µg/L | 31,841 | -65,994 | 0,65 | 20 | 0,0017 |
| 300,000 µg/L | 24,844 | -43,314 | 0,50 | 20 | 0,0241 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

A las 24 horas, la toxicidad del insecticida endosulfán Zebra Ciagro[®] provocó el 5% de muertes en la concentración de 625,000 µg/L, mientras que el 20% en 1250,000 µg/L, y el 75% en 2500,000 µg/L. Por otra parte, en clorpirifós Terminator Ciagro[®] ocurrió una elevada mortalidad de los organismos con valores del 15% en la concentración de 75,000 µg/L, del 85% en la solución de 150,000 µg/L y el total de los cangrejo en la concentración mayor.

Los cangrejos vivos a las 24 hs expuestos a los insecticidas, exhibieron un estado agonizante, otros mostraron movimientos incoordinados y tambaleantes, quedando en posición dorsoventral y con autotomía de apéndices.

En la medición tomada al final del ensayo los valores de consumo de oxígeno y de gasto energético fueron significativamente elevados en las concentraciones mayores de endosulfán en relación al grupo control (KW= 16,51; p= 0,0008) (Tukey, p< 0,05) (Figura 42A y B).

Mientras que en los cangrejos expuestos a clorpirifós los valores de consumo de oxígeno y energía no fueron diferentes estadísticamente de los animales controles (KW= 1,22; p= 0,7458) (Figura 43A y B).

Por otra parte, la excreción de amonio disminuyó con el aumento en la concentración de endosulfán, a excepción de los cangrejos expuestos a la concentración mayor del biocida donde la excreción fue elevada y diferente de la registrada en la solución de 1250,000 µg/L (ANOVA, F_{0,05; 2; 61}: 3,00; p= 0,0379) (Tukey, p< 0,05) (Figura 44A). Los valores de la relación O:N fueron altos en las concentraciones menores de endosulfán, mientras que en la concentración más elevada disminuyó con relación al grupo control (KW= 8,11; p= 0,0436) (Tukey, p< 0,05) (Tabla 44B).

Los cangrejos de las concentraciones mayores de clorpirifós incrementaron significativamente la excreción de amonio, mientras que la excreción de aquellos expuestos en la solución menor fue similar a la del grupo control (Figura 45A) (KW= 24,03; p< 0,0001) (Tukey, p< 0,05). Por otra parte, en clorpirifós los valores de la relación O:N fueron muy inferiores de los controles (KW= 22,75; p< 0,0001) (Tukey, p< 0,05) (Figura 45B).

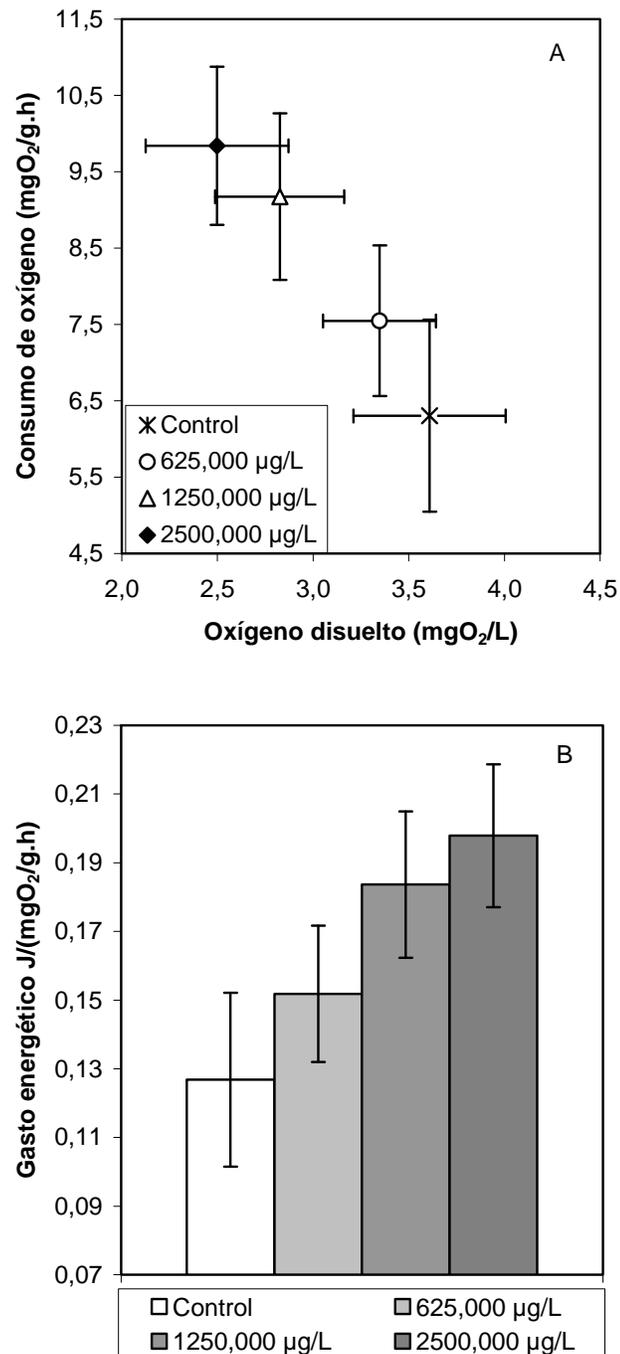


Figura 42. Consumo de oxígeno de *T. borellianus* en relación al oxígeno disuelto (A) y energía expedita (B) en concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro® y control a las 24 hs de ensayo. Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

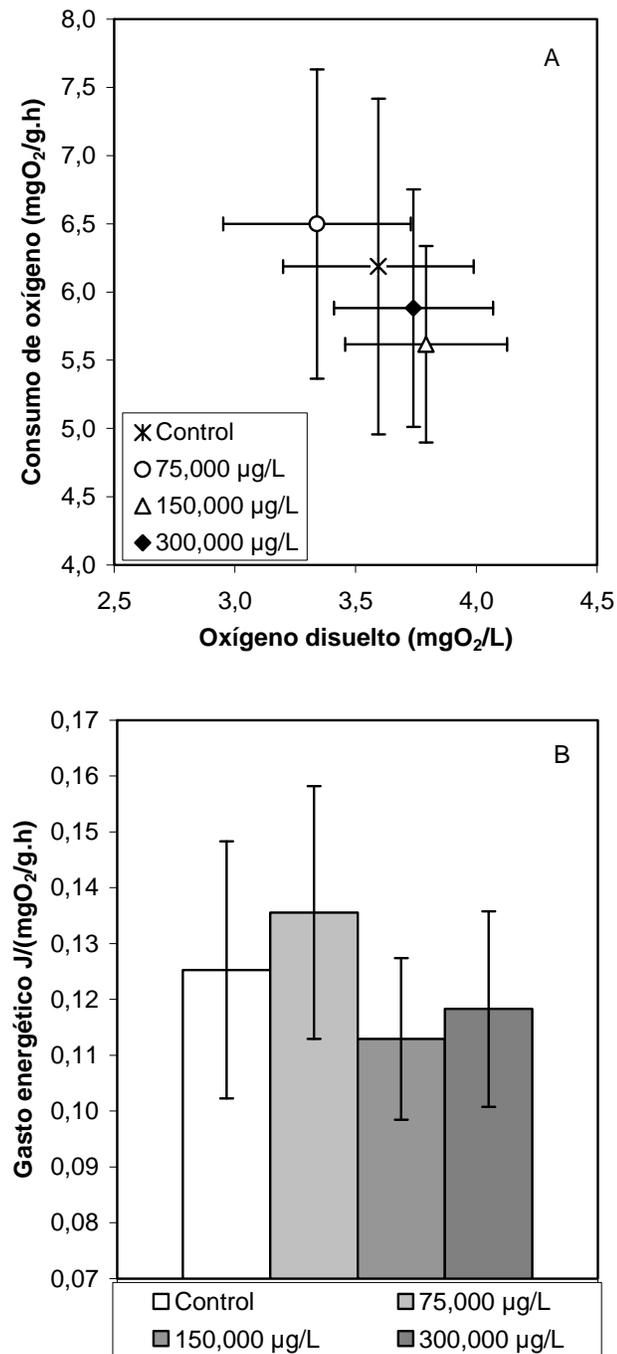


Figura 43. Consumo de oxígeno de *T. borellianus* en relación al oxígeno disuelto (A) y energía expedita (B) en concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro[®] y control a las 24 hs de ensayo. Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

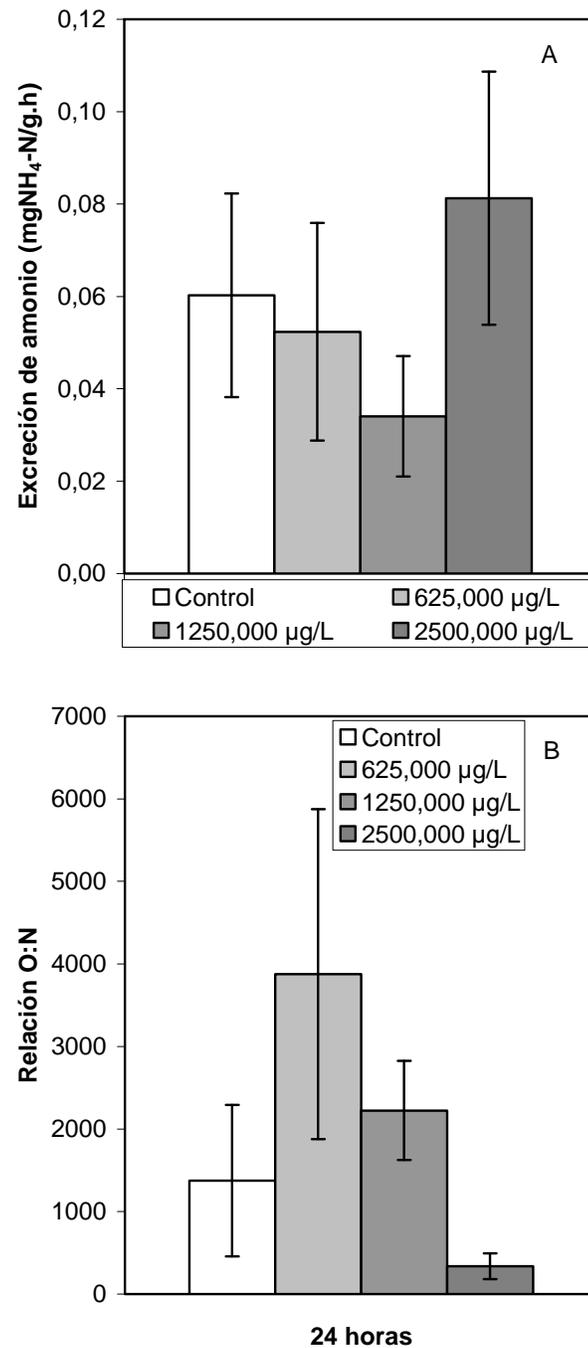


Figura 44. Excreción de amonio (A) y relación O:N (B) de *T. borellianus* en concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro® y control a las 24 hs de ensayo. Barras de valores medios y desvío estándar.

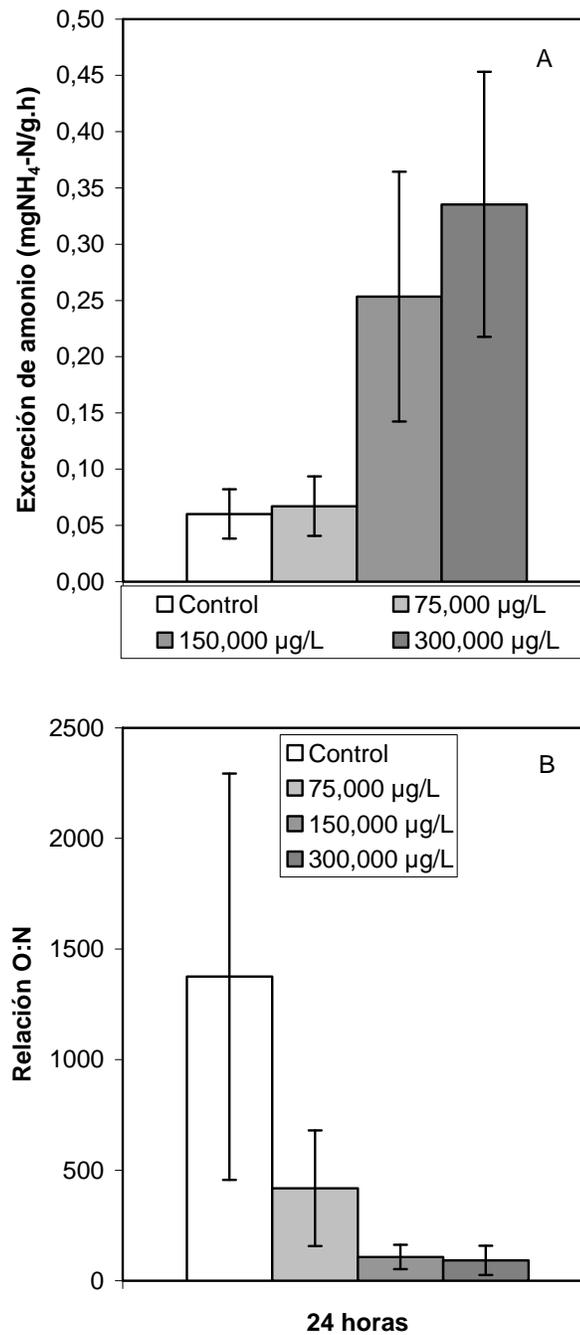


Figura 45. Excreción de amonio (A) y relación O:N (B) de *T. borellianus* en concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro[®] y control a las 24 hs de ensayo. Barras de valores medios y desvío estándar.

5.2.5. Exposición del camarón *P. argentinus* a diferentes fungicidas.

Ejemplares de *P. argentinus* con LC medio de $7,62 \pm 1,27$ mm y peso húmedo medio de $0,07 \pm 0,03$ g fueron agrupados y expuestos en diferentes concentraciones del fungicida carbendazim Flow Thin 50[®]. Los pesos de los ejemplares de cada grupo no tuvieron diferencias significativas (KW= 6,21; p= 0,1014). En los ensayos con carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] los camarones fueron de LC medio de $7,99 \pm 1,46$ mm y $0,09 \pm 0,05$ g de peso húmedo medio. Estos fueron distribuidos aleatoriamente en las concentraciones tóxicas y grupo control sin diferencias estadísticas entre los pesos (KW= 3,16; p= 0,3675).

En la primera hora los camarones consumieron más oxígeno y energía, sin embargo aquellos expuestos a carbendazim Flow Thin 50[®] tuvieron un consumo más alto con valores estadísticamente diferentes del control (KW= 11,08; p= 0,0112) (Figura 46A y B). En la siguiente medición, estos parámetros metabólicos decrecieron sin variaciones entre los grupos (KW= 2,44; p= 0,4849). A la cuarta hora de ensayo, los valores de consumo de oxígeno y energía de aquellos expuestos a la concentración de 6,000 g/L de carbendazim fueron inferiores en comparación con el grupo control (KW= 9,52; p= 0,0230).

Simultáneamente, los camarones expuestos a carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] tuvieron valores altos de consumo de oxígeno en el inicio de la experiencia y decrecieron posteriormente siendo menores al observado en el control (Figura 47A y B). Sólo en la concentración menor del producto estos valores permanecieron más elevados y fueron diferentes del grupo control en la tercera y cuarta hora (4^o hora: KW= 10,24; p= 0,0166) (Tukey, p< 0,05).

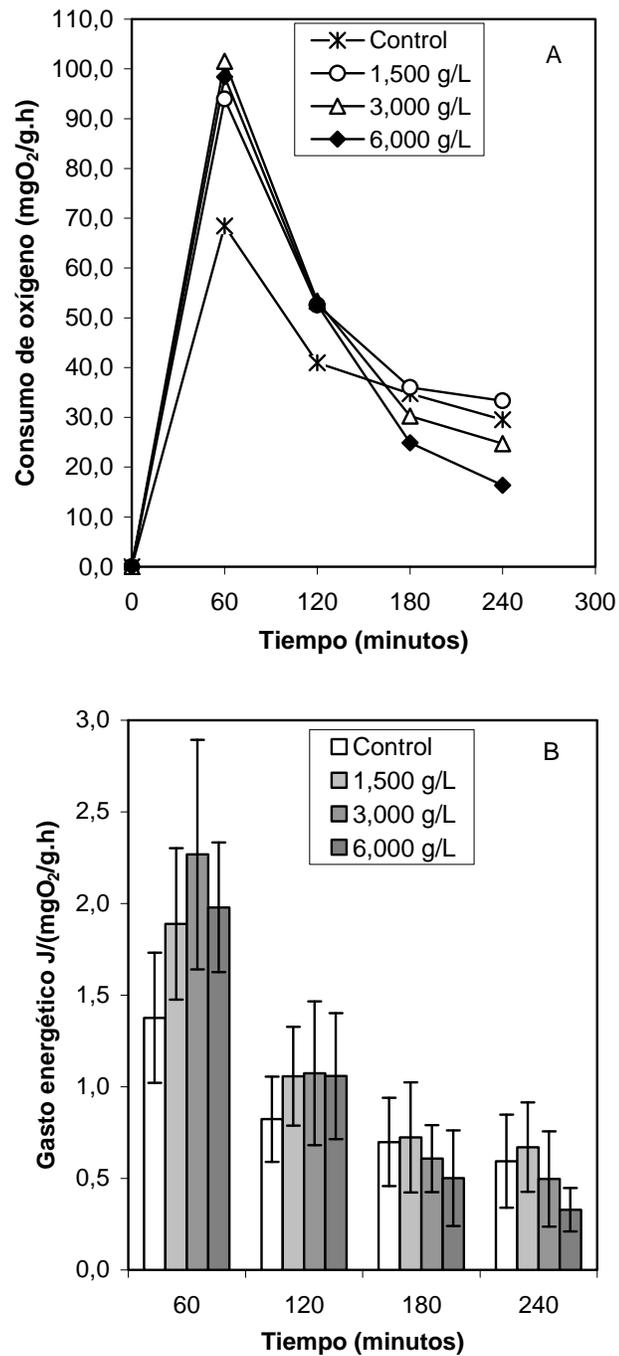


Figura 46. Consumo de oxígeno (A) y gasto de energía (B) de *P. argentinus* en exposición a carbendazim Flow Thin 50[®] y control en función del tiempo (1-4 horas). Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

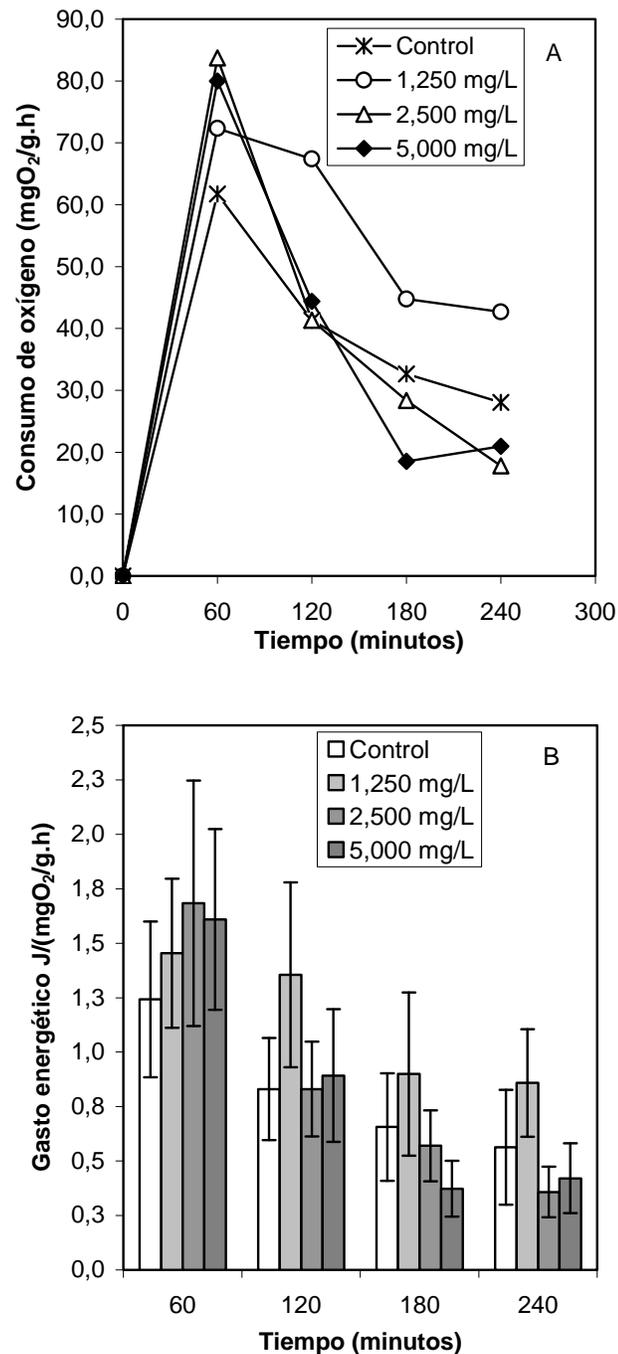


Figura 47. Consumo de oxígeno (A) y gasto de energía (B) de *P. argentinus* en exposición a carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] y control en función del tiempo (1-4 horas). Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

Los camarones registraron consumos elevados durante el momento de mayor disponibilidad del recurso en el medio de ensayo (Figura 48). No obstante la gran dispersión de los datos en esos niveles altos de OD los valores de coeficientes r fueron mayores que los obtenidos en los anteriores ensayos. Además, en las concentraciones de carbendazim la relación entre el consumo de oxígeno y el oxígeno disuelto mostró pendientes diferentes del grupo control (Tabla 35).

Igual que en el caso anterior, los consumos de los camarones fueron elevados en niveles altos de oxígeno disponible (Figura 49). Luego estos disminuyeron rápidamente, especialmente en las concentraciones mayores de carbendazim-tiram, con valores de pendiente diferentes de los controles (Tabla 36).

Por otra parte, el oxígeno consumido por los camarones de *P. argentinus* fue inverso al tamaño de los mismos. Además, esta relación mostró pendientes similares entre los ejemplares expuestos a diferentes concentraciones de carbendazim Flow Thin 50[®] y controles (Figura 50) (Tabla 37). La menor variación de los valores de consumo de oxígeno mostraron coeficientes r más elevados.

De la misma manera ocurrió al exponer los ejemplares a carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®], siendo las pendientes entre el consumo de oxígeno y oxígeno disuelto similares entre todos los grupos (Figura 51) (Tabla 38). En esta relación, los valores altos de coeficiente r permiten realizar una mejor comparación de los grupos evaluados.

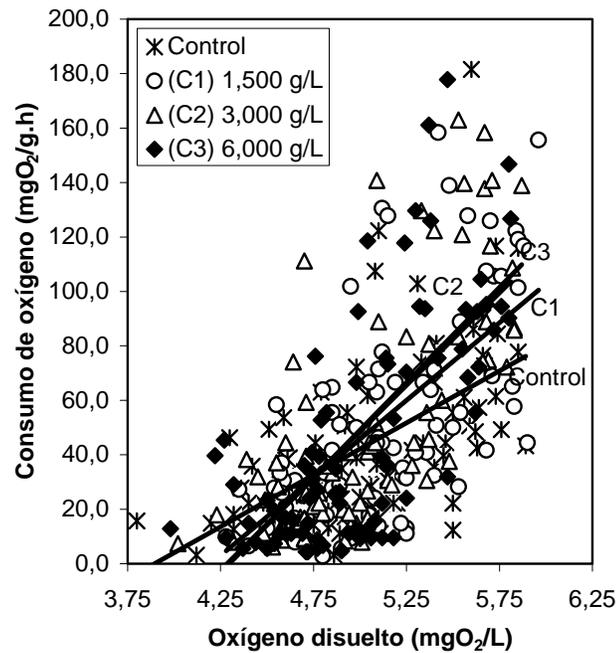


Figura 48. Relación entre el consumo de oxígeno de *P. argentinus* y el oxígeno disponible en control y expuesto a diferentes concentraciones de carbendazim Flow Thin 50[®].

Tabla 35. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno de *T. borellianus* y el oxígeno disuelto en control y expuesto a distintas concentraciones de carbendazim Flow Thin 50[®] ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* oxígeno disuelto | | | | | |
|--|----------------------------|---------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | -148,774 | 38,202 | 0,57 | 20 | <0,0001 |
| 1,500 g/L | -230,297 | 57,020* | 0,62 | 20 | <0,0001 |
| 3,000 g/L | -299,741 | 69,779* | 0,71 | 20 | <0,0001 |
| 6,000 g/L | -290,898 | 67,888* | 0,68 | 20 | <0,0001 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

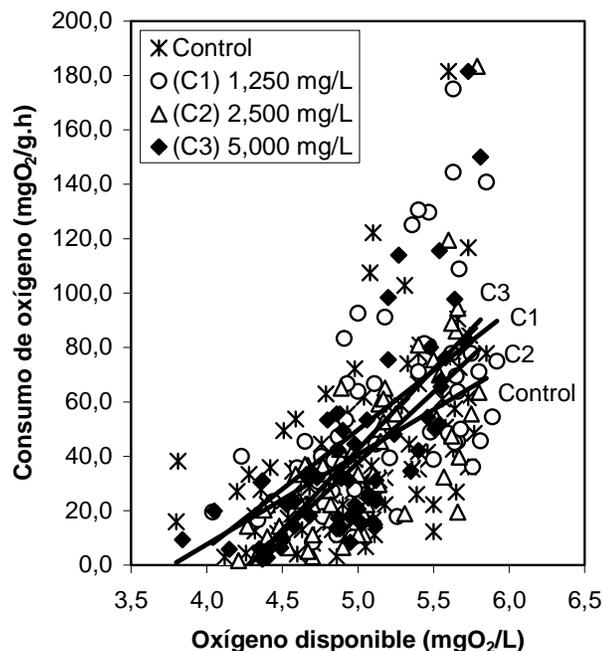


Figura 49. Relación entre el consumo de oxígeno de *P. argentinus* y el oxígeno disponible en control y expuesto a diferentes concentraciones de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®].

Tabla 36. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno de *T. borellianus* y el oxígeno disuelto en control y expuesto a distintas concentraciones de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* oxígeno disuelto | | | | | |
|--|----------------------------|---------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | -124,648 | 33,055 | 0,52 | 20 | <0,0001 |
| 1,250 mg/L | -167,871 | 43,514* | 0,55 | 20 | <0,0001 |
| 2,500 mg/L | -221,134 | 51,779* | 0,68 | 20 | <0,0001 |
| 5,000 mg/L | -252,279 | 58,950* | 0,71 | 20 | <0,0001 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

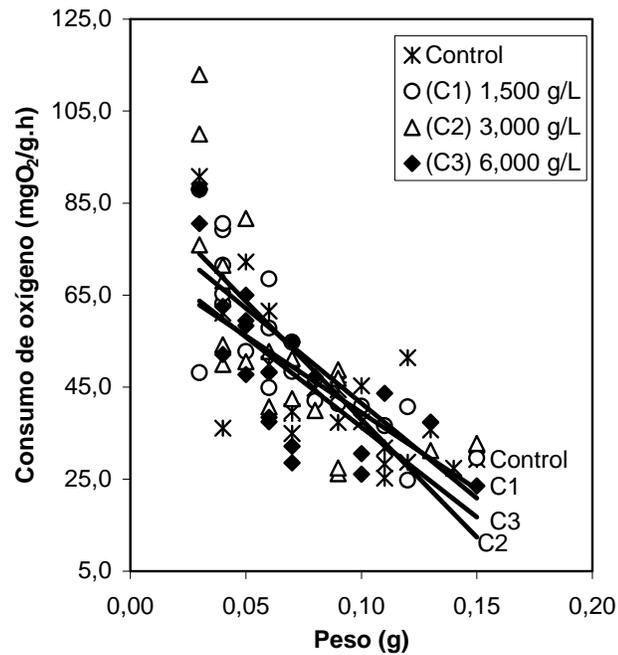


Figura 50. Relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de carbendazim Flow Thin 50[®].

Tabla 37. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *P. argentinus* en control y expuesto a distintas concentraciones de carbendazim Flow Thin 50[®] ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N : número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* peso | | | | | |
|----------------------------------|----------------------------|----------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 72,823 | -333,244 | 0,69 | 20 | 0,0002 |
| 1,500 g/L | 82,878 | -413,239 | 0,82 | 20 | <0,0001 |
| 3,000 g/L | 89,378 | -512,975 | 0,72 | 20 | 0,0003 |
| 6,000 g/L | 75,485 | -391,437 | 0,73 | 20 | 0,0002 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

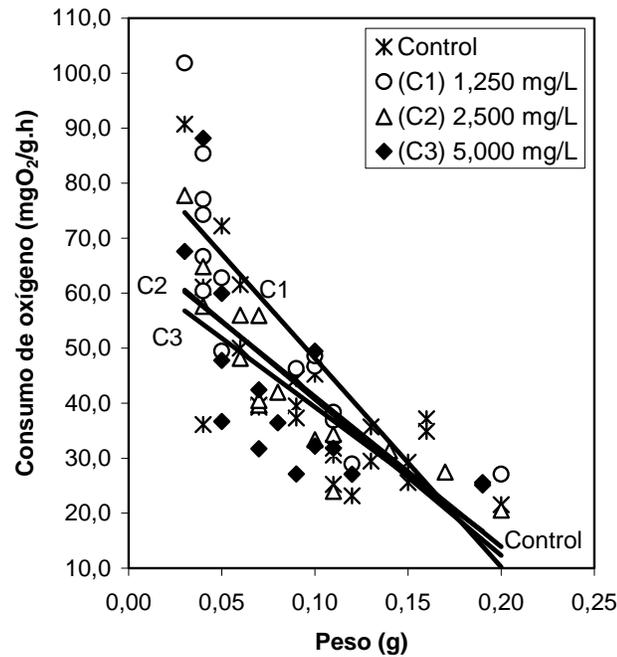


Figura 51. Relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®].

Tabla 38. Valores de regresión y significancia de la relación entre el consumo de oxígeno y el peso de *P. argentinus* en control y expuesto a distintas concentraciones de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| Consumo de oxígeno = a + b* peso | | | | | |
|----------------------------------|----------------------------|----------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 68,429 | -272,512 | 0,73 | 20 | 0,0001 |
| 1,250 mg/L | 86,039 | -379,127 | 0,83 | 20 | 0,0001 |
| 2,500 mg/L | 69,102 | -283,692 | 0,85 | 20 | <0,0001 |
| 5,000 mg/L | 64,317 | -250,307 | 0,67 | 20 | 0,0056 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

A las 24 horas, el fungicida carbendazim Flow Thin 50[®] provocó la muerte del 3% de los camarones expuestos a 3,000 g/L y el 15% en la concentración de 1,500 g/L. Mientras que aquellos colocados en carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®], la mortalidad fue del 6,6% en los expuestos a 1,250 mg/L, y del 33,33% en las concentraciones de 2,500 y 5,000 mg/L.

En los tratamientos con carbendazim los valores de consumo de oxígeno y energía en los ejemplares colocados en las concentraciones superiores fueron significativamente elevados en relación a los otros grupos (KW= 51,95; $p < 0,0001$) (Tukey, $p < 0,05$) (Figura 52A y B).

Mientras que el consumo de oxígeno y energía realizado por los camarones expuestos a las soluciones de carbendazim-tiram fueron mayores a los controles, ocurriendo diferencias significativas en los tratamientos (ANOVA, $F_{0,05, 2, 56} = 3,46$; $p = 0,0227$) (Figura 53A y B).

La excreción de amonio de los camarones colocados en las cámaras de cultivo con soluciones de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] fueron menores del grupo control (Figura 54A y B). Esta variación en la excreción determinó diferencias estadísticas en las concentraciones mayores del biocida (KW= 18,35; $p = 0,0003$) (Tukey, $p < 0,05$). Además, en las concentraciones de carbendazim-tiram los valores en la relación O:N fueron significativamente mayores al de los controles (KW= 33,27; $p < 0,0001$) (Tukey, $p < 0,05$).

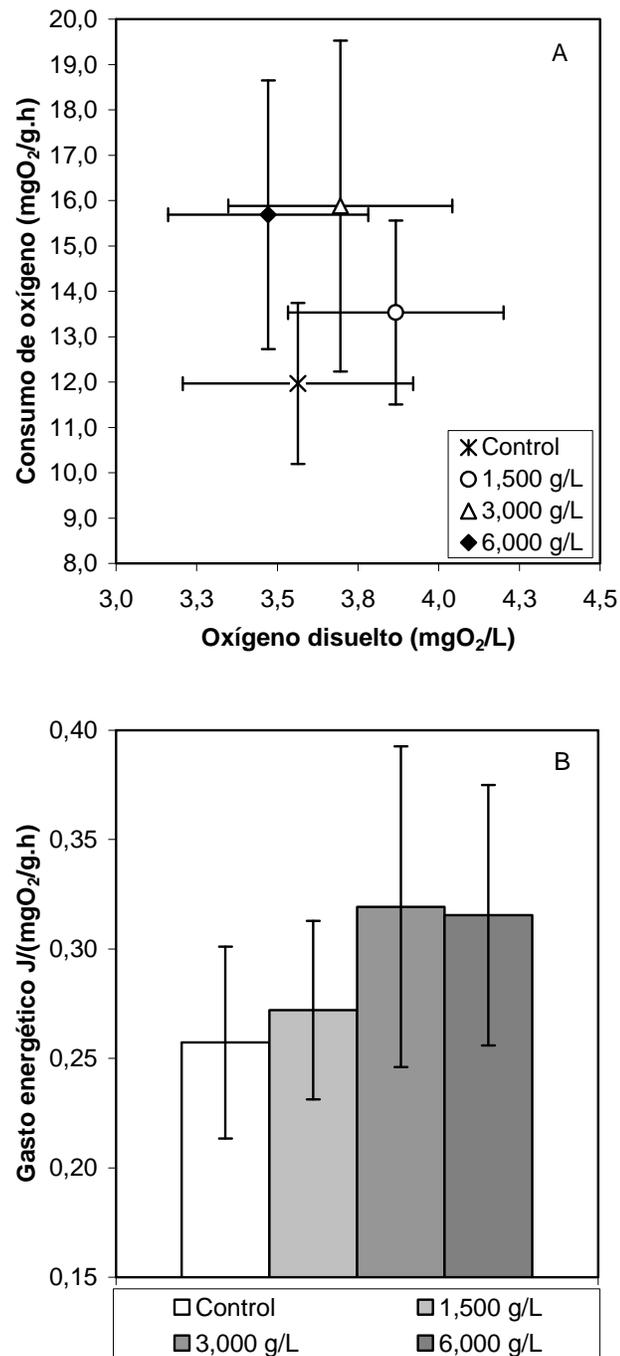


Figura 52. Consumo de oxígeno de *P. argentinus* en relación al oxígeno disuelto (A) y energía expedita (B) en concentraciones de carbendazim Flow Thin 50[®] y control a las 24 hs de ensayo. Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

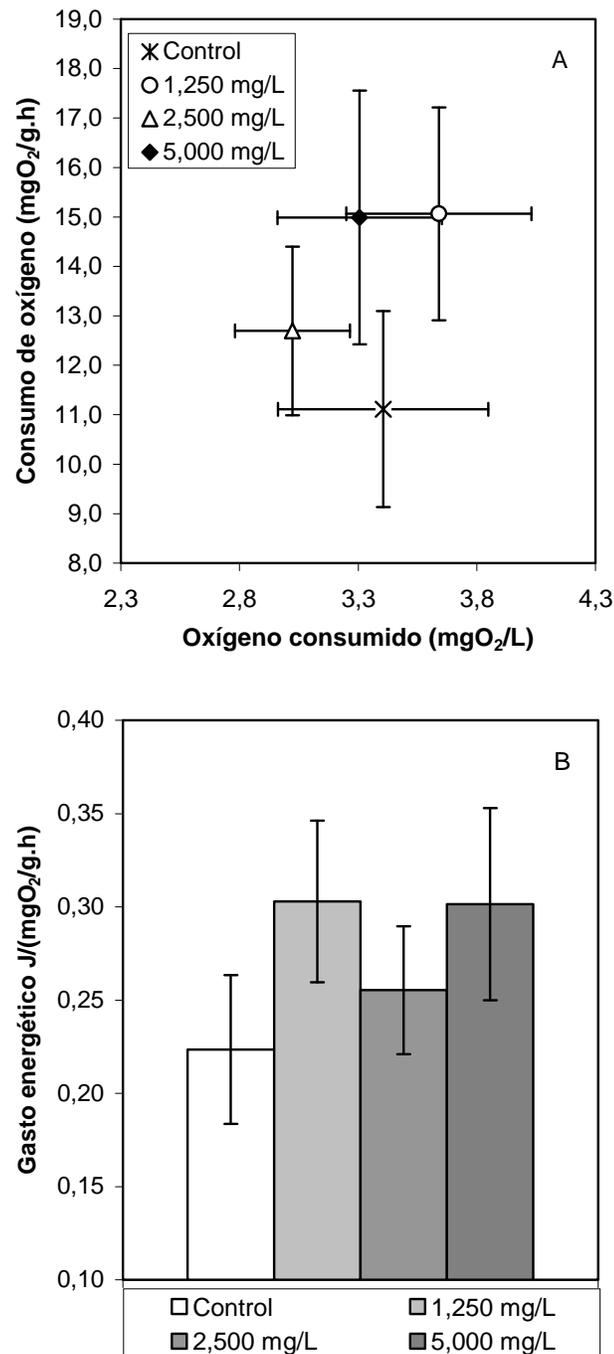


Figura 53. Consumo de oxígeno de *P. argentinus* en relación al oxígeno disuelto (A) y energía expedita (B) en concentraciones de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] y control a las 24 hs de ensayo. Valores medios representados con puntos y barras, y desvío estándar.

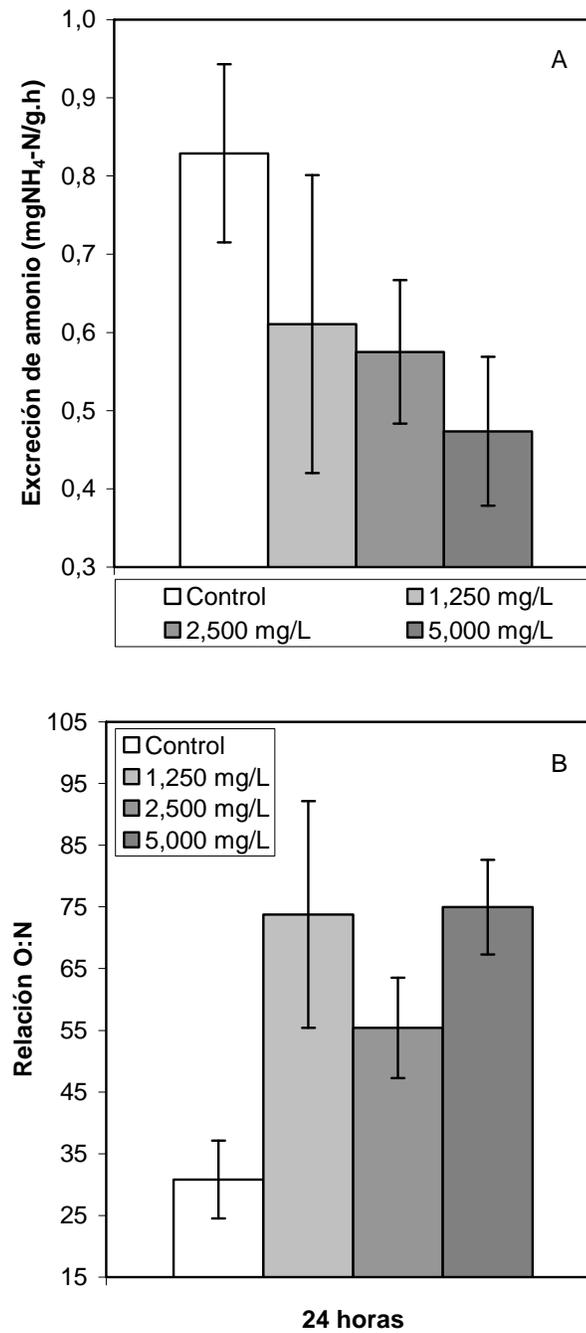


Figura 54. Excreción de amonio (A) y relación O:N (B) de *P. argentinus* en concentraciones de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] y control a las 24 hs de ensayo. Barras de valores medios y desvío estándar.

5.3. Ensayos de toxicidad crónica: crecimiento individual

La exposición crónica del camarón y el cangrejo a los agroquímicos permitió el estudio de efectos provocados en el tiempo. El crecimiento es uno de los elementos a tener en cuenta y sobre el cual se presta especial atención.

5.3.1. Exposición del camarón *P. argentinus* a diferentes herbicidas.

Los ejemplares del camarón *P. argentinus* de LC medio de $6,15 \pm 1,16$ mm fueron agrupados aleatoriamente y colocados en concentraciones de glifosato Roundup® y control. La comparación de los LC no mostró diferencias significativas entre los grupos (KW= 3,28; $p= 0,3493$). En los ensayos con éster butílico del ácido 2,4-D Herbifen Super® camarones de LC medio de $6,45 \pm 0,88$ mm, fueron colocados en los tratamientos con y sin tóxico, sin diferencias en la comparación de los LC (KW= 6,51; $p= 0,0890$).

La toxicidad de las concentraciones de glifosato Roundup® provocó el 30% de muertes de los camarones antes de la primera muda, mientras que entre el 60% y 70% después de esta y entre el 80% y 90% luego de la segunda muda. En 2,4-D la mortalidad fue menor al 5%, y se observó después de la primera muda. Por esta razón, el estudio del crecimiento de *P. argentinus* pudo cumplimentar dos ciclos de muda en el ensayo con glifosato y tres ciclos en 2,4-D.

En el camarón, el largo de cefalotórax de postmuda (LC_{t+1}) incrementó en forma linealmente proporcional al largo de cefalotórax de premuda (LC_t). La relación de estos valores presentó pendientes diferentes entre los camarones expuestos en los tratamientos de glifosato Roundup® y los del grupo control (Figura 55). Estos valores de b obtenidos indicaron un crecimiento alométrico negativo en los individuos mantenidos en el herbicida, mientras que isométrico en los animales controles (Tabla 39). En los tratamientos de 2,4-D Herbifen Super® si bien las pendientes determinaron diferencias en relación al grupo sin tóxico los valores de b hallados mostraron un crecimiento isométrico de los ejemplares expuestos (Figura 56) (Tabla 40).

El período de intermuda de los camarones expuestos en las concentraciones de glifosato Roundup® no fue diferente del registrado en los animales controles (KW= 0,90; $p= 0,8234$) (Figura 57A). Sin embargo, la duración de la intermuda disminuyó en los individuos de los tratamientos de 2,4-D Herbifen Super® con una mayor reducción en aquellos expuestos en la concentración menor (KW= 9,62; $p= 0,0220$) (Tukey, $p < 0,05$) (Figura 57B).

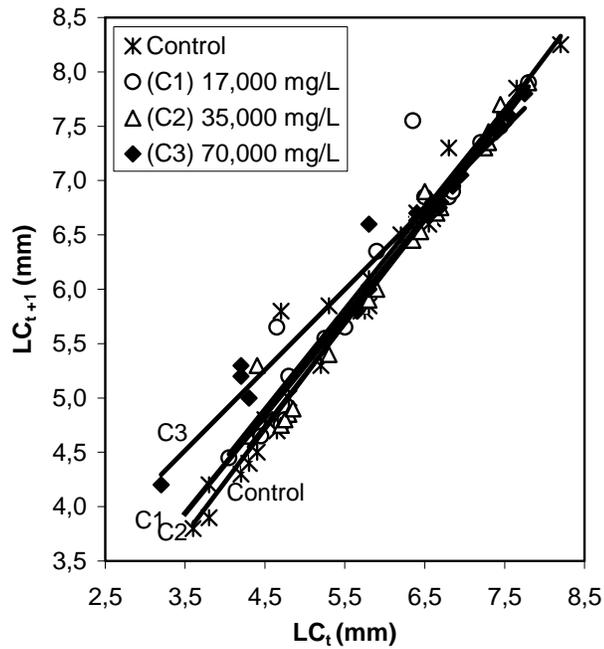


Figura 55. Relación entre LC_{t+1} (posmuda) y LC_t (premuda) de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de glifosato Roundup®.

Tabla 39. Valores de regresión y de significancia de la relación entre LC_{t+1} (posmuda) y LC_t (premuda) de *P. argentinus* en control y expuesto a distintas concentraciones de glifosato Roundup® ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| LC_{t+1} (postmuda) = $a + b * LC_t$ (premuda) | | | | | |
|---|----------------------------|--------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 0,322 | 0,976 | 0,98 | 20 | <0,0001 |
| 17,000 mg/L | 0,763 | 0,918* | 0,96 | 20 | <0,0001 |
| 35,000 mg/L | 0,480 | 0,946* | 0,98 | 20 | <0,0001 |
| 70,000 mg/L | 1,925 | 0,740* | 0,98 | 20 | <0,0001 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

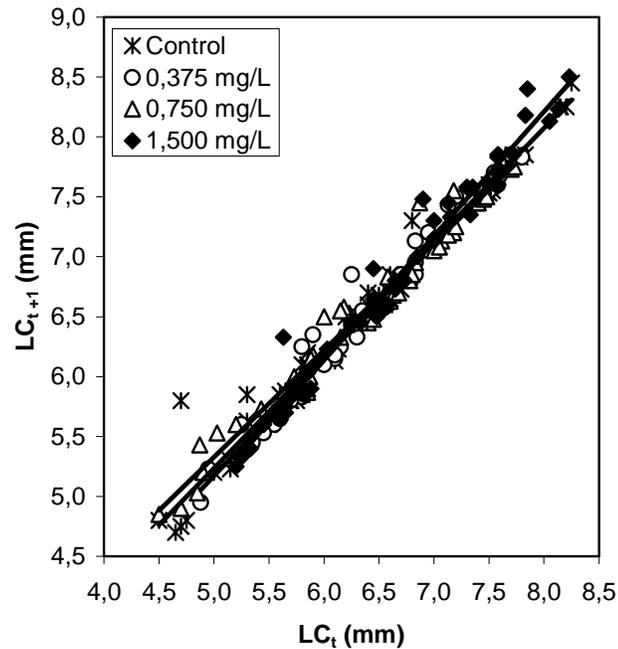


Figura 56. Relación entre LC_{t+1} (posmuda) y LC_t (premuda) de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de 2,4-D Herbifen Super[®].

Tabla 40. Valores de regresión y de significancia de la relación entre LC_{t+1} (posmuda) y LC_t (premuda) de *P. argentinus* en control y expuesto a distintas concentraciones de 2,4-D Herbifen Super[®] ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| LC_{t+1} (postmuda) = $a + b * LC_t$ (premuda) | | | | | |
|--|----------------------------|--------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 0,508 | 0,945 | 0,98 | 20 | <0,0001 |
| 0,375 mg/L | 0,300 | 0,974* | 0,98 | 20 | <0,0001 |
| 0,750 mg/L | 0,868 | 0,891* | 0,98 | 20 | <0,0001 |
| 1,500 mg/L | -0,084 | 1,036* | 0,98 | 20 | <0,0001 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

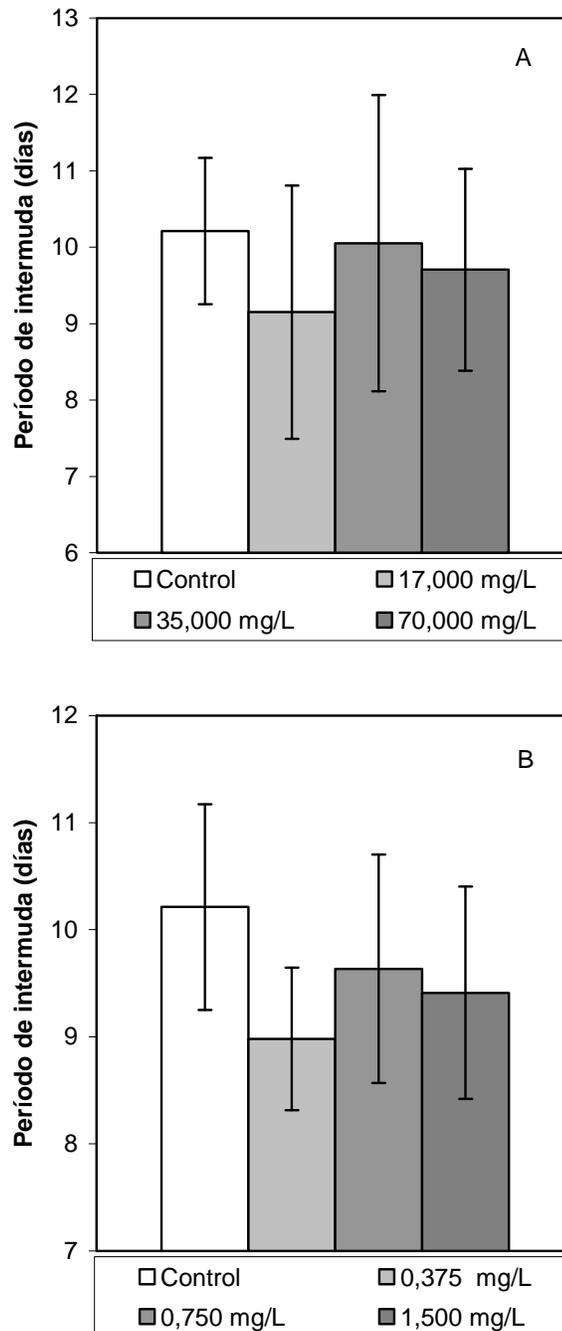


Figura 57. Períodos de intermuda (días) de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de glifosato Roundup® (A) y 2,4-D Herbifen Super® (B). Barras de valores medios y desvío estándar.

5.3.2. Exposición del cangrejo *T. borellianus* a diferentes herbicidas.

Ejemplares de *T. borellianus* con AC medio de $4,43 \pm 0,67$ mm ubicados en grupos y expuestos a concentraciones de glifosato Roundup® tuvieron tallas similares entre si (KW= 4,96; p= 0,2906). En 2,4-D Herbifen Super®, cangrejos con un AC medio de $3,62 \pm 0,51$ mm fueron colocados aleatoriamente en las distintas concentraciones del herbicida no observándose diferencias en la comparación de las tallas de los cangrejos (KW= 1,76; p= 0,6215).

Si bien las concentraciones usadas fueron inferiores a las CL₅₀ determinadas en estos herbicidas, ambos biocidas provocaron mortalidad de los cangrejos entre 60% y 70% antes de la primer muda y entre el 80% y 90% después de esta.

El ancho de caparazón de *T. borellianus* de postmuda (AC_{t+1}) incrementó proporcionalmente con el ancho de caparazón de premuda (AC_t). En los ejemplares de las concentraciones de glifosato Roundup® esta relación mostró pendientes diferentes del control, aunque el crecimiento de estos individuos fue isométrico y alométrico positivo en la concentración de 19,000 mg/L (Figura 58) (Tabla 41). La toxicidad de la concentración menor de 2,4-D Herbifen Super® provocó un gran incremento en la talla de los cangrejos, aunque la relación entre el AC_{t+1} y el AC_t no mostró una pendiente diferente a la del control. Este aumento en talla disminuyó en las concentraciones mayores del herbicida (Figura 59) (Tabla 42).

La toxicidad de ambos herbicidas alteró el período de intermuda de los cangrejos, con un incremento significativo en aquellos expuestos en las concentraciones mayores de glifosato Roundup® (KW= 11,30; p= 0,0101) (Tukey, p< 0,05) (Figura 60A). Mientras que los individuos en las concentraciones menores de 2,4-D Herbifen Super® alargaron las intermudas siendo diferentes al de los animales controles (KW= 13,32; p= 0,0039) (Tukey, p< 0,05) (Figura 60B).

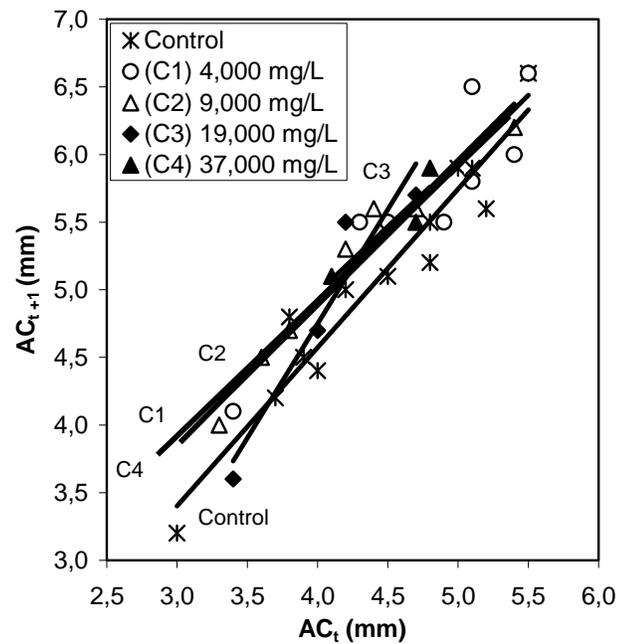


Figura 58. Relación entre AC_{t+1} (posmuda) y AC_t (premuda) de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de glifosato Roundup®.

Tabla 41. Valores de regresión y de significancia de la relación entre LC_{t+1} (posmuda) y LC_t (premuda) de *T. borellianus* en control y expuesto a distintas concentraciones de glifosato Roundup® ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| AC_{t+1} (postmuda) = $a + b * AC_t$ (premuda) | | | | | |
|--|----------------------------|--------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | -0,116 | 1,172 | 0,96 | 20 | <0,0001 |
| 4,000 mg/L | 0,737 | 1,036* | 0,92 | 20 | 0,0012 |
| 9,000 mg/L | 0,763 | 1,039* | 0,97 | 20 | 0,0002 |
| 19,000 mg/L | -2,018 | 1,691* | 0,95 | 20 | 0,0460 |
| 37,000 mg/L | 1,072 | 0,976* | 0,92 | 20 | 0,2490 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

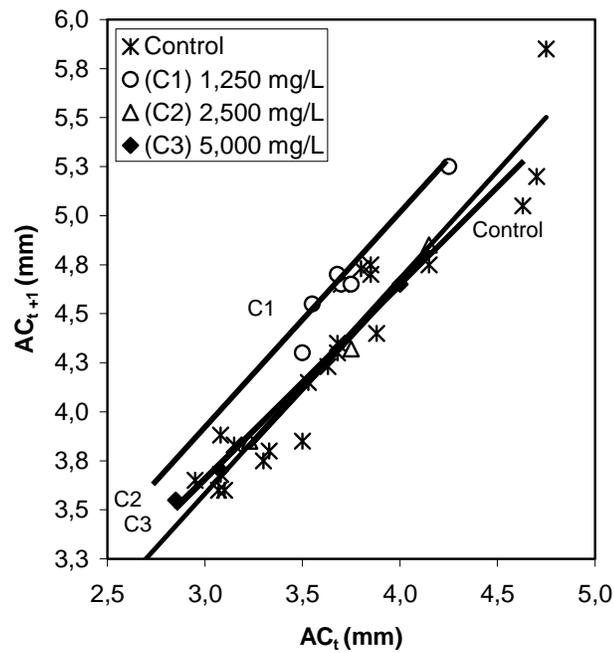


Figura 59. Relación entre AC_{t+1} (posmuda) y AC_t (premuda) de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de 2,4-D Herbifen Super[®].

Tabla 42. Valores de regresión y de significancia de la relación entre LC_{t+1} (posmuda) y LC_t (premuda) de *T. borellianus* en control y expuesto a distintas concentraciones de 2,4-D Herbifen Super[®] ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| AC_{t+1} (postmuda) = $a + b * AC_t$ (premuda) | | | | | |
|--|----------------------------|--------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 0,289 | 1,097 | 0,95 | 20 | <0,0001 |
| 1,250 mg/L | 0,453 | 1,131 | 0,97 | 20 | 0,0013 |
| 2,500 mg/L | 0,340 | 1,078 | 0,99 | 20 | 0,0699 |
| 5,000 mg/L | 0,728 | 0,978* | 0,99 | 20 | 0,0408 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes, $t_{0,05; 2; 22} = 2,1735$).

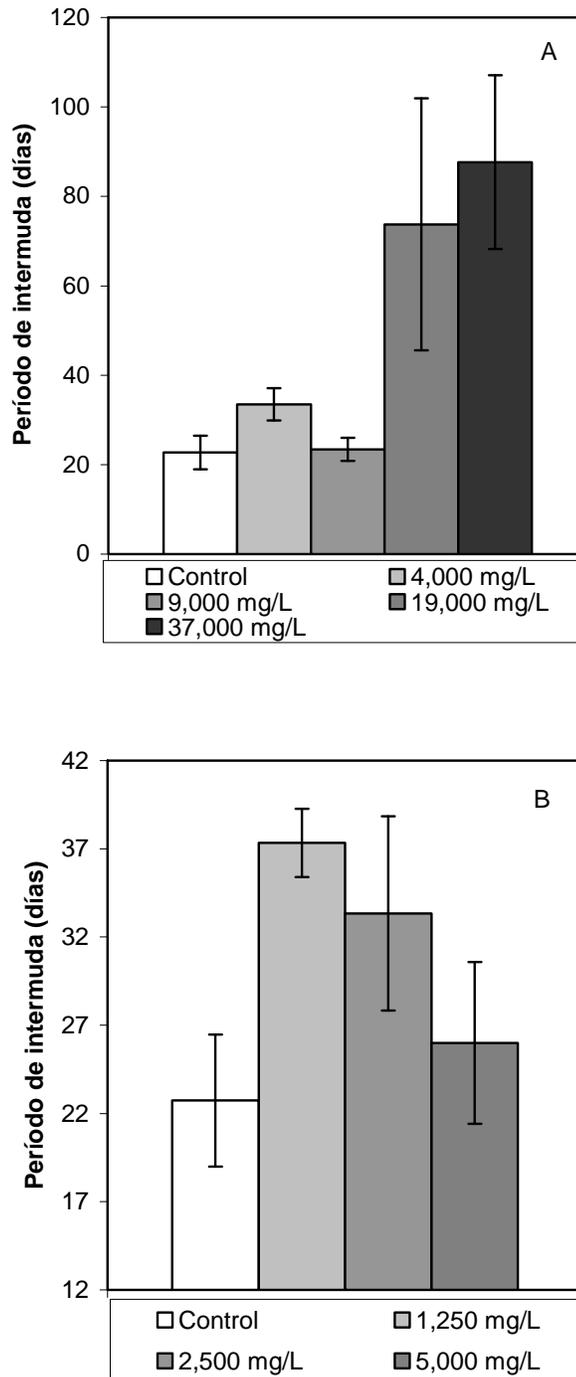


Figura 60. Períodos de intermuda (días) de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de glifosato Roundup® (A) y 2,4-D Herbifen Super® (B). Barras de valores medios y desvío estándar.

5.3.3. Exposición del camarón *P. argentinus* a diferentes insecticidas.

En el estudio de los efectos provocados por endosulfán Zebra Ciagro[®] sobre el crecimiento del camarón de *P. argentinus* individuos de LC medio de $7,03 \pm 0,95$ mm fueron agrupados al azar y colocados en las diferentes concentraciones del insecticida y control sin diferencias estadísticas en la comparación de tallas entre los grupos (KW= 2,70; p= 0,4392). Mientras que camarones con LC medio de $6,90 \pm 0,96$ mm colocados en los ensayos usando clorpirifós Terminator Ciagro[®] y controles tampoco mostraron diferencias estadísticas entre los LC (KW= 4,08; p= 0,2520).

En estos ensayos, la toxicidad de endosulfán provocó una mortalidad del 15% al 20% de los camarones en todas las concentraciones. Mientras que en clorpirifós, el número de muertos ascendió al 30% de los individuos.

Durante los ciclos de muda que *P. argentinus* completó al exponerlos a los insecticidas, el largo del cefalotórax de postmuda (LC_{t+1}) varió isométricamente en relación a la talla de premuda (Figura 61 y 62). Este tipo de crecimiento se mantuvo entre los individuos aunque la relación entre el LC_{t+1} y el LC_t mostró diferencias en las pendientes de los grupos expuestos a los insecticidas (Tabla 43 y 44).

Sin embargo, los camarones en los tratamientos de endosulfán Zebra Ciagro[®] tuvieron un aumento en la duración de las intermudas sin diferenciarse al de los animales controles (KW= 2,81; p= 0,4204) (Tukey, p< 0,05) (Figura 63A). En clorpirifós Terminator Ciagro[®] el alargamiento de la intermuda ocurrió principalmente en individuos expuestos a la concentración de 0,011 µg/L donde la duración de estos períodos fue diferente al de los camarones no expuestos a los tóxicos (KW= 12,28; p= 0,0064) (Tukey, p< 0,05) (Figura 63B).

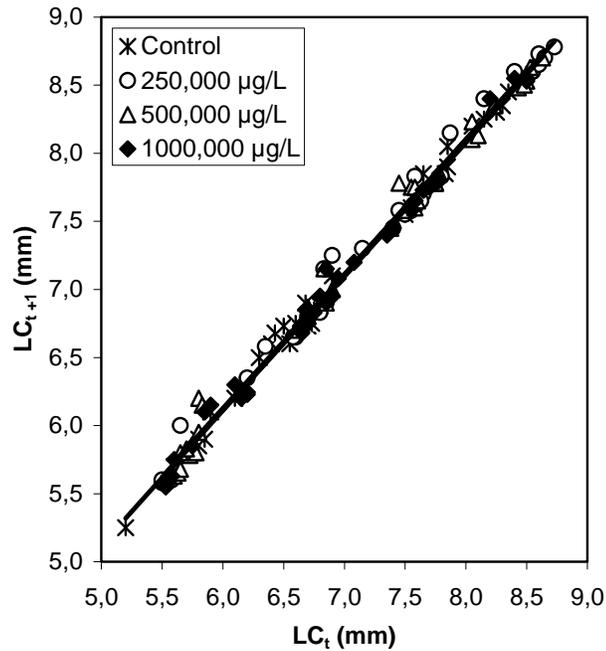


Figura 61. Relación entre LC_{t+1} (posmuda) y LC_t (premuda) de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro®.

Tabla 43. Valores de regresión y de significancia de la relación entre LC_{t+1} (posmuda) y LC_t (premuda) de *P. argentinus* en control y expuesto a distintas concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro® ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N : número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| LC_{t+1} (postmuda) = $a + b * LC_t$ (premuda) | | | | | |
|--|----------------------------|--------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 0,152 | 0,993 | 0,99 | 20 | <0,0001 |
| 0,122 µg/L | 0,172 | 0,990 | 0,99 | 20 | <0,0001 |
| 0,244 µg/L | 0,237 | 0,981* | 0,99 | 20 | <0,0001 |
| 0,488 µg/L | 0,207 | 0,983* | 0,99 | 20 | <0,0001 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

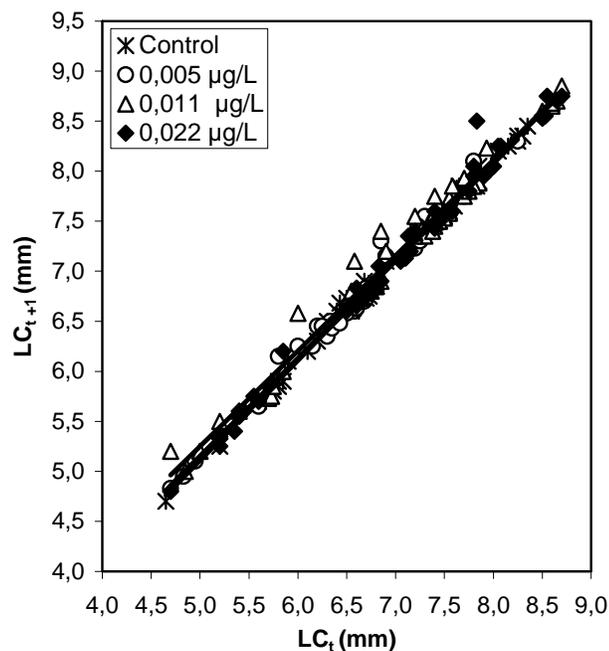


Figura 62. Relación entre LC_{t+1} (posmuda) y LC_t (premuda) de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro[®].

Tabla 44. Valores de regresión y de significancia de la relación entre LC_{t+1} (posmuda) y LC_t (premuda) de *P. argentinus* en control y expuesto a distintas concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro[®] ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| LC_{t+1} (postmuda) = $a + b * LC_t$ (premuda) | | | | | |
|--|----------------------------|--------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 0,118 | 0,998 | 0,99 | 20 | <0,0001 |
| 0,005 µg/L | 0,287 | 0,973* | 0,99 | 20 | <0,0001 |
| 0,011 µg/L | 0,487 | 0,952* | 0,99 | 20 | <0,0001 |
| 0,022 µg/L | 0,181 | 0,990* | 0,99 | 20 | <0,0001 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

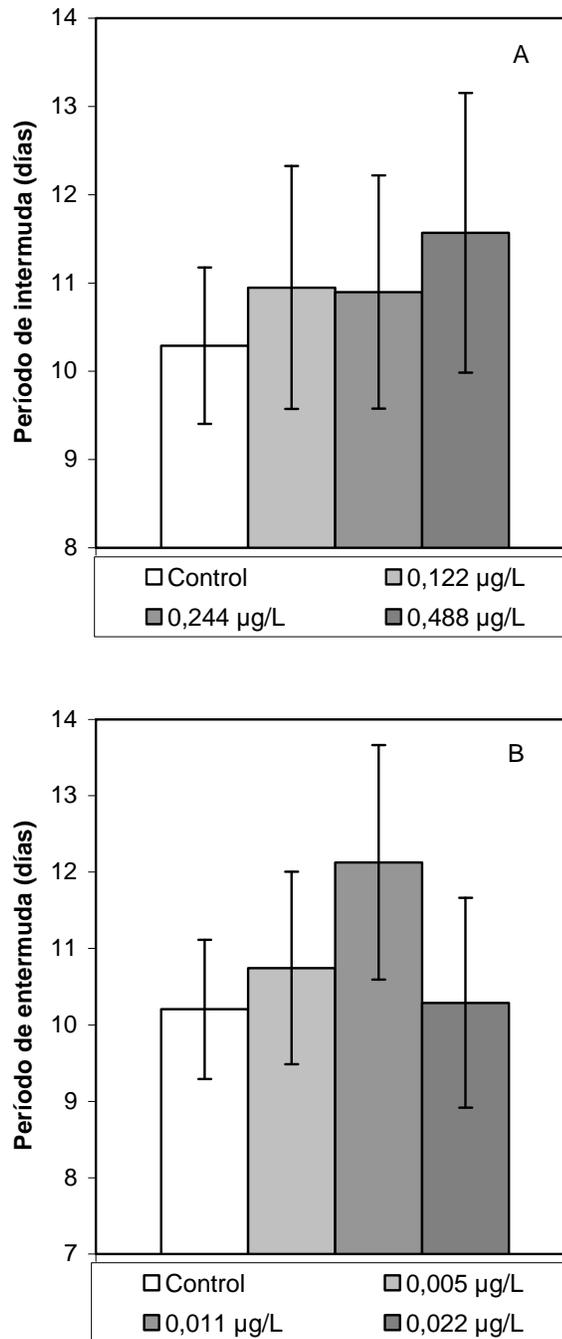


Figura 63. Períodos de intermuda (días) de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro® (A) y clorpirifós Terminator Ciagro® (B). Barras de valores medios y desvío estándar.

5.3.4. Exposición del cangrejo *T. borellianus* a diferentes insecticidas.

En los ensayos con endosulfán Zebra Ciagro[®] ejemplares de *T. borellianus* de AC medio de $3,50 \pm 0,45$ mm fueron agrupados aleatoriamente y expuestos a las diferentes concentraciones del insecticida. Los grupos no tuvieron diferencias significativas en la comparación las tallas (KW= 0,39; p= 0,9407). Mientras que en los ensayos con clorpirifós Terminator Ciagro[®] cangrejos con un AC medio de $3,66 \pm 0,61$ mm fueron ubicados en los grupos sin diferencia significativa en el tamaño de estos ejemplares entre los grupos (ANOVA, F= 0,85; p= 0,4748).

La exposición crónica a los insecticidas provocó la muerte del 35% al 60% de los cangrejos antes de la primer muda y 90% a 100% después de esta en exposición a las distintas concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro[®]. Mientras que del 40% al 50% antes de la primera ecdisis y del 60% al 85% después de esta en clorpirifós Terminator Ciagro[®].

En los ciclos de muda del cangrejo *T. borellianus* ambos insecticidas provocaron la disminución en el incremento por muda comparados con los controles (Figura 64 y 65). La relación entre el AC_{t+1} y AC_t mostró pendientes diferentes entre los tratamientos con tóxicos y el grupo control siendo en algunos casos alométricos negativos (Tabla 45 y 46).

Por otra parte, la toxicidad de la concentración mayor de endosulfán Zebra Ciagro[®] indujo el alargamiento del período de intermuda en los animales expuestos diferenciándose al de los controles (KW= 3,99; p= 0,0258) (Tukey, p< 0,05) (Figura 66A). La exposición a clorpirifós Terminator Ciagro[®] causó también un aumento en la duración de la intermuda de los cangrejos de todos los tratamientos (KW= 11,86; p= 0,0078) (Tukey, p< 0,05) (Figura 66B).

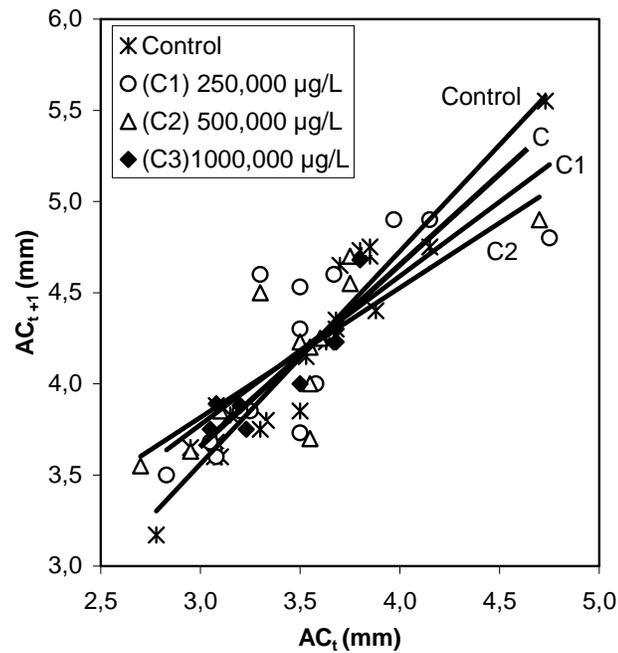


Figura 64. Relación entre AC_{t+1} (posmuda) y AC_t (premuda) de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro®.

Tabla 45. Valores de regresión y de significancia de la relación entre AC_{t+1} (posmuda) y AC_t (premuda) de *T. borellianus* en control y expuesto a distintas concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro® ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, *N*: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| AC_{t+1} (postmuda) = $a + b * AC_t$ (premuda) | | | | | |
|--|----------------------------|--------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 0,056 | 1,167 | 0,95 | 20 | <0,0001 |
| 250,000 µg/L | 1,330 | 0,815* | 0,79 | 20 | 0,0006 |
| 500,000 µg/L | 1,685 | 0,710* | 0,80 | 20 | 0,0015 |
| 1000,000 µg/L | 0,724 | 0,980* | 0,90 | 20 | 0,0020 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

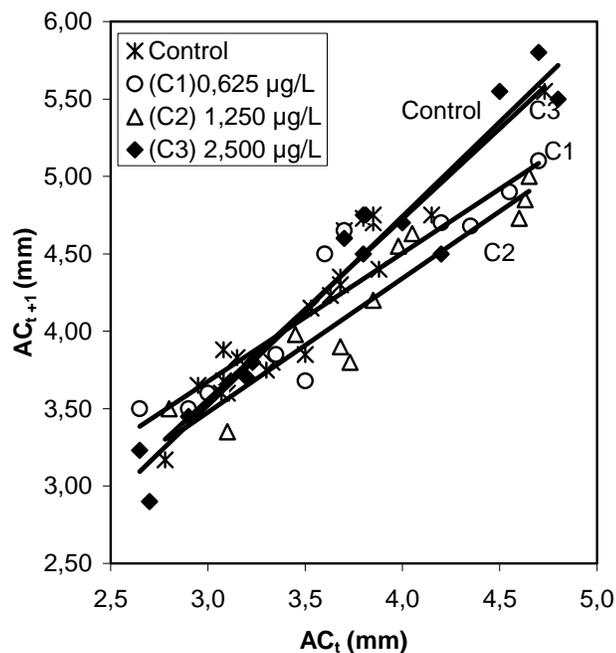


Figura 65. Relación entre AC_{t+1} (posmuda) y AC_t (premuda) de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro[®].

Tabla 46. Valores de regresión y de significancia de la relación entre AC_{t+1} (posmuda) y AC_t (premuda) de *T. borellianus* en control y expuesto a distintas concentraciones de clorpirifós Terminator Ciagro[®] ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| AC_{t+1} (postmuda) = $a + b * AC_t$ (premuda) | | | | | |
|--|----------------------------|--------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 0,056 | 1,167 | 0,95 | 20 | <0,0001 |
| 0,625 µg/L | 1,189 | 0,829* | 0,93 | 20 | <0,0001 |
| 1,250 µg/L | 0,881 | 0,865* | 0,94 | 20 | <0,0001 |
| 2,500 µg/L | -0,138 | 1,220* | 0,97 | 20 | <0,0001 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

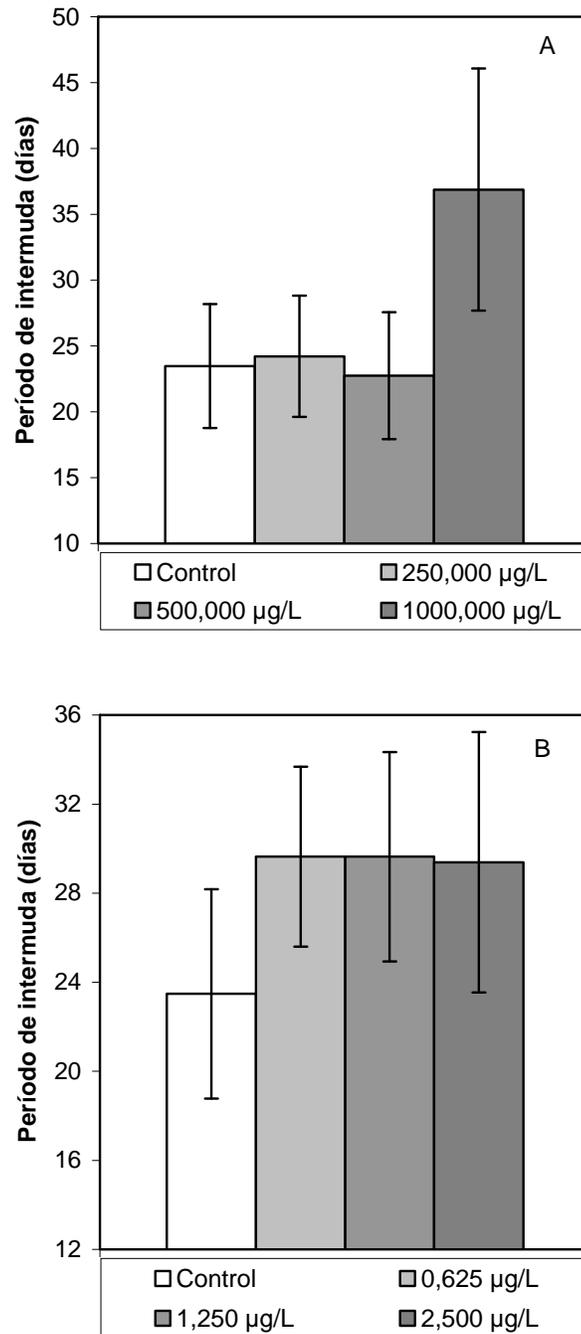


Figura 66. Períodos de intermuda (días) de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de endosulfán Zebra Ciagro[®] (A) y clorpirifós Terminator Ciagro[®] (B). Barras de valores medios y desvío estándar.

5.3.5. Exposición del camarón *P. argentinus* a diferentes fungicidas.

Camarones de *P. argentinus* de LC medio de $5,62 \pm 0,63$ mm fueron distribuidos aleatoriamente en grupos y expuestos a concentraciones del fungicida carbendazim Flow Thin 50[®] manteniendo un control. Estos grupos no mostraron diferencias estadísticas en la comparación de las tallas (KW= 3,60; p= 0,3079). Por otra parte, camarones con LC medio de $5,84 \pm 0,69$ mm agrupados fueron colocados en las concentraciones de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] y control. La comparación de las tallas en este caso tampoco indicó diferencias entre los grupos (KW= 8,45; p= 0,2115).

En exposición al fungicida carbendazim Flow Thin 50[®] el número de camarones muertos antes de la primer muda fue del 15% en la concentración de 0,001 g/L, del 45% en 0,002 g/L y el 80% de los individuos en 0,004 g/L. En esta última concentración, ningún individuo sobrevivió después de la primera ecdisis. En las concentraciones inferiores de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] la mortalidad fue del 15% y 30% antes y después de la primer muda respectivamente. Mientras que en la concentración mayor del biocida la mortalidad fue del 25% y 60% en ambos momentos en relación a la muda.

El camarón *P. argentinus* varió isométricamente en la relación entre LC_{t+1} y LC_t por cada muda en el control, y en forma relativamente alométrico negativo en los ejemplares expuestos a los fungicidas (Figura 67 y 68). Esta relación en los biocidas mostró pendientes diferentes del control (Tabla 47 y 48).

El aumento en las intermudas de los camarones en la concentración mayor de carbendazim Flow Thin 50[®] no determinó diferencias con el del grupo control (KW= 1,67; p= 0,6427) (Tukey, p< 0,05) (Figura 69A). Por otra parte, la exposición a carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] provocó una reducción de los períodos con el aumento en las concentraciones aunque esta variación no indicó diferencias con las intermudas de los animales mantenidos sin tóxico (KW= 5,42; p= 0,1433) (Tukey, p< 0,05) (Figura 69B).

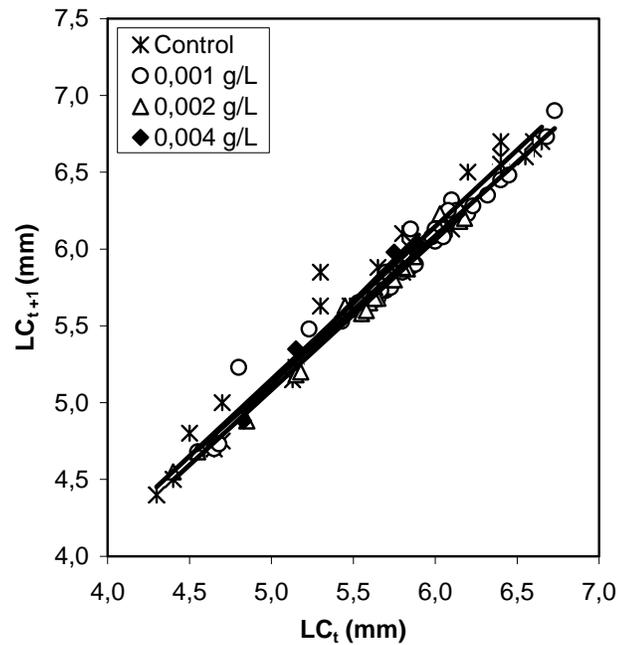


Figura 67. Relación entre LC_{t+1} (posmuda) y LC_t (premuda) de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de carbendazim Flow Thin 50[®].

Tabla 47. Valores de regresión y de significancia de la relación entre LC_{t+1} (posmuda) y LC_t (premuda) de *P. argentinus* en control y expuesto a distintas concentraciones de carbendazim Flow Thin 50[®] ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N : número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| LC_{t+1} (postmuda) = $a + b * LC_t$ (premuda) | | | | | |
|--|----------------------------|--------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 0,163 | 0,997 | 0,98 | 20 | <0,0001 |
| 0,001 g/L | 0,329 | 0,959* | 0,98 | 20 | <0,0001 |
| 0,002 g/L | 0,200 | 0,976* | 0,99 | 20 | <0,0001 |
| 0,004 g/L | -0,291 | 1,082 | 0,99 | 20 | 0,0079 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

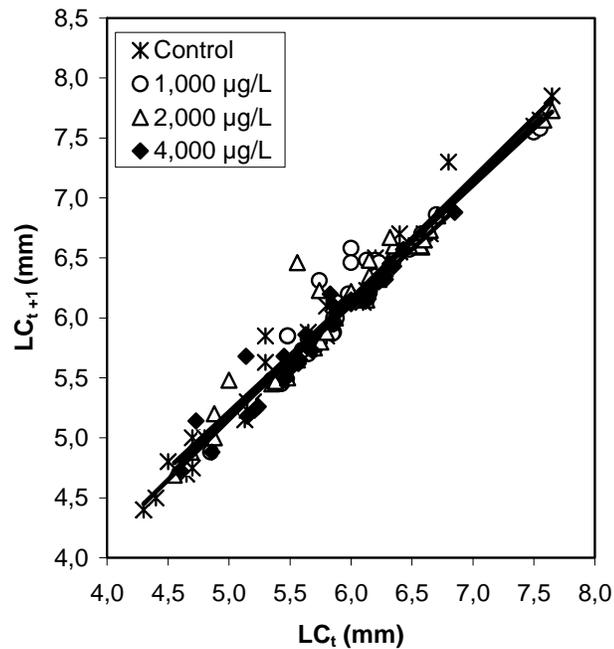


Figura 68. Relación entre LC_{t+1} (posmuda) y LC_t (premuda) de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®].

Tabla 48. Valores de regresión y de significancia de la relación entre LC_{t+1} (posmuda) y LC_t (premuda) de *P. argentinus* en control y expuesto a distintas concentraciones de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| LC_{t+1} (postmuda) = $a + b * LC_t$ (premuda) | | | | | |
|--|----------------------------|--------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 0,128 | 1,005 | 0,99 | 20 | <0,0001 |
| 1,000 µg/L | 0,291 | 0,976* | 0,96 | 20 | <0,0001 |
| 2,000 µg/L | 0,496 | 0,943* | 0,97 | 20 | <0,0001 |
| 4,000 µg/L | 0,498 | 0,934* | 0,97 | 20 | <0,0001 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

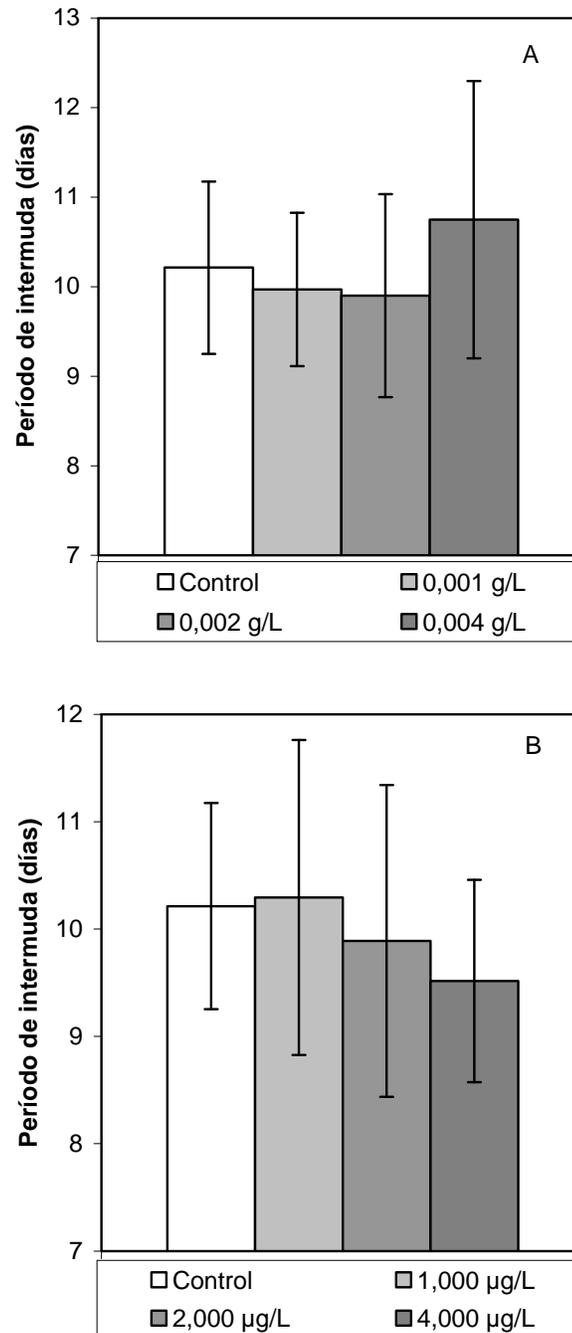


Figura 69. Períodos de intermuda (días) de *P. argentinus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de carbendazim Flow Thin 50® (A) y carbendazim-tiram Flow Thin 15-35® (B). Barras de valores medios y desvío estándar.

5.3.6. Exposición del cangrejo *T. borellianus* a diferentes fungicidas.

En los ensayos de crecimiento de *T. borellianus* en exposición al fungicida carbendazim Flow Thin 50[®] cangrejos de AC medio de $3,67 \pm 0,34$ mm fueron distribuidos aleatoriamente en grupos y expuestos a concentraciones del biocida. Estos grupos no mostraron diferencias significativas en la comparación de las tallas (KW= 5,14; p= 0,1612). Mientras que en carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] ejemplares con un AC medio de $3,47 \pm 0,49$ mm fueron ubicados en las concentraciones del fungicida y control sin diferencia estadística entre sus tallas (KW= 1,66; p= 0,6442).

La exposición crónica a carbendazim Flow Thin 50[®] provocó la muerte de los cangrejos en un rango entre 15% y 45% antes de la primer muda. Además, del 15% al 40% de los cangrejos no mudaron durante 113 días en exposición a las concentraciones del fungicida. Por otra parte, en el otro fungicida (carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®]) la mortalidad de los cangrejos tuvo un rango entre 20% y 40%. Mientras que entre el 40% y 50% de los animales expuestos a las concentraciones del producto no completó el ciclo de muda.

En aquellos que pudieron mudar el crecimiento fue alométrico positivo siendo este más importante en la concentración inferior de carbendazim Flow Thin 50[®] (Figura 70) (Tabla 49). Mientras que en los cangrejos expuestos a carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] el incremento en la talla fue en general isométrico, excepto en los individuos en la concentración mayor donde el crecimiento mostró una alometría negativa (Figura 71) (Tabla 50).

Ambos biocidas provocaron un elevado aumento en la duración del período de intermuda del cangrejo *T. borellianus*, con valores muy superiores al de los controles en carbendazim Flow Thin 50[®] (KW= 25,96; p< 0,0001) y carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] (KW= 13,53; p= 0,003) (Tukey, p< 0,05) (Figuras 72A y B).

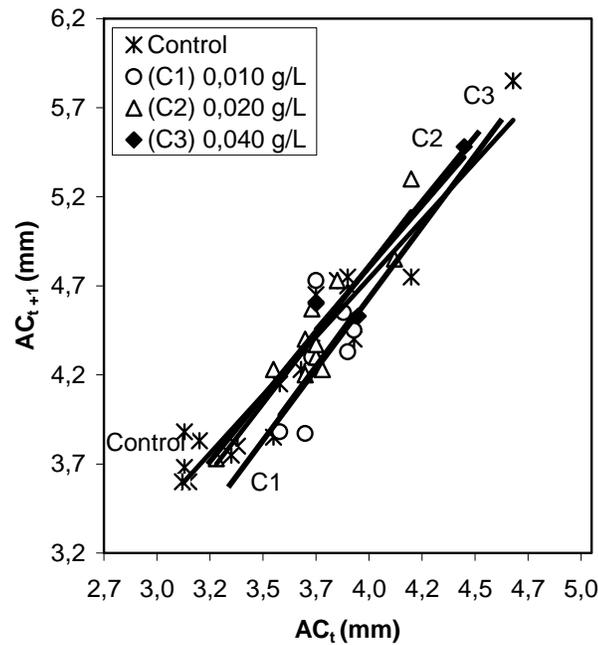


Figura 70. Relación entre AC_{t+1} (posmuda) y AC_t (premuda) de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de carbendazim Flow Thin 50[®].

Tabla 49. Valores de regresión y de significancia de la relación entre AC_{t+1} (posmuda) y AC_t (premuda) de *T. borellianus* en control y expuesto a distintas concentraciones de carbendazim Flow Thin 50[®] ($p < 0,05$). Donde *a*: valor de la intercepción al eje Y, *b*: valor de la pendiente, *r*: valor del coeficiente de correlación, N: número de individuos y *p*: valor de significancia de la regresión.

| AC_{t+1} (postmuda) = $a + b * AC_t$ (premuda) | | | | | |
|--|----------------------------|--------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | -0,422 | 1,307 | 0,95 | 20 | <0,0001 |
| 0,010 g/L | -1,741 | 1,619* | 0,63 | 20 | 0,1267 |
| 0,020 g/L | -1,283 | 1,542* | 0,93 | 20 | <0,0001 |
| 0,040 g/L | -0,653 | 1,380* | 0,94 | 20 | 0,2210 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes) ($p < 0,05$).

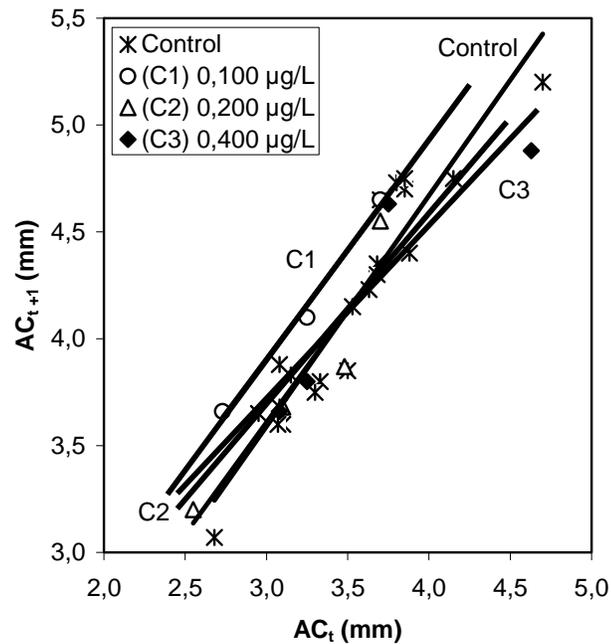


Figura 71. Relación entre AC_{t+1} (posmuda) y AC_t (premuda) de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®].

Tabla 50. Valores de regresión y de significancia de la relación entre AC_{t+1} (posmuda) y AC_t (premuda) de *T. borellianus* en control y expuesto a distintas concentraciones de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] ($p < 0,05$). Donde a : valor de la intercepción al eje Y, b : valor de la pendiente, r : valor del coeficiente de correlación, N : número de individuos y p : valor de significancia de la regresión.

| AC_{t+1} (postmuda) = $a + b * AC_t$ (premuda) | | | | | |
|--|----------------------------|--------|------|----|---------|
| Grupos | Parámetros de la regresión | | | N | p |
| | a | b | r | | |
| Control | 0,346 | 1,080 | 0,94 | 20 | <0,0001 |
| 0,100 µg/L | 0,857 | 1,016 | 0,99 | 20 | 0,0673 |
| 0,200 µg/L | 0,469 | 1,046 | 0,94 | 20 | 0,0585 |
| 0,400 µg/L | 1,273 | 0,807* | 0,93 | 20 | 0,0688 |

* Diferente estadísticamente con el grupo control (test t de comparación de pendientes, $t_{0,05; 2; 21} = 8,788$).

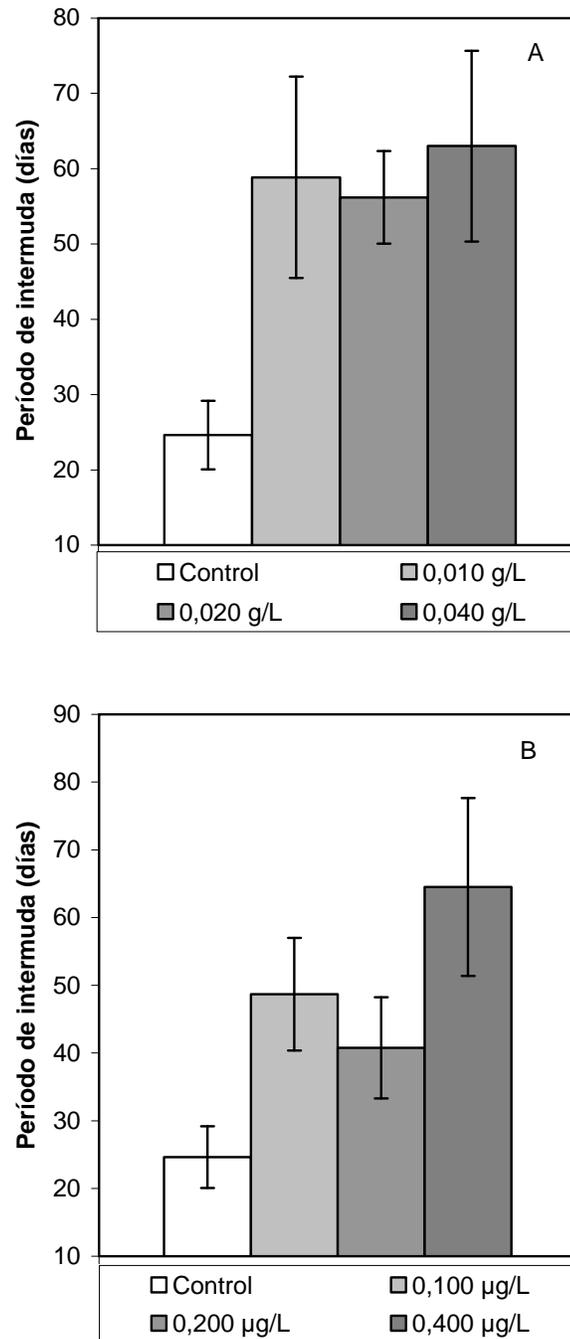


Figura 72. Períodos de intermuda (días) de *T. borellianus* en control y expuesto a diferentes concentraciones de carbendazim Flow Thin 50® (A) y carbendazim-tiram Flow Thin 15-35® (B). Barras de valores medios y desvío estándar.

5.4. Ensayos a nivel de mesocosmos

Estos ensayos posibilitaron la evaluación de la toxicidad letal de los agroquímicos sobre los crustáceos en condiciones similares a los ambientes naturales.

Los camarones de *P. argentinus* usados tuvieron un largo de cefalotórax (LC) medio de $6,22 \pm 0,42$ mm, mientras que los cangrejos *T. borellianus* un ancho de caparazón (AC) medio de $4,67 \pm 0,34$ mm. Estos crustáceos agrupados al azar y colocados en las lagunas no mostraron diferencias estadísticas en la comparación de sus tallas (KW= 2,63; p= 0,3169).

Entre las dos lagunas controles la mortalidad de los camarones fue del 30% y del 20% de los cangrejos aproximadamente, durante el período de ensayo (Figura 73). Esta mortalidad fue atribuida a causas naturales.

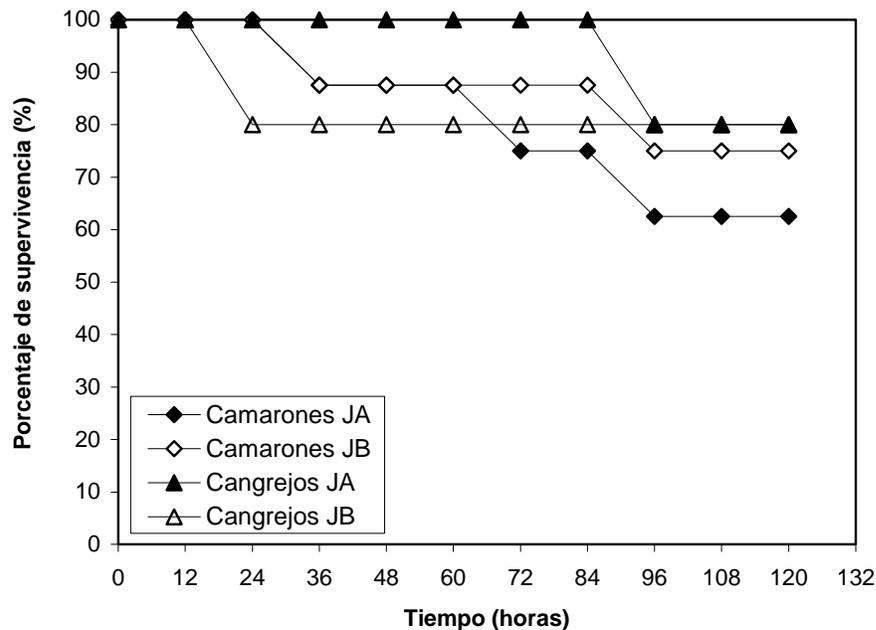


Figura 73. Variación de la tasa de supervivencia de *P. argentinus* y *T. borellianus* en las lagunas controles. En el rótulo, JA y JB indican jaula alta y jaula baja respectivamente.

5.4.1. Exposición de *P. argentinus* y *T. borellianus* a diferentes herbicidas.

En las lagunas donde fue aplicado el herbicida glifosato Roundup® y 2,4-D Herbifen Super® los camarones *P. argentinus* tuvieron un LC medio de $6,62 \pm 0,72$ y los cangrejos *T. borellianus* un AC medio de $5,05 \pm 0,64$ mm. Estos fueron agrupados aleatoriamente y expuestos a los biocidas sin diferencias estadísticas en la comparación de las tallas de las jaulas (KW= 7,10; p= 0,5189).

En los mesocosmos con los herbicidas, sólo fue realizada la identificación y cuantificación de 2,4-D aplicado en el medio líquido de la laguna con un valor de 98 µg/L. La cuantificación de glifosato no fue posible por inconvenientes en el instrumental técnico específico.

En la laguna donde fue aplicado el glifosato Roundup®, los cangrejos de la jaula del fondo del cosmos registraron una reducción en la supervivencia durante las primeras horas de exposición al herbicida. Luego el efecto letal sobre estos individuos no varió en ambas jaulas hasta el final del ensayo (Figura 74A). Por otra parte, la supervivencia de los camarones de *P. argentinus* disminuyó a lo largo del tiempo en la laguna con glifosato, y ningún ejemplar sobrevivió a las 120 hs de exposición al biocida. Esta reducción de la supervivencia de los decápodos en las jaulas no determinó diferencias con relación a la ubicación de las mismas en el interior de la laguna ($X^2_{0,05; 9} = 6,6078$).

La toxicidad de 2,4-D Herbifen Super® no provocó la muerte de los cangrejos de *T. borellianus* expuestos (Figura 74B). Mientras que la mortalidad de los camarones incrementó con el tiempo de ensayo, con diferencias entre la jaula cercana al sedimento de fondo y a la superficie del agua ($X^2_{0,05; 10} = 21,4459$).

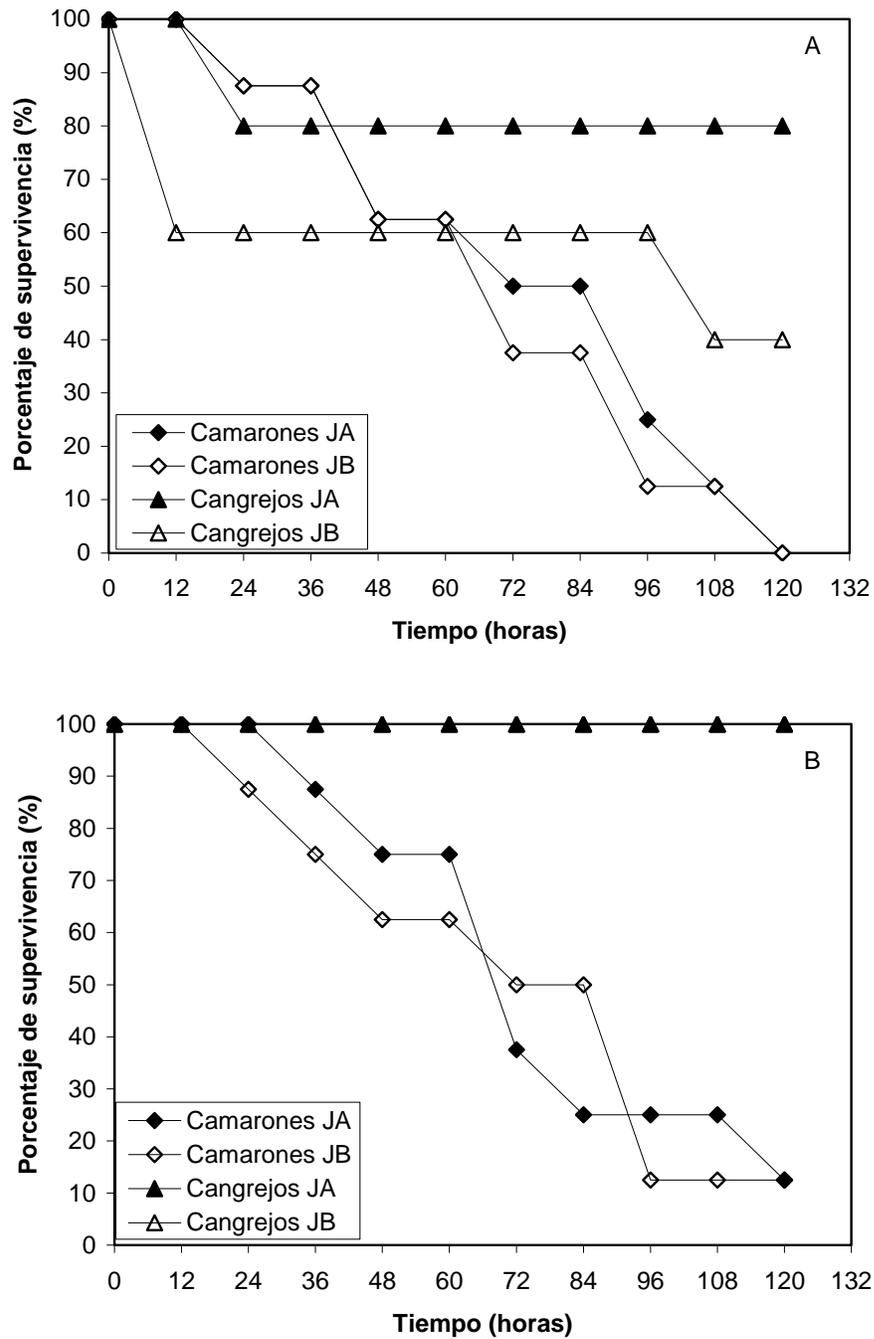


Figura 74. Variación de la tasa de supervivencia de *P. argentinus* y *T. borellianus* durante la exposición a los herbicidas glifosato Roundup® (A) y 2,4-D Herbifen Super® (B). En el rótulo, JA y JB indican jaula alta y jaula baja respectivamente.

5.4.2. Exposición de *P. argentinus* y *T. borellianus* a diferentes insecticidas.

Ejemplares de *P. argentinus* con LC medio de $6,17 \pm 0,19$ mm y *T. borellianus* con un AC medio de $4,78 \pm 0,29$ mm fueron agrupados al azar y colocados en las lagunas donde se aplicó endosulfán Zebra Ciagro[®] y clorpirifós Terminator Ciagro[®]. La comparación de las tallas entre las jaulas no indicaron diferencias significativas (KW, Estadístico= 4,48; p= 0,2401).

La cuantificación de los biocidas indicó valores de los compuestos α y β endosulfán de 90 $\mu\text{g/L}$ y 34 $\mu\text{g/L}$ respectivamente en el agua de la laguna donde fue aplicado endosulfán Zebra Ciagro[®]. En la laguna con el insecticida clorpirifós Terminator Ciagro[®], la concentración de etil clorpirifós fue de 352 $\mu\text{g/L}$.

La concentración recomendada por CASAFE (2001, 2007) para la aplicación de endosulfán provocó la muerte de todos los camarones de *P. argentinus* después de las 12 hs de ensayo (Figura 75A). Sin embargo, *T. borellianus* mostró una menor sensibilidad a la toxicidad en la concentración usada del biocida. Este cangrejo registró una menor supervivencia en la jaula alta (60%) en relación a la jaula cercana al sedimento de fondo (80%).

Un efecto similar mostraron los camarones en exposición al insecticida clorpirifós. En esta experiencia el biocida ocasionó la muerte de la totalidad de los camarones *P. argentinus* a las 12 hs de exposición. Mientras que la toxicidad de la concentración evaluada fue letal también al cangrejo *T. borellianus* luego de 24 hs (Figura 75B).

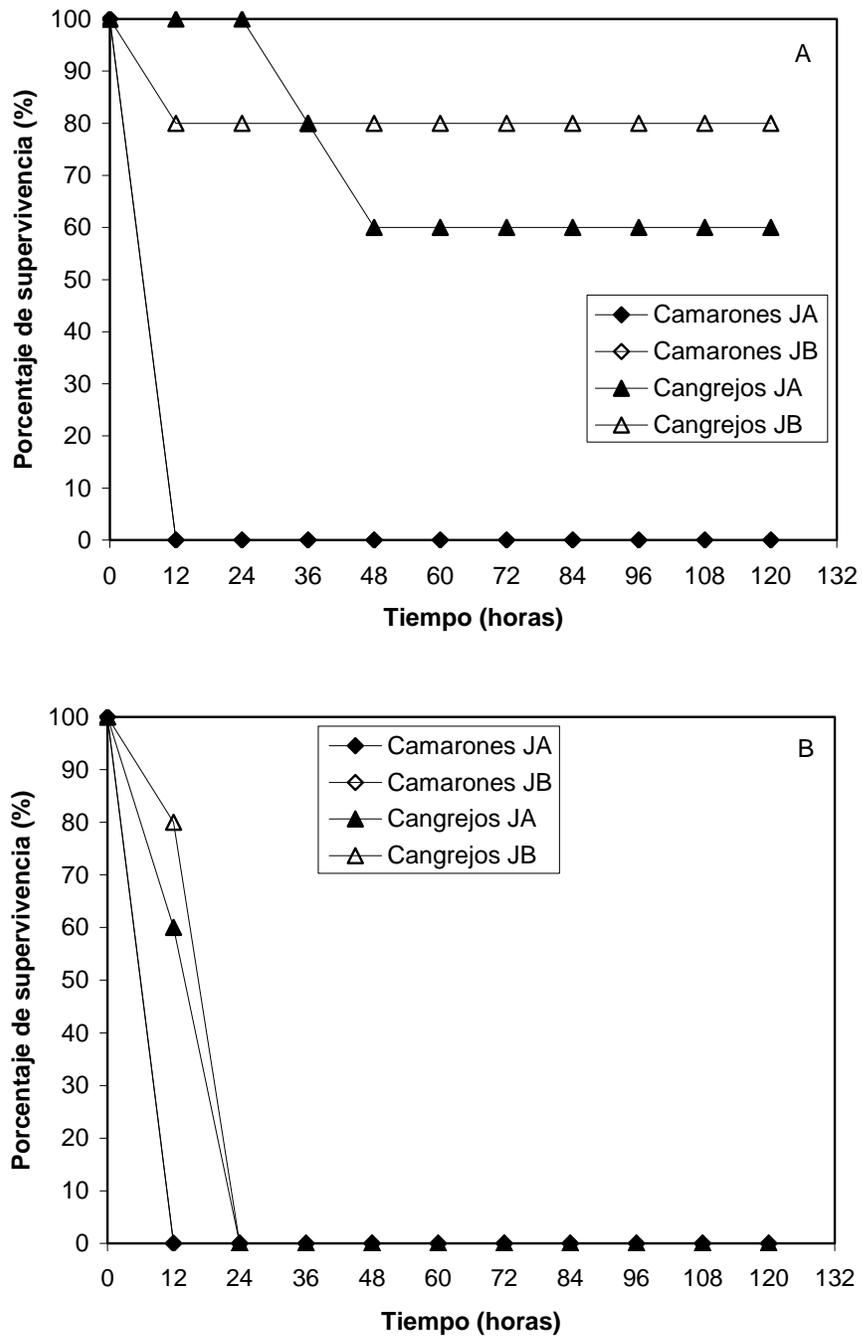


Figura 75. Variación de la tasa de supervivencia de *P. argentinus* y *T. borellianus* durante la exposición a los insecticidas endosulfán Zebra Ciagro® (A) y clorpirifós Terminator Ciagro® (B). En el rótulo, JA y JB indican jaula alta y jaula baja respectivamente.

5.4.3. Exposición de *P. argentinus* y *T. borellianus* a diferentes fungicidas.

Ejemplares de *P. argentinus* con LC medio de $6,17 \pm 0,19$ mm y *T. borellianus* con AC medio de $4,43 \pm 0,67$ mm fueron agrupados y expuestos a los fungicidas carbendazim Flow Thin 50[®] y carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®]. La comparación de las tallas de estos decápodos no mostró diferencias significativas en las distribución de los mismos en las jaulas (KW= 1,96; p= 0,2106).

En las primeras horas de ensayo, el fungicida carbendazim Flow Thin 50[®] provocó la muerte del 20% de los decápodos ubicados en la jaula cercana a la superficie. Este valor disminuyó posteriormente en los camarones. A partir de las 60 hs de exposición, el fungicida resultó letal a los camarones de la jaula baja (Figura 76A). La respuesta de estos crustáceos no mostró diferencias entre las jaulas en la laguna ($X^2_{0,05; 10} = 17,6466$).

La toxicidad de carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] indujo un mayor efecto letal en los camarones durante las primeras 24 hs con una supervivencia de los mismos del 25% en la jaula baja y un 50% en la alta (Figura 76B). En este período también decreció al 40% la cantidad de cangrejos vivos en la jaula cercana al sedimento de fondo. La variación de la respuesta de los decápodos mostró diferencia según la ubicación de las jaulas ($X^2_{0,05; 10} = 28,3557$).

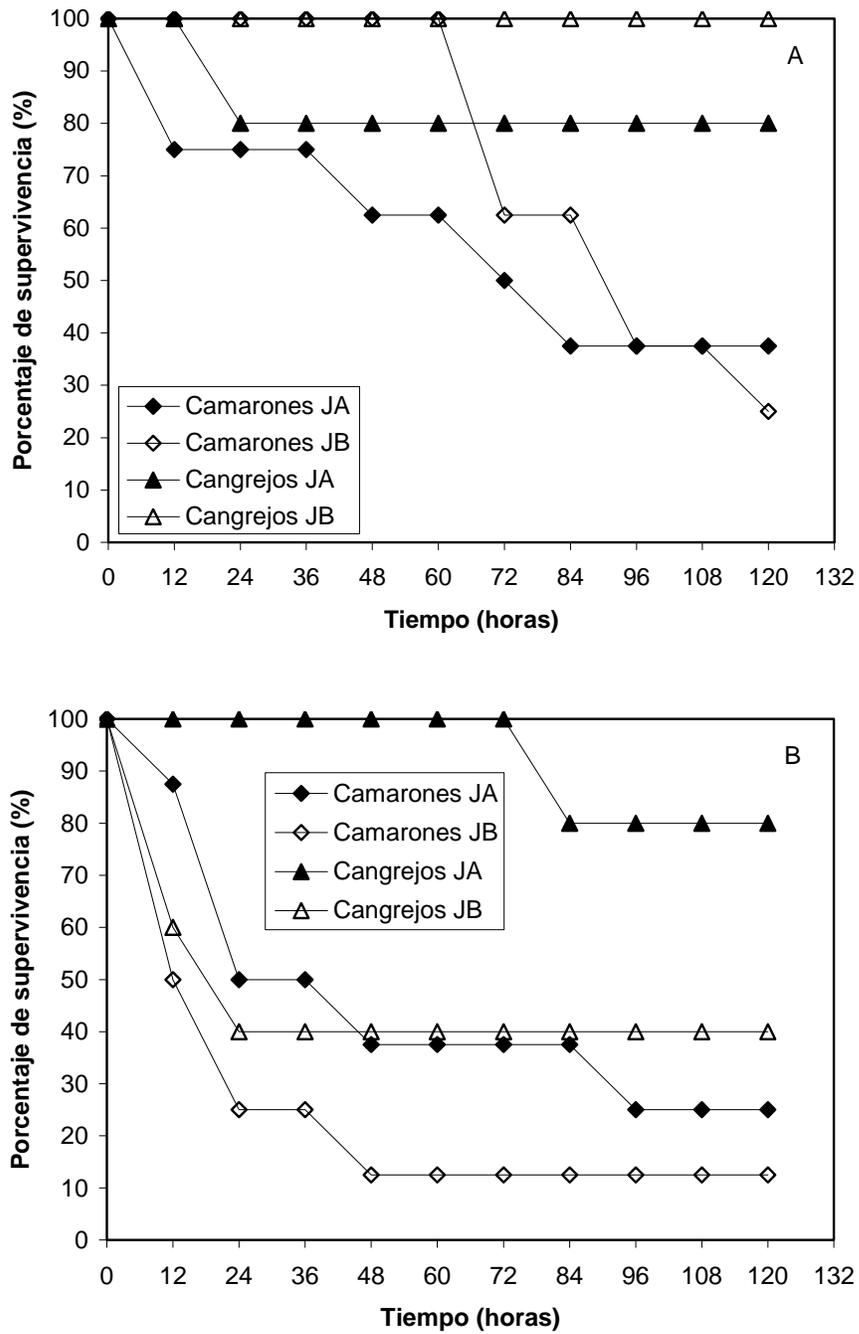


Figura 76. Variación de la tasa de supervivencia de *P. argentinus* y *T. borellianus* durante la exposición a los fungicidas carbendazim Flow Thin 50[®] (A) y carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] (B). En el rótulo, JA y JB indican jaula alta y jaula baja respectivamente.

Discusión

6. Discusión

El uso de agroquímicos incrementó en los últimos años debidos principalmente al desarrollo de técnicas modernas de producción y a la creciente necesidad de protección de cultivos del ataque de organismos y vectores de enfermedades (Ecobichon, 2001). Estos biocidas desarrollados inicialmente en función de las actividades agrícolas, fueron incorporados a los centros urbanos como productos de uso frecuente en la búsqueda de un mejor confort de la población (Lorenzatti y col., 2008). La mayoría de los compuestos químicos presentan escasa especificidad en su acción tóxica sobre las especies que se quieren controlar (Rose y col., 1999). Esta característica sumada a la liberación indiscriminada de los agroquímicos principalmente insecticidas, herbicidas y fungicidas altera la calidad de los ambientes terrestres y terminan incorporándose a los sistemas acuáticos, lo que supone un riesgo importante en la supervivencia de muchas especies.

En los ambientes acuáticos, los agroquímicos ocupan la superficie y/o columna de agua, material orgánico y sedimentos según las características de los compuestos (Walker y col., 2001). Algunos autores consideran la contaminación con agroquímicos como un problema ambiental de gran importancia debido a que son deliberadamente introducidos en los ambientes en el control de especies (Ray y Ghosh, 2005). Estos xenobióticos resultan tóxicos durante las aplicaciones para muchos animales no blancos tales como insectos, crustáceos, moluscos, entre otros organismos de la vida acuática. Los compuestos agroquímicos puede provocar alteraciones en la composición de los ecosistemas reduciendo en forma temporal o permanente la biodiversidad (Nimmo, 1985). En muchos casos, en la exposición aguda a los biocidas ocurren mortalidades en masa de especies de invertebrados y vertebrados acuáticos. A su vez, la presencia de agrotóxicos en el ambiente puede ocasionar cambios crónicos en el comportamiento y en funciones fisiológicas fundamentales de los organismos como crecimiento y reproducción (Newman y Unger, 2003).

Los resultados obtenidos de ensayos de toxicidad con invertebrados de aguas continentales, estuariales y marinas permiten evaluar y reconocer los efectos provocados por los xenobióticos (Newman y Unger, 2003). Entre el gran número de compuestos agroquímicos que existen actualmente, algunos de ellos tienen mayor prioridad de ser evaluados dado el elevado consumo, grado de toxicidad, persistencia en los ambientes y acumulación en organismos y en cadenas tróficas.

En el caso de los herbicidas, si bien están diseñados y fabricados con el objeto de inhibir el crecimiento de plantas, evidentemente también actúan sobre los animales que están expuestos tanto en el sistema terrestre (principalmente el agropecuario) como en el aire y el agua. En el presente trabajo, las especies de crustáceos fueron afectadas por los herbicidas de las marcas comerciales utilizadas. La evaluación del efecto letal agudo del herbicida glifosato en su formulación Roundup® en el camarón *P. argentinus* y el cangrejo *T. borellianus* mostró similar nivel de sensibilidad entre las especies (141,0 mg/L y 138,0 mg/L respectivamente). Sin embargo, en el camarón fue observada una mayor variación en las concentraciones con el incremento en el porcentaje de individuos muertos. En comparación con otras especies acuáticas, los valores letales determinados en los decápodos no presentan grandes variaciones de los registrados en *Oncorhynchus mykiss* y otros peces (86,0 a 168,0 mg/L), pero difiere del crustáceo *Daphnia magna* (780 mg/L) (Thompson, 1989; Asinari y col., 2001). Estos niveles de sensibilidad resultan de gran valor en la identificación del grado de peligrosidad de los xenobióticos de uso masivo como es el glifosato, considerado un plaguicida de baja toxicidad. Sin embargo, existe evidencia de que éste herbicida y su metabolito el ácido aminoetilfosfónico (AMPA) son importantes contaminantes de los ecosistemas terrestres y acuáticos (Giesy y col., 2000; WHO, 2003; Cerdeira y Duke, 2006). Ronco y col. (2007) registraron en arroyos de la región pampeana que el glifosato provocó una reducción del contenido de clorofila en vegetación ripiara adyacente y en macrófitas acuáticas, y que las poblaciones de invertebrados fueron los componentes del ecosistema más afectados. Algunos autores indicaron además, el problema que presentan los surfactantes usados en los productos comerciales, como POEA (polioxi-etilén amina) en el formulado Roundup® (Blackburn y Boutin, 2003; Lajmanovich y col., 2003a, b). En estudios realizados en algunas especies de flora y fauna pampeana, compararon el glifosato como droga pura con el formulado Roundup® mostrando una mayor toxicidad de este último sobre la macrófita *Lemna gibba* y planta vascular *Lactuca sativa* (Martin y Ronco, 2006; Sobrero y col., 2007b), y en la respuesta letal del renacuajo *Litoria moorei* (10,4:1) (Lajmanovich y Peltzer, 2004). En otros organismos como las algas *Selenastrum capricornutum* y *Skeletonema costatum*, la bacteria *Vibrio fischeri*, los protozoos *Tetrahymena pyriformis* y *Euplotes vannus*, el microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*, y peces arco iris indicaron también variaciones en la toxicidad del herbicida Roundup® en relación a POEA y al glifosato (Giesy y col., 2000; Tsui and Chu, 2003).

Otro herbicida ampliamente usado por los agricultores es el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), que posee moderada persistencia en el ambiente con una vida

media entre 20 y 200 días (USEPA, 1980b). Antes de su degradación, este biocida puede provocar efectos tóxicos como disminución de la supervivencia, alteración del crecimiento y reproducción de invertebrados acuáticos, principalmente en las formulaciones ésteres del herbicida (WHO, 1989). En el presente trabajo, la exposición al éster butílico del 2,4-D Herbifen Super[®] provocó a las 96 hs la muerte en los ejemplares con una mayor sensibilidad del camarón *P. argentinus* en relación al cangrejo *T. borellianus* (5,4 veces aproximadamente). A su vez, el incremento gradual del efecto letal en el camarón mostró una mayor diferencia entre las concentraciones letales. Estos crustáceos fueron más afectados por el 2,4-D que los cangrejos *Uca uruguayensis* y *Neohelice granulata* (*Chasmagnathus granulata*), y la langosta *Astacus leptodactylus* (Rodríguez y Amin, 1991; Rodríguez y Lombardo, 1991; Rodríguez y Monserrat, 1991; Benli y col., 2007). La variación observada en la sensibilidad de las especies puede atribuirse al menor tamaño de *P. argentinus* y *T. borellianus*, con la consiguiente mayor relación entre superficie de intercambio y volumen corporal por el cual se potencia el ingreso de contaminantes. Además, las alteraciones en el comportamiento de estos individuos expuestos a 2,4-D fueron registradas en otras especies de crustáceos, quienes indicaron movimientos incoordinados y respuesta lenta a estímulos mecánicos (Rodríguez y Lombardo, 1991).

Por otra parte, los resultados obtenidos en el presente trabajo indicaron una mayor toxicidad letal de los productos endosulfán Zebra Ciagro[®] y clorpirifós Terminator Ciagro[®] en comparación con los herbicidas mencionados anteriormente. La sensibilidad de *P. argentinus* y *T. borellianus* mostró además diferencias en el efecto tóxico entre los insecticidas, con una elevada toxicidad de clorpirifós en relación a endosulfán (13:1 y 41:1, en cada especie respectivamente). Esta variación en la respuesta de los decápodos es coincidente con los antecedentes que ubican a los compuestos organofosforados como los plaguicidas de alto riesgo por su gran poder tóxico (Rose y col., 1999). En el anfípodo *Gammarus lacustris* y el camarón Koreano *Palaemon macrodactylus*, registraron también valores bajos de concentración letal de clorpirifós en relación a los determinados en endosulfán, con una variación de 53:1 y 68:1 entre los biocidas en cada especie (USEPA, 1980a, 1986).

La toxicidad letal de clorpirifós en *P. argentinus* ocurrió en una concentración menor que la registrada en *Daphnia magna* a las 48 hs (0,6 µg/L) (Moore y col., 1998). No obstante, las concentraciones letales de clorpirifós en el camarón *P. argentinus* y en el cangrejo *T. borellianus* fueron mayores que otras especies de crustáceos dulciacuícolas y marinos, como el camarón *Paratya australiensis* (0,28 µg/L), los anfípodos *Ampelisca abdita* y *Gammarus fasciatus* (0,16 y 0,32 µg/L) y la langosta *Orconectes pseudolimnaeus* (0,18 µg/L) (USEPA,

1986; Olima y Pablo, 1997). De igual manera, las concentraciones letales medias de endosulfán determinadas en el presente trabajo resultan mayores que las registradas en los camarones *Macrobrachium malcolmsonii* (0,16 µg/L) y *Palaemon macrodactylus* (17,1 µg/L) (Scott y col., 1999; Selvakumar y col., 2005). Además, los ejemplares juveniles de *P. argentinus* y *T. borellianus* tuvieron una sensibilidad menor en exposición a endosulfán que la registrada en el estadio larval del camarón *Palaemonetes pugio* (2,56 µg/L) (Key y col., 2003a), y en individuos adultos (0,62 µg/L) con diferencias entre machos y hembras (0,92 y 1,99 µg/L respectivamente) (Wirth y col., 2001, 2002). Esta variación en los valores letales en algunos crustáceos decápodos muestran distintos niveles de tolerancia a la toxicidad de clorpirifós y endosulfán, donde *P. argentinus* y *T. borellianus* poseen una relativamente alta resistencia dada posiblemente por características ontogénicas o a mecanismos de detoxificación.

Como consecuencia de la actividad agrícola, las comunidades acuáticas resultan seriamente afectadas también por el ingreso de fungicidas como es el caso de carbendazim (Cuppen y col., 2000). La toxicidad letal de este biocida en los organismos acuáticos presenta grandes variaciones según la sensibilidad de las especies, tal es el caso de la respuesta observada en los decápodos *P. argentinus* y *T. borellianus* en exposición a carbendazim Flow Thin 50[®] y a la mezcla carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®]. Si bien los productos afectaron al camarón provocando un efecto letal inmediato, el cangrejo mostró una alta tolerancia durante la exposición. Esto puede atribuirse a las variaciones en la morfología general de los crustáceos decápodos entre ellas la calcificación de la cutícula, permeabilidad del tegumento, y característica de las cámaras respiratorias con una mayor o menor regulación de agua, las que posiblemente influyan en la entrada de las sustancias tóxicas al organismo durante la exposición. Además, los valores de concentración letal media de carbendazim indican una menor sensibilidad del camarón en relación a *Daphnia magna* (CL₅₀-48 hs: 460 µg/L) y el pez *Oncorhynchus mykiss* (CL₅₀-96 hs: 370 µg/L) (Canton, 1976; Palawski y Knowles, 1986).

En el presente trabajo, los ensayos letales agudos realizados permitieron determinar la toxicidad letal de algunos agroquímicos de mayor uso en Argentina y el mundo sobre especies de crustáceos decápodos autóctonos, identificando el nivel de tolerancia a cada biocida mediante la respuesta observada en las concentraciones evaluadas. En estas experiencias el camarón *P. argentinus* y el cangrejo *T. borellianus* mostraron ser sensibles a la exposición a los agroquímicos de diferente clasificación toxicológica tales como Ib (endosulfán), II (clorpirifós), III (2,4-D) y IV (glifosato y carbendazim). Por otra parte, se sabe que durante la exposición tóxica a una sustancia, en el organismo pueden afectarse distintos órganos blancos

específicos y/o relacionarse con alteraciones en ciertas funciones fisiológicas vitales como son el consumo de oxígeno y la excreción de amonio.

La mayoría de los agroquímicos evaluados afectó el consumo de oxígeno de los ejemplares de *P. argentinus* y *T. borellianus* durante el tiempo de ensayo. En la exposición al glifosato Roundup® el consumo de oxígeno disminuyó, principalmente en los decápodos en las concentraciones inferiores del biocida. La menor reducción del consumo de oxígeno registrada en el tratamiento mayor del herbicida pudo deberse al comportamiento activo observado en los animales durante el tiempo de ensayo, los que nadaron y caminaron dentro de la cámara respirométrica con una mayor demanda energética. Sin embargo, a pesar de este aumento en la actividad motora de los individuos, los resultados obtenidos sugieren un modo de acción del herbicida diferente de los antecedentes existentes. Según algunos estudios, el glifosato Roundup® provoca una menor actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) en tejido cerebral y muscular de los peces *Leporinus obtusidens* y *Rhamdia quelen* (Gluszczak y col., 2006, 2007). A su vez, estos autores atribuyeron la reducción de la enzima AChE a la toxicidad del surfactante POEA del producto comercial Roundup®.

Además, el glifosato redujo la actividad respiratoria en todo el rango de talla utilizado de *P. argentinus* y *T. borellianus*. Este mismo efecto fue observado en los individuos colocados en los tratamientos con 2,4-D Herbifen Super®, siendo marcada la reducción del consumo de oxígeno principalmente en los cangrejos. La exposición aguda a 2,4-D provocó una respuesta similar en el consumo de oxígeno del cangrejo *Neohelice granulata* (*Chasmagnathus granulata*) (Rodríguez y Monserrat, 1991). Los autores indicaron además, que esta respuesta es coherente con el modo de acción tóxica descrita para este herbicida, el que inhibiría ciertas enzimas del ciclo de Krebs. En coincidencia con los antecedentes y a partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo puede interpretarse la acción del herbicida a partir de la posible inhibición de la coenzima A que es el nexo entre la oxidación del ácido pirúvico y el ciclo de Krebs.

Por otra parte, los insecticidas ensosulfán Zebra Ciagro® y clorpirifós Terminator Ciagro® incrementaron la demanda de oxígeno del camarón *P. argentinus* y cangrejo *T. borellianus*. Estos valores altos de consumo de oxígeno sugieren un aumento en la actividad metabólica de los individuos con un elevado requerimiento energético. Además, los decápodos mostraron un consumo de oxígeno alto en toda la población utilizada con un efecto más marcado en los ejemplares de mayor tamaño. Las alteraciones ocurridas en los decápodos podrían estar relacionadas con el modo de acción de los insecticidas y su efecto tóxico inhibitorio sobre la enzima AchE, quien está encargada del control de la acetilcolina (Ach)

(WHO, 1986; Saravana Bhavan y Geraldine, 2001; Key y col., 2003b; Xuereb y col., 2007). La inhibición de la acetilcolinesterasa en tejidos musculares y cerebrales de los organismos es aceptado como un efecto adverso de gran importancia dada la función de la enzima (Fernández-Vega y col., 2002).

La acetilcolina es un neurotransmisor que está ampliamente distribuido en el sistema nervioso de los crustáceos, actuando en las transmisiones de los estímulos de las fibras nerviosas sensoriales y en ciertas conjunciones neuromusculares (Wolvekamp y Waterman, 1960; Atwood, 1982). En la exposición de *P. argentinus* y *T. borellianus* a endosulfán y clorpirifós, la inhibición tóxica de la enzima AchE ocasionaría una continuidad del impulso nervioso con una prolongada contracción de los músculos esqueléticos y del ritmo respiratorio. En las cámaras respirométricas estos decápodos alternaron estados de aparente tranquilidad y momentos prolongados de excitación con una natación persistente y movimientos bruscos de apéndices locomotores. Además con el aumento en el tiempo de exposición algunos cangrejos quedaron en posición dorsoventral moviendo los pereiópodos y sin poder retomar la posición normal. Existen antecedentes de comportamientos anormales en el camarón *Macrobrachium malcolmsonii* producidos por la exposición a endosulfán, como movimientos espasmódicos, saltos frecuentes, natación errática, convulsiones, y una tendencia a escapar del acuario (Bhavan y col., 1997; Saravana Bhavan y Geraldine, 2001). Otros autores también indicaron alteraciones en el comportamiento y metabolismo basal del camarón *Palaemonetes pugio* provocados por endosulfán (Berg y Sandifer, 1984). Por otra parte, en exposición a clorpirifós registraron similares alteraciones motoras con variaciones en el metabolismo por interferencia de la transmisión nerviosa en *P. intermedius* y en especies de anfibios (Berg y Sandifer, 1984; Key y col., 2003a, b; Lajmanovich y col., 2004).

En otras investigaciones, los decápodos *P. argentinus* y *T. borellianus* incrementaron el consumo de oxígeno asociado a una fase de hiperactividad por exposición a otro insecticida como el piretroide cipermetrina (Williner y Collins, 2003; Collins y Cappello, 2006). Además, algunos cambios en vías metabólicas y requerimientos energéticos pueden atribuirse a actividades asociadas a la remoción de tóxicos en el hepatopancreas durante la recuperación de los animales expuestos a alta toxicidad (Collins y Cappello, 2006).

Otro biocida considerado inhibidor de la actividad de la enzima AchE es el fungicida carbendazim (Cuppen y col., 2000). El modo de acción del biocida puede relacionarse con un elevado consumo de oxígeno inicial del camarón en exposición a los fungicidas carbendazim Flow Thin 50[®] y carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®]. Sin embargo, la rápida reducción de los consumos observados posteriormente en los camarones indica una reducción de la

actividad metabólica de los individuos posiblemente atribuida a una acción inespecífica de estos compuestos (Lim y Miller, 1997; Correa y col., 2002).

Por otra parte, el potencial nocivo de un biocida puede provocar en el organismo diferentes alteraciones metabólicas que modifiquen la normal excreción de productos nitrogenados (Newman y Unger, 2003). Comúnmente, los elementos nitrogenados como amonio son formados como productos finales del catabolismo principalmente de aminoácidos originarios de los alimentos o músculos, dependiendo del estado nutricional (Mayzaud y Conover, 1988). En relación a esto, la toxicidad de los agroquímicos fue evaluada como resultado de la interacción entre el biocida y el sistema biológico (Ronco y col., 2004). Las variaciones observadas en la excreción pueden atribuirse a la acción tóxica de los biocida sobre el normal funcionamiento de las glándulas antenales y la eliminación a través del epitelio de las branquias (Martin y col., 2000). En relación a esto, en el camarón *Macrobrachium malcolmsonii* observaron la “secreción de moco” sobre las cámaras branquiales provocadas por exposición a endosulfán (Saravana Bhavan y Geraldine, 2001).

El incremento de la actividad excretora de *T. borellianus* inducido por biocidas como clorpirifós, puede relacionarse a un mayor catabolismo de aminoácidos o de compuestos nitrogenados (Mente, 2003). Además, la eliminación de amonio a través de las branquias y de las glándulas antenales pudo favorecerse por el aumento de la actividad motora de los cangrejos durante la exposición al insecticida neurotóxico. Este cangrejo también registró un incremento de la excreción de amonio en concentraciones del insecticida cipermetrina (Williner y Collins, 2003).

Además, la combinación del consumo de oxígeno y la excreción de elementos nitrogenados en animales acuáticos permitió interpretar la actividad metabólica a través del índice O:N (Conover y Corner, 1968). Según estos autores, la razón atómica O:N parte del principio de que la energía que es utilizada en la producción de ATP proviene de los carbohidratos, lípidos y proteínas. Este modelo se sustenta en el hecho de que el catabolismo de estos sustratos necesita diferentes cantidades de oxígeno (1 g de proteína requiere 0,94 L de oxígeno, mientras que 1 g de lípido requiere 2,04 L de oxígeno), según la forma en que son canalizados al ciclo de Krebs. Así como también, que el amonio representa el principal producto en la excreción de elementos nitrogenados. De esta manera la relación entre el oxígeno consumido y el nitrógeno excretado indica la cantidad de sustrato degradado en el organismo.

En este contexto, la razón O:N resulta una medición directa que refleja los requerimientos energéticos según variables internas y externas. Claramente, cualquier variable

que provoque una modificación en la combinación de los procesos metabólicos de consumo de oxígeno y excreción de amonio puede causar un cambio en la relación atómica O:N (Mayzaud y Conover, 1988). En la descripción del metabolismo del zooplancton, estos autores establecieron límites teóricos de la razón atómica O:N. Los valores entre 3 y 16 representan el catabolismo de proteínas, valores entre 17 y 50 representan una mezcla de proteínas y lípidos, valores entre 50 y 60 cantidades equivalentes de proteínas y lípidos, mientras que valores superiores a 60 indican el uso de lípidos y carbohidratos.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la relación atómica O:N en el camarón *P. argentinus* correspondiente al grupo control exhibió un metabolismo que emplea una mezcla principalmente de lípidos y algunas proteínas. Mientras que el metabolismo del cangrejo *T. borellianus* indicó un uso de carbohidratos y lípidos como fuente de energía. Estos valores de índice metabólico variaron con el efecto tóxico de distintos agroquímicos. En el caso de los herbicidas, el camarón mostró un predominio catabólico de lípidos y carbohidratos expuesto al glifosato Roundup[®], mientras que en 2,4-D Herbifen Super[®] utilizó lípidos y proteínas.

Además, la exposición a los insecticidas endosulfán Zebra Ciagro[®] y clorpirifós Terminator Ciagro[®] registró bajos valores en la relación atómica O:N del camarón *P. argentinus*, indicando un catabolismo proteico importante con fines energéticos. En el cangrejo *T. borellianus*, esta relación atómica sugirió el uso de carbohidratos y lípidos en las concentraciones menores de endosulfán y clorpirifós, mientras que en los tratamientos mayores de los biocidas correspondió a una mezcla de proteínas y lípidos. En cuanto a carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®], el consumo de energía de *P. argentinus* provendría del catabolismo de lípidos, carbohidratos y proteínas. Los resultados obtenidos sugieren que la relación entre el oxígeno consumido y el nitrógeno (amonio) excretado puede ser usada como una herramienta en la evaluación de alteraciones fisiológicas y en la disrupción del balance energético asociado directamente a la exposición tóxica de los biocidas.

El uso de proteínas como principal fuente de energía es indicativo de la existencia de un estado adverso en el organismo (Schmidt-Nielsen, 1997). Entre las escasas publicaciones existentes sobre la evaluación del metabolismo energético de crustáceos en exposición a agroquímicos, Berg y Sandifer (1984) indicó un uso importante de proteínas y en menor caso de lípidos como sustrato energético en larvas y adultos del camarón *Palaemonetes pugio* en exposición a clorpirifós y endosulfán. Otro insecticida como el paratión causó un efecto similar en el metabolismo del cangrejo *Neohelice granulata* (*Chasmagnathus granulata*) (Rodríguez y Monserrat, 1991).

Por otra parte, los ensayos crónicos desarrollados en laboratorio permitieron el estudio del incremento en talla y del período de intermuda propios del crecimiento del camarón *P. argentinus* y del cangrejo *T. borellianus*, durante ciclos de muda consecutivos. En los ejemplares mantenidos en los controles ambos parámetros variaron con la edad reduciendo el incremento en cada muda y aumentando la longitud de las intermundas. Este crecimiento coincide con el observado durante la etapa juvenil de muchas especies de crustáceos tanto en Cladocera (*Daphnia magna* y *Daphnia pulex*), Copepoda (*Pseudoboeckella silvestri*), Amphipoda (*Gammarus duebent* y *Pseudoprotella plasma*) y Decapoda (*Cancer pagurus*, *C. magister*, *Carcinus maenas*, *C. mediterraneus*, *Homarus americanus*, *Maja squinado*, *Pachygrapsus crassipes* y *Pisa tetraodon*) (Kurata, 1962; Hartnoll, 1982; Botsford, 1985).

Sin embargo, el crecimiento del camarón *P. argentinus* y del cangrejo *T. borellianus* fue afectado por la toxicidad de los diferentes agroquímicos ensayados, con importantes variaciones en el incremento en talla y períodos de intermuda. El elevado incremento en talla del cangrejo en exposición al herbicida glifosato Roundup[®], sugiere una alta demanda en el uso de los recursos como son las proteínas para la formación de nuevos tejidos. Un efecto similar fue observado en el caracol *Pseudosuccinea columella* donde la exposición al glifosato Roundup[®] estimuló el desarrollo de tejidos con un incremento en el crecimiento (Tate y col., 1997). Por otra parte, los insecticidas endosulfán Zebra Ciagro[®] y clorpirifós Terminator Ciagro[®] en general redujeron el crecimiento en talla, con aumento en la duración de los períodos de intermuda. Esta alteración en los parámetros de crecimiento fue observada en este mismo camarón, *P. argentinus*, en diferentes concentraciones de cipermetrina (Collins y Cappello, 2006). Además en la literatura, existe evidencia de que crustáceos expuestos a poluentes no metálicos inhibieron la ecdisis y prolongaron la duración del ciclo de muda (Fingerman, 1985). Una explicación posible de la variación en los períodos de intermuda de los decápodos en el presente trabajo puede atribuirse a la acción tóxica de los biocidas sobre centros neurohormonales que controlan el ciclo de muda. Posiblemente, en estos son afectados la hormona 20-OH-ecdisona o la glándula Y, o la secreción de la hormona inhibidora de la muda del complejo glándula del seno-órgano X (Bellon-Humbert y col. 1981).

Las perturbaciones ocurridas en el crecimiento de estas especies de crustáceos, indican una cierta relación entre el sistema endocrino y la acción tóxica de los biocidas sobre la enzima AchE. Además, las concentraciones ensayadas también provocaron la muerte de los ejemplares durante el momento de ecdisis, cuando la eliminación del viejo exoesqueleto es antecedida por la absorción de líquido del medio externo en la extensión de la nueva cutícula.

Esta mortalidad de *P. argentinus* y *T. borellianus* provocada por los agroquímicos durante la exposición crónica, mostró que a pesar de los valores determinados de CL_{50} en las especies el efecto letal de los biocidas continuó con el tiempo de exposición en concentraciones muy inferiores a las $CL_{50-96hs}$. Este hecho, y los efectos nocivos estudiados por medio de los ensayos de laboratorio indican niveles de peligrosidad trasladables y asimilables a poblaciones de los sistemas naturales (Ronco y col., 2004). En este sentido, un contaminante que además de la toxicidad letal sobre los organismos, tenga en concentraciones reducidas un efecto tóxico que retarde su crecimiento o disminuya su capacidad reproductiva puede tener un considerable impacto ecológico.

Como complemento de la información obtenida en laboratorio, el desarrollo de experiencias a mesocosmos proporcionó un mayor conocimiento acerca de la incidencia de los agroquímicos sobre los decápodos en la proyección de resultados experimentales al ecosistema. En estos ensayos, la toxicidad de los agroquímicos fue evaluada mediante lagunas artificiales simulando ambientes naturales lénticos, considerados un sistema experimental apropiado para el estudio de la exposición de los organismos a la acción tóxica de los biocidas (Ravera, 1989; Buikema y Voshell, 1993). La exposición a los formulados agroquímicos aplicados produjo la reducción de la supervivencia de las poblaciones de *P. argentinus* y *T. borellianus* en los 5 días de ensayo. Cabe destacar la respuesta inmediata de estas especies de decápodos frente a la exposición de los insecticidas endosulfán Zebra Ciagro[®] y clorpirifós Terminator Ciagro[®], donde las concentraciones aplicadas (con producto activo detectado: 90 $\mu\text{g/L}$ y 34 $\mu\text{g/L}$ de α y β endosulfán, y 352 $\mu\text{g/L}$ de clorpirifós) resultaron letales a casi la totalidad de los individuos. En estos ensayos, el camarón *P. argentinus* exhibió en general una mayor respuesta al efecto letal de los biocidas en el comparación con el cangrejo *T. borellianus*. Una respuesta letal inmediata fue también observada en el camarón *Macrobrachium borellii* y el anfípodo *Hyaella curvispina* colocados en limnocorrales en ambientes tributarios del río Arrecifes (provincia de Buenos Aires), donde la exposición de los insecticidas clorpirifós (150 $\mu\text{g/L}$) y α y β endosulfán (7,8 $\mu\text{g/L}$) en agua y sedimento de deriva durante eventos de lluvia provocó la mortalidad del 60 al 100% en estos crustáceos (Jergentz y col., 2004).

Por otra parte, sólo en algunos casos como en 2,4-D y carbendazim-tiram fueron observadas diferencias en la mortalidad de *P. argentinus* y *T. borellianus* con la ubicación de las jaulas en las lagunas, debido a la exposición a los tóxicos en solución en la columna de agua. No obstante, la elevada cantidad de muertes entre los decápodos registrada luego de las aplicaciones de los agroquímicos indicó la gran toxicidad de las concentraciones usadas de

cada xenobiótico, considerando que éstas son habitualmente recomendadas a los productores agropecuarios. Estas concentraciones aplicadas en los mesocosmos superaron los niveles máximos establecidos por USEPA (1980a, 1986) como criterio de calidad de agua y protección de la vida acuática de agua dulce, considerados de 0,22 µg/L de endosulfán y 0,04 µg/L de clorpirifós. No obstante, las concentraciones recomendadas para las aplicaciones de 2,4-D y usadas en el mesocosmos resultan ser inferiores al valor máximo aceptable de este herbicida en el agua (50 mg/L) (USEPA, 1980b). En el caso de carbendazim, no existen datos registrados sobre la vigilancia de este fungicida en el medio ambiente (WHO, 1993).

Un aspecto importante a tener en cuenta es la toxicidad de los surfactantes en los formulados comerciales de los biocidas, como el POEA (polioxietilen amina) presente en el formulado glifosato Roundup®. El efecto tóxico del POEA puede variar según ciertas características químicas del ambiente, en el caso de un pH ácido o neutro este surfactante está en forma catiónica, y a pH alcalino de manera no iónica. La condición no iónica del compuesto podría generar una mayor toxicidad en los organismos, principalmente por disrupción no específica a nivel de membrana (Tsui y Chu, 2003; Ostroumov, 2005). La alcalinidad del agua de los mesocosmos, característica que en general presentan los arroyos y lagunas de la región, posiblemente aumentó la toxicidad del POEA contribuyendo al mayor efecto letal del biocida. Del mismo modo en ensayos a campo con glifosato Roundup® Max, Sobrero y col. (2007a) indicaron variaciones en la respuesta de la lemnácea *Lemna gibba* atribuida a la mayor toxicidad del surfactante POEA asociada a la alcalinidad del ambiente.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los ensayos a mesocosmos, *P. argentinus* y *T. borellianus* mostraron una mayor sensibilidad a los agroquímicos en relación a la respuesta observada en los estudios letales agudos en el laboratorio. Esta variación posiblemente corresponda a la incidencia de distintos factores ambientales sobre los organismos, incrementando la vulnerabilidad de los mismos a los compuestos químicos. Además, el camarón exhibió alteraciones en el consumo de oxígeno, excreción de amonio y crecimiento en concentraciones muy inferiores a los límites máximos permitidos de endosulfán, clorpirifós y 2,4-D (USEPA, 1980a y b, 1986). Por tal motivo, los ensayos biológicos realizados en el presente trabajo pretenden ser herramientas de diagnóstico que contribuyan en la determinación de los efectos de los biocidas, y posibiliten establecer límites de permisibilidad más ajustados para los agroquímicos evaluados sobre las comunidades acuáticas. Esto resulta de gran prioridad cuando se trata de compuestos que poseen alta toxicidad aguda y elevada persistencia en el ambiente.

Los productos agroquímicos evaluados en los distintos ensayos mostraron diferentes niveles de toxicidad relativa en los organismos expuestos, siendo el camarón *P. argentinus* mayormente afectado en relación al cangrejo *T. borellianus*. Entre los xenobióticos, si bien el fungicida carbendazim Flow Thin 50[®] provocó alteraciones en los parámetros metabólicos y de crecimiento de las especies de decápodos, este mostró menor toxicidad en relación a la mezcla comercial carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®]. Por otra parte, el herbicida glifosato Roundup[®] presentó menor toxicidad letal aguda que el éster butílico del ácido 2,4-D Herbifen Super[®], aunque fueron observados importantes efectos adversos sobre el consumo de oxígeno y excreción de amonio así como en el crecimiento de los individuos expuestos. Los insecticidas endosulfán Zebra Ciagro[®] y clorpirifós Terminator Ciagro[®] fueron los agroquímicos que ejercieron mayor poder nocivo entre los biocidas usados, siendo clorpirifós Terminator Ciagro[®] el producto de más alto nivel de toxicidad determinado en ambas especies de crustáceos. De esta manera, la diferencia observada en el efecto tóxico de los biocidas correspondió con la Clase Toxicológica (I - IV) a la que fueron incluidos los agroquímicos en la regulación del etiquetado de los mismos (Tabla 1) (García Araya y Don, 2002; WHO, 2004a). Además, el estudio de la toxicidad de los xenobióticos sobre los decápodos permite comparar los productos en relación a la Clasificación Ecotoxicológica propuesta por USEPA (1994b) para invertebrados de agua dulce (Tabla 51).

Tabla 51. Clasificación Ecotoxicológica de los plaguicidas según la toxicidad aguda de los compuestos (USEPA, 1994b).

| Clases Ecotoxicológicas | Toxicidad aguda (mg/L) |
|--------------------------------|------------------------|
| No Tóxico | > 100 |
| Ligeramente Tóxico | 10 – 100 |
| Moderadamente Tóxico | 1 – 10 |
| Altamente Tóxico | 0,1 – 1 |
| Muy Altamente Tóxico | < 0,1 |

Dicha clasificación, es utilizada por algunos países en el análisis del riesgo ambiental que resulta del uso de los agroquímicos y las concentraciones recomendadas en las

aplicaciones agrícolas. Según los efectos agudos registrados por los productos usados, el herbicida glifosato Roundup[®] corresponde a la primera clase de menor toxicidad (No Tóxico), seguido del éster butílico del ácido 2,4-D Herbifen Super[®] y el fungicida carbendazim Flow Thin 50[®] (Ligeramente o Moderadamente Tóxico), la mezcla comercial carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] (Altamente Tóxica) y finalmente los insecticidas endosulfán Zebra Ciagro[®] y clorpirifós Terminator Ciagro[®] (Muy Altamente Tóxico).

Por otra parte los objetivos planteados inicialmente, fueron concretados con el propósito de ser un aporte de importancia en la evaluación del grado de toxicidad de ciertos agroquímicos sobre estadios críticos de la vida de especies de crustáceos continentales. Los ejemplares juveniles del camarón *P. argentinus* y el cangrejo *T. borellianus* mostraron ser sensibles frente a la toxicidad de los biocidas durante la exposición aguda y crónica. Además presentan alta disponibilidad y abundancia siendo especies representativas de la fauna autóctona de los ecosistemas acuáticos, donde desempeñan un rol fundamental en el flujo de materia y energía. Son especies de fácil obtención y mantenimiento en cautiverio, por lo que pueden ser consideradas organismos de prueba en ensayos de laboratorio y experiencias a nivel de mesocosmos para la evaluación de la toxicidad de contaminantes ambientales en agua y sedimentos.

No obstante es necesario incluir en trabajos futuros, una caracterización más acabada del impacto que provoca no sólo el ingreso de biocidas a los ambientes acuáticos a través de aplicaciones directas, sino también la evaluación del impacto por deriva a nivel de mesocosmos, en campo y en condiciones controladas de laboratorio. Cabe mencionar además, la necesidad de evaluar los efectos tóxicos de los contaminantes a otros niveles biológicos como histológicos y bioquímicos, así como en la reproducción y comportamiento, y acumulación potencial de los compuestos liposolubles en la biota que permitan la interpretación de los mecanismos de acción tóxica de los biocidas.

Por otra parte, dada la diversidad de productos fitosanitarios utilizados en los diferentes cultivos, resulta necesario evaluar tanto los plaguicidas como los coadyuvantes y las diferentes mezclas, teniendo en cuenta la interacción de los productos y la generación de sinergismos o antagonismos. El estudio de la toxicidad de estos xenobióticos es de especial interés de manera de poder controlar sus emisiones al medio y el destino de los mismos, como así también conocer los efectos adversos que ellos causan en las restantes especies autóctonas. Esto genera información sobre los cambios biológicos ocurridos por las sustancias xenobióticas y estimula la toma de medidas de manejo adecuadas de estos productos en vías de reducir los efectos agresivos y preservar la vida acuática.

El estudio de la incidencia de los agroquímicos puede considerarse en la comparación con situaciones de riesgo que involucren aspectos similares en regiones de gran actividad productiva que incluya la aplicación de estos biocidas. Mediante un proceso evaluativo del riesgo que tenga además de la obtención de datos toxicológicos, el análisis social, político y económico del uso de productos químicos, desarrollo tecnológico e implementación de una regulación en beneficio de la salud ambiental en la que está incluido el hombre.

Conclusiones

7. Conclusiones

En los ensayos agudos, el herbicida glifosato Roundup® provocó un efecto letal inmediato en el camarón *P. argentinus* (CL₅₀-96hs: 141,000 ± 0,051 mg/L), mientras que en el cangrejo *T. borellianus* este biocida registró mortalidad después de 48 hs de exposición (CL₅₀-96hs: 138,000 ± 0,001 mg/L). El éster butílico del ácido 2,4-D Herbifen Super® afectó la supervivencia del camarón *P. argentinus* en forma gradual en el transcurso del tiempo (CL₅₀-96hs: 7,137 ± 1,451 mg/L), a diferencia del efecto letal inmediato en el cangrejo *T. borellianus* (CL₅₀-96hs: 38,373 ± 0,664 mg/L). Por otra parte, la exposición a los herbicidas glifosato Roundup® y 2,4-D Herbifen Super® provocó una reducción del consumo de oxígeno de ambos decápodos, principalmente en los tratamientos menores de los biocidas, y una reducción de la excreción de amonio de *P. argentinus*. En la exposición crónica, la toxicidad del glifosato Roundup® indujo un crecimiento alométrico negativo en *P. argentinus* e isométrico en *T. borellianus*. Mientras que en 2,4-D Herbifen Super® el crecimiento fue en general isométrico en ambos decápodos. Los períodos de intermuda fueron reducidos en el camarón e incrementados en el cangrejo por efecto de los herbicidas.

Ambos decápodos mostraron una respuesta inmediata a la exposición aguda a los insecticidas endosulfán Zebra Ciagro® y clorpirifós Terminator Ciagro®, con valores de CL₅₀-96hs en endosulfán de 6,144 ± 1,764 µg/L en *P. argentinus* y 1860,758 ± 78,297 µg/L en *T. borellianus*, mientras que en clorpirifós de 0,475 ± 0,235 µg/L en el camarón, y 45,532 ± 0,384 µg/L en el cangrejo. Endosulfán Zebra Ciagro® afectó el consumo de oxígeno de *P. argentinus* en exposición a concentraciones superiores al valor de CL₅₀-24hs, mientras que el cangrejo *T. borellianus* incrementó el consumo en todas las concentraciones de endosulfán. El insecticida clorpirifós Terminator Ciagro® provocó variaciones en el consumo de oxígeno de *T. borellianus* en todos los tratamientos, a diferencia del camarón que sólo modificó el consumo en la concentración menor del biocida. La excreción de amonio de *P. argentinus* y *T. borellianus* incrementó en las concentraciones mayores de endosulfán. Mientras que la toxicidad de clorpirifós provocó un efecto contrario en la excreción de amonio de ambos decápodos, con una disminución de la excreción en el camarón y un aumento en el cangrejo. Por otra parte, la exposición a los insecticidas endosulfán Zebra Ciagro® y clorpirifós Terminator Ciagro®, provocó un crecimiento isométrico en el camarón a diferencia del

cangrejo cuyo incremento fue alométrico negativo. Además, ambos insecticidas aumentaron la duración de las intermudas de ambas especies.

La toxicidad letal de los productos carbendazim Flow Thin 50[®] y carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] provocaron una respuesta inmediata del camarón *P. argentinus*, cuyos valores de CL₅₀-96hs fue de 0,065 ± 0,012 g/L y 0,378 ± 0,043 mg/L determinado en cada producto respectivamente. Ambos productos incrementaron significativamente el consumo de oxígeno del camarón. Mientras que la excreción de amonio del camarón disminuyó al incrementar la concentración del fungicida carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®]. Por otra parte, la exposición a los fungicidas carbendazim Flow Thin 50[®] y carbendazim-tiram Flow Thin 15-35[®] produjo incrementos en la talla de *P. argentinus* con variaciones entre los tratamientos, y prolongaron la duración de las intermudas.

En los mesocosmos ambos decápodos mostraron mayor sensibilidad a los agroquímicos que la observada en las exposiciones letales agudas en laboratorio. Además, la especie *P. argentinus* fue la más afectada por la toxicidad letal de los biocidas que *T. borellianus*.

El presente trabajo constituye un aporte de importancia en la interpretación de la toxicidad de algunos agroquímicos de gran uso en especies de crustáceos representativas de los ecosistemas acuáticos autóctonos. Los resultados obtenidos serán un punto de inicio a futuros estudios de manera de poder describir los posibles mecanismos de acción de estos biocidas y la variación de la respuesta observada en los organismos.

Referencias bibliográficas

8. Referencias bibliográficas

- Alvarado, L. (1998) *Gestión racional de Plaguicidas en Argentina*. En: *Dialogo L. Racionalización del Uso de Pesticidas en el Cono Sur. Programa Cooperativo para el Desarrollo Tecnológico Agropecuario del Cono Sur (PROCISUR)*. (Ed.: Stachetti Rodríguez, G.) Subprograma Recursos Naturales y Sostenibilidad Agrícola. IICA. Montevideo, Uruguay.
- APHA (American Public Health Association) (1985) *Standard Methods for the Examination of Water and Waster Water*. 16th edition, American Public Health Association, Washington, DC.
- Asinari, Z.; Jose de Paggi, S.B. y Collins, P. *Efectos de agroquímicos sobre Daphnia magna Strauss y Moina minuta Hansen: un análisis comparativo*. IV Jornada Científica del AUGM (grupo de Universidades Montevideo) sobre Medio Ambiente, 2001, Campinas.
- Atwood, H.L. (1982) *Synapses and neurotransmitters*. En: *The Biology of Crustacea*. (Ed.: Bliss, D.) Vol. 3. Academic Press, New York, p: 105-150.
- Bailey, G.W. y White, J.L. (1970) *Factors influencing the adsorption, desorption and movement of pesticides in soil*. Residue Reviews, New York. 32: 29-92.
- Beltzer, A. (1983a) *Alimentación de la "garcita azulada" (Butorides striatus) en el valle aluvial del río Paraná Medio (Ciconiiformes: Ardeidae)*. Rev. Hydrobiol. Trop. 16: 203-206.
- Beltzer, A.H. (1983b) *Nota sobre fidelidad y participación trófica del "Biguá común" (Phalacrocorax olivaceus) en ambientes del río Paraná medio (Pelecaniformes: Phalacrocoracidae)*. Rev. Asoc. Cienc. Nat. Lit. 14 (2): 111-114.
- Beltzer, A.H. (1984) *Ecología alimentaria de Aramides ypecaha (Aves: Rallidae) en el valle aluvial del río Paraná Medio (Argentina)*. Rev. Asoc. Cienc. Nat. Lit. 16 (1): 73-83.
- Beltzer, A.H. y Paporello, G. (1984) *Alimentación de aves en el valle aluvial del río Paraná. IV Agelaius cyanopus cyanopus Vieillot, 1819 (Passeriformes: Icteridae)*. Iheringia, Ser. Zool. 62: 55-60.
- Bellon-Humbert, C.; Van Herp, F.; Strolenberg, M. y Denuce, J. (1981) *Histological and physiological aspects of the medulla externa X organ, a neurosecretory cell group in the eyestalk of Palaemon serratus Pennant (Crustacea, Decapoda, Natantia)*. Biol. Bull. 160: 11-30.

- Benli, A.K.; Sarikkaya, R.; Sepici-Dincel, A.; Selvi, M.; Sahin, D. y Erkoç, F. (2007) *Investigation of acute toxicity of (2,4-dichlorophenoxy)acetic acid (2,4-D) herbicide on crayfish (Astacus leptodactylus Esch. 1823)*. Pest. Biochem. Physiol. 88: 296-299.
- Berg, A.V. y Sandifer, P.A. (1984) *Mating behavior of the grass shrimp Palaemonetes pugio Holthuis (Decapoda, Caridea)*. J. Crust. Biol. 4: 417-424.
- Bhavan, P.; Zayapragassarazan, Z. y Geraldine, P. (1997) *Acute toxicity tests of endosulfan and carbaryl for the freshwater prawn, Macrobrachium malcolmsonii (H. Milne Edwards)*. Poll. Res. 16 (1): 5-7.
- Bhavan, P. y Geraldine, P. (2001) *Biochemical Stress Responses in Tissues of the Prawn Macrobrachium malcolmsonii on Exposure to Endosulfan*. Pestic. Biochem. Physiol. 70: 27-41.
- Bianchini, J.J. y Delupi, L.H. (1993) *Mammalia*. In *Ageitos de Castellanos Z (dir.) Fauna de Agua Dulce de la República Argentina*. Vol. 44 (2) (actualización). PROFADU, Buenos Aires, p: 1-79.
- Blackburn, I. y Boutin, C. (2003) *Subtle effects of herbicide use in the context of genetically modified crops: A case study with glyphosate (Roundup®)*. Ecotoxocol. 12: 271-285.
- Bó, N.A. y Darrieu, C.A. (1993) *Aves ciconiformes*. In *Ageitos de Castellanos, Z. (dir.) Fauna de Agua Dulce de la República Argentina*. Vol. 43 (1B). PROFADU, Buenos Aires, p: 1-59.
- Bonetto, A.A.; Pignalberi, C. y Cordiviola, E. (1963) *Ecología alimentaria del amarillo y moncholo, Pimelodus clarias (Bloch) y Pimelodus albicans (Valenciennes) (Pisces, Pimelodidae)*. Physis 24 (67): 87-94.
- Bonetto, A.A. y Wais, I.R. (1995) *Southern South American streams and rivers*. En: *Ecosystems of the World. 22. River and stream ecosystems* (Eds.: Cushing, C.E.; Cummins, K.W. y Minshall, G.W.) Elsevier, Amsterdam, Países Bajos, p: 257- 293.
- Boschi, E.E. (1981) *Decapoda Natantia. Fauna de Agua Dulce de la República Argentina*. FECIC (Fundación para la Educación, la Ciencia y la Cultura), Buenos Aires, pp: 7- 61.
- Botsford, L.W. (1985) *Models of growth*. En: *Crustacean ISSUES 3. Factors in adult growth*. (Ed: Wenner, A.M.) A. A. Balkema Rotterdam, p: 171-188.
- Brausch, M.J. y Smith, N.P. (2007) *Toxicity of three polyethoxylated tallowamine surfactant formulations to laboratory and field collected fairy shrimp, Thamnocephalus platyurus*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 52: 217-221.

- Buikema, A.L. y Voshell, J.R. (1993) *Toxicity Studies Freshwater Benthic Macroinvertebrates*. En: *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. (Eds.: Rosenberg, D.M. y Resh, V.H.) Chapman & Hall Inc., New York, p: 488.
- Burns, L.A. y Baughman, G.L. (1985) *Fate Modeling*. En: *Fundamentals of aquatic toxicology. Methods and applications*. (Eds.: Rand, G.M. y Petrocelli, S.R.) Taylor & Francis Group, New York, p: 558-584.
- Cabrera, D.E.; Baiz, M.L.; Candia, C.R. y Christiansen, H.E. (1973) *Algunos aspectos biológicos de las especies de ictiofauna de la zona de Punta Lara (río de la Plata)*. 2ª parte. *Alimentación natural del bagre porteño (Parapimelodus valenciennesi)*. Armada Argentina, Serv. Hidrog. Naval H.1029, p: 7-47.
- Canton, J.H. (1976) *The toxicity of benomyl, thiophanate-methyl, and BCM to four freshwater organisms*. Bull. Environ. Toxicol., 16: 214-218.
- Capitanelli, R. (1992) *Geomorfología*. Ceyne, p: 126.
- CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes de la República Argentina) (2001) *Guía de productos fitosanitarios para la República Argentina*. Tomo I: *Generalidades-Herbicidas-Fertilizantes*. Tomo II: *Insecticidas-Fungicidas-Productos Varios*. p: 2240.
- CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes de la República Argentina) (2007) *Guía de productos fitosanitarios para la República Argentina*. Tomo I: *Generalidades-Herbicidas-Fertilizantes*. Tomo II: *Insecticidas-Fungicidas-Productos Varios*. p: 2248.
- Casco, S.L. (2004) *Distribución de la vegetación fluvial y su relación con el régimen de pulsos en el bajo Paraná*. En: *Temas de la Biodiversidad del Litoral fluvial argentino*. (Ed.: Aceñolaza, F.G.) INSUGEO, Miscelánea, 12: 125-130.
- Cerdeira, A.L. y Duke, S.O. (2006) *The Current Status and Environmental Impacts of Glyphosate-Resistant Crops: A Review*. J. Environ. Quality. 35 (5): 1633-1658.
- César, I.I.; Armendáriz, L.C.; Becerra, R.V. y Liberto, R. (2004) *Biodiversidad de Crustácea (Anostraca, Notostraca, Spinicaudata, Laevicaudata, Ostracoda, Amphipoda y Brachyura Trichodactylidae) de la Mesopotamia argentina*. En: *Temas de la Biodiversidad del Litoral fluvial argentino*. (Ed.: Aceñolaza, F.G.) INSUGEO, Miscelánea, 12: 247-252.
- Chen, X.X.; Chang, Y.L. y Yong, Y. (2008) *Effects of Cd and Zn on oxygen consumption and ammonia excretion in sipuncula (Phascolosoma esculenta)*. Ecotoxicol. Environ. Saf. doi. 10.1016/j.ecoenv.2007.11.019
- CIAFA (Cámara de la Industria Argentina de Fertilizantes y Agroquímicos) y CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes de la República Argentina) (2008)

Capítulo 2: Producción, Importación, Exportación y Uso de Sustancias Químicas.

Unid. Coord. Salud y Ambiente, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación. [Http://www.medioambiente.gov.ar](http://www.medioambiente.gov.ar)

- Clements, W.H. y Newman, M.C. (2002) *Community Ecotoxicology*. Hierarchical Ecotoxicology, Chichester, p: 336.
- Collins, P.A. (1995) *Variación diaria de la actividad trófica en una población del camarón Palaemonetes argentinus (Crustácea, Decápoda)*. Rev. Asoc. Cienc. Nat. Lit. 26 (1): 57-67.
- Collins, P.A. y Petriella, A. (1996) *Crecimiento y supervivencia del camarón Macrobrachium borellii (Decapoda: Palaemonidae) alimentado con dietas artificiales*. Neotropica 42: 3-8.
- Collins, P.A. (1997) *Ritmo diario de alimentación en el camarón Macrobrachium borellii (Decapoda, Palaemonidae)*. Iheringia, Sér. Zool., Porto Alegre (82): 19- 24.
- Collins, P.A. (1998) *Laboratory evaluation of the freshwater prawn, Macrobrachium borellii, as a predator of mosquito larvae*. Aquat. Sci. p: 22- 27.
- Collins, P.A. (1999) *Feeding of Palaemonetes argentinus (Decapoda: Palaemonidae) from an oxbow lake of the Paraná river, Argentina*. J. Crust. Biol. 19 (3): 485-492.
- Collins, P.A. (2000) *Mecanismos de coexistencia de poblaciones de palaemónidos dulciacuícolas (Crustacea, Decapoda, Caridea)*. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata.
- Collins, P.A.; Williner, V. y Giri, F. (2004) *Crustáceos Decápodos del Litoral Fluvial Argentino*. En: *Temas de la Biodiversidad del Litoral Fluvial Argentino*. (Ed.: Aceñolaza, F.G.) INSUGEO, Miscelánea, 12: 253 – 264.
- Collins, P. y Cappello, S. (2006) *Cypermethrin toxicity to aquatic life: bioassays for the freshwater prawn Palaemonetes argentinus*. Ach. Environ. Contam. Toxicol. 51: 79-85.
- Collins, P.A.; Giri, F. y Williner, V. (2006) *Population dynamics of Trichodactylus borellianus (Crustacea, Decapoda, Brachyura) and interactions with the aquatic vegetation of the Paraná River (South America, Argentina)*. Ann. Limnol. 42 (1): 19-25.
- Collins, P.A.; Williner, V. y Giri, F. (2007a) *Littoral Communities. Macrocrustaceans*. En: *The Middle Paraná River: Limnology of a Subtropical Wetland*. (Eds.: Iriondo, M.H.; Paggi, J.C. y Parma, M.J.) Springer-Verlang, Berlin, Heidelberg, p: 277-301.
- Collins, P.A.; Williner, V. y Giri, F. (2007b) *Trophic relationships in crustacean decapods of a river with a floodplain*. En: *Predation in Organisms A Distinct Phenomenon*. (Ed.: Elewa, A.M.T.) Springer Berlin Heidelberg, p: 59-86.

- Conover, R.J. y Corner, E.D.S. (1968) *Respiration and nitrogen excretion by some marine zooplankton in relation to their life cycles*. J. Mar. Biol. 48: 49-75.
- Correa, L.M.; Nalái, M.; Strandgaard, C.S.; Hess, R.A. y Miller, M.G. (2002) *Microtubules of the mouse testis exhibit differential sensitivity to the microtubule disruptors carbendazim and colchicines*. Toxicol. Sci. 69: 175–182.
- Cuppen, J.G.M.; Van den Brink, P.J.; Camps, E.; Uil, K.F. y Brock, T.C.M. (2000) *Impact of the fungicide carbendazim in freshwater microcosms. I. Water quality, breakdown of particulate organic matter and responses of macroinvertebrates*. Aquat. Toxicol. 48 (2-3): 233-250.
- Cushing, C.E., Allan, J.D. (2001) *Streams. Their Ecology and life*. Academic Press, Orlando Florida.
- Dall, W. y Barclay, M. (1977) *Induction of Viable Ecdysis in the Western Rock Lobster by 20-Hydroxyecdysone*. Gen. Comparat. Endocrinol. 31: 323 – 334.
- D'Angelo, M.L. (1991) *Geografía*. En: *Nueva Enciclopedia de la Provincia de Santa Fe. Ediciones Sudamericanas*. (Ed: Renna, A.D.) Santa Fe, p: 33-136.
- Dennell, R. (1960) *Integument and exoskeleton*. En: *Physiology of Crustacea. I*. (Ed: Waterman, T.) Academic Press, New York, p: 473-53.
- Díaz, A.C.; Petriella, A.M. y Sousa, L.G. (1998) *Setogenesis and growth of the freshwater prawn Palaemonetes argentinus (Decapoda, Caridea, Palaemonidae)*. Iheringia, Sér. Zool., Porto Alegre. 85: 59-65.
- Díaz, A.C.; Sousa, L.G.; Cuartas, E.I. y Petriella, A.M. (2003) *Growth, molt and survival of Palaemonetes argentinus (Decapoda, Caridea) under different light-dark conditions*. Iheringia, Sér. Zool., Porto Alegre. 93 (3): 249-254.
- Díaz Báez, M.C.; Bulus Rossini, G.D. y Pica Granados, Y. (2004) *Métodos estadísticos para el análisis de resultados de toxicidad*. En: *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de agua. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. (Ed. Castillo Morales, G.) México, IMTA, p: 99-112.
- Díaz-Iglesias, E.; Báez-Hidalgo, M.; Perera Bravet, E. y Fraga Castro, I. (2002) *Respuesta metabólica de la alimentación natural y artificial en juveniles de la langosta espinosa, Panulirus argus (Latreille, 1804)*. Hidrobiología. 12 (2): 101-112.
- Durrett, R. y Levin, S. (1998) *Spatial aspects of interspecific competition*. Theoretical Pop. Biol. 53 (1): 30-43.
- Ecobichon, D.J. (1992) *The Basis of Toxicity Testing*. En: *Pharmacology and Toxicology: Basic and Clinical Aspect*. (Ed: Hollinger, M. A.) CRC Press, p: 160.

- Ecobichon, D.J. (2000) *Our changing perspectives on benefit and risks of pesticides: a historical overview*. NeuroToxicology. 21: 211–218.
- Ecobichon, D. J. (2001) *Pesticide use in developing countries*. Toxicology 160: 27-33.
- FAO/PNUMA (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente) (1975) *Vigilancia de los efectos causados por residuos de plaguicidas empleados en la agricultura en países en desarrollo*. FAO, p: 24.
- Felix, M.M.L. y Petriella, A.M. (2003) *Molt cycle of the natural population of Palaemonetes argentinus (Crustacea: Palaemonidae) from Los Padres lagoon (Buenos Aires, Argentina)*. Iheringia, Sér. Zool., Porto Alegre. 93 (4): 399-411.
- Fernández-Vega, C.; Sancho, E.; Ferrando, M.D. y Andreu, E. (2002) *Thiobencarb-induced changes in acetylcholinesterase activity of the fish Anguilla anguilla*. Pestic. Biochem. Physiol. 72: 55–63.
- Fingerman, S.W. (1985) *Non-metal environmental pollutants and growth*. En: *Crustacean ISSUES 3. Factors in adult growth*. (Ed: Wenner, A.M.) A. A. Balkema Rotterdam, p: 219-234.
- Fingerman, M. (1995) *Endocrine mechanisms in crayfish, with emphasis on reproduction and neurotransmitter regulation of hormone release*. Amer. Zool. 35: 68 – 78.
- Florkin, M. (1960) *Ecology and Metabolism*. En: *The Physiology of Crustacea. Metabolism and growth*. (Ed: Waterman, T.H.) Academic Press, New York, p: 395-406.
- Forget, G.; Goodman, T.; de Villiers, A. (1993) *Impact of pesticide use on health in developing countries*. International Development and Research Centre. Proceedings of a symposium held in Ottawa, Canada, 17 al 20 de september 1990.
- Fränze, O. (2003) *Bioindicators and environmental stress assessment*. En: *Bioindicators & Biomonitoring* (Ed: Markert, B.A.; Breure, A.M. y Zechmeister, H.G.) Elsevier Science, Oxford, p: 997.
- García Araya, O. y Don, R.N. (2002) *Manual de Procedimientos para la Gestión con Productos Fitosanitarios. Guía para operar productos fitosanitarios*. Col. Ing. Agrónom., Santa Fe, p: 125.
- Giesy, J.P.; Dobson, S. y Solomon, K.R. (2000) *Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide*. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 167: 35–120.
- Gluszczak, L.; dos Santos Miron, D.; Crestani, M.; Braga da Fonseca, M.; de Araújo Pedron, F.; Duarte, M. y Pimentel Vieira, V. (2006) *Effect of glyphosate herbicide on*

- acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava* (*Leporinus obtusidens*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 65: 237–241.
- Gluszcak, L.; dos Santos Miron, D.; Moraes, B.; Rodrigues Simões, R.; Chitolina Schetinger, M.; Morsch, V. y Loro, V. (2007) *Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish* (*Rhamdia quelen*). *Comp. Biochem. Physiol. C.* 146: 519–524.
- Hammer, O.; Harper, D.A.T. y Ryan, P.D. (2001) *PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis*. *Palaeontologia Electronica*, 4 (1): pp: 9. [Http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm)
- Hartnoll, R.G. (1982) *Growth*. En: *The Biology of Crustacea*. (Ed: Bliss, D.E.) Academic. V.2, New York, p: 111 – 196.
- INDEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos) (2002) *Encuesta Nacional Agropecuaria 2001* (ENA 2001). [Http://www.ec.gba.gov.ar/Estadistica/Ftp/cuadros/primar/cna/cna02_introduccion%20de%20los%20datos.pdf](http://www.ec.gba.gov.ar/Estadistica/Ftp/cuadros/primar/cna/cna02_introduccion%20de%20los%20datos.pdf)
- Iriondo, M.H. (1972) *Mapa geomorfológico de la llanura aluvial del Río Paraná desde Helvecia hasta San Nicolas República Argentina*. *Rev. Asociación Geológica Argentina*. Tomo XXVII, 2: pp: 155-160.
- Iriondo, M.H. (1988a) *A comparison between the Amazon and Paraná River Systems*. *Mitt. Geol. Palaont. Inst. Univ. Hamburg. SCOPE/UNEP, Sonderband 66*: 77-92.
- Iriondo, M. (1988b) *Llanura aluvial del Río Paraná*. Museo de Ciencias Naturales y Antropológicas Profesor Antonio Serrano. Guía de campo N° 4. Paraná.
- Iriondo, M. (2004) *The littoral complex at the Paraná mouth*. *Quatern. Int.* 114: 143-154.
- Iriondo, M.H. y Drago E.C. (2004) *The headwater hydrographic characteristics of large plains: the Pampa case*. *Ecohyd. Hydrobiol.* 1: 7-16.
- Jayachandran, K.V. (2001) *Palaemonid Prawns. Biodiversity, Taxonomy, Biology and Management*. Sci. Publish. USA, Enfield, p: 624.
- Jergentz, S.; Pessacq, P.; Mugni, H.; Bonetto, C. y Schulz, R. (2004) *Linking in situ bioassays and dynamics of macroinvertebrates to assess agricultural contamination in streams of the Argentine pampa*. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 59 (2): 133–141.
- Jergentz, S.; Mugni, H.; Bonetto, C. y Schulz, R. (2005) *Assessment of insecticide contamination in runoff and stream water of small agricultural streams in the main soybean area of Argentina*. *Chemosphere.* 61: 817–826.

- Key, P.B.; Chung, K.W.; Opatkiewicz, A.D.; Wirth, E.F. y Fulton, M.H. 2003a. *Toxicity of the insecticides fipronil and endosulfan to selected life stages of the grass shrimp (Palaemonetes pugio)*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 70: 533–540.
- Key, P.B.; Fulton, M.H.; Harman-Fetcho, J.A. y McConnell, L.L. (2003b) *Acetylcholinesterase activity in grass shrimp and aqueous pesticide levels from South Florida drainage canals*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 45: 371–377.
- Kneib, R.T. (1987) *Seasonal abundance, distribution and growth of postlarval and juvenile grass shrimp (Palaemonetes pugio) in a Georgia, USA, salt marsh*. Mar. Biol. 96: 215-223.
- Kurata, H. (1962) *Studies on the age and growth of Crustacea*. Bull. Hokkaido. Reg. Fish Res. Lab. 24: 1-115.
- Lacoste, A. y Salanon, R. (1977) *Biogeografía*. Oikos Tau, S. A., Barcelona, p: 271.
- Lajmanovich, R.C. y Beltzer, A.H. (1993) *Aporte al conocimiento de la biología alimentaria de la pollona negra Gallinula chloropus en el Paraná Medio, Argentina*. El Hornero. 13 (4): 289-291.
- Lajmanovich, R.C.; Lorenzatti, E.; Maitre, M.I.; Enrique, S. y Peltzer, P. (2003a) *Comparative acute toxicity of the commercial herbicides glyphosate to neotropical tadpoles Scinax nasicus (Anura: Hylidae)*. Fresen. Environ. Bull. 12 (4): 364-367.
- Lajmanovich, R.C.; Sandoval, M.T. y Peltzer, P. (2003b) *Induction of mortality and malformation in Scinax nasicus tadpoles exposed to glyphosate formulations*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 70: 612-618.
- Lajmanovich, R.C. y Peltzer, P.M. (2004) *Aportes al conocimiento de los anfibios Anuros con distribución en las provincias de Santa Fe y Entre Ríos (Biología, Diversidad, Ecotoxicología y Conservación)*. En: *Temas de la Biodiversidad del Litoral Fluvial Argentino*. (Ed: Aceñolaza, F.G.) INSUGEO, Miscelánea, 12: 291-302.
- Lajmanovich, R.C.; Sánchez-Hernández, J.C.; Stringhini, G. y Peltzer, P.M. (2004) *Levels of serum cholinesterase activity in the Rococo toad (Bufo paracnemis) in agrosystems of Argentina*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 72: 586-591.
- Lajmanovich, R.C.; López, J.A.; Arias, M.M. y Peltzer, P.M. (2005) *Dieta y variación morfológica de Leptodactylus ocellatus (Linnaeus, 1758) (Anura: Leptodactylidae) en tres localidades del centro-este de Argentina*. Bol. Esp. Herpetol. 16 (1-2): 32-39.
- Lenardón, A. y Enrique, S. (1998) *Insecticidas organoclorados en el río Paraná*. Nat. Neotrop. 29 (2): 111-116.

- Lenardón, A.M.L.; Lorenzatti, E.A. y Enrique, S. (1998) *Monitoreo de insecticidas organoclorados y organofosforados en el río Paraná (km 600)*. Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente, Curitiba, 8:57-66.
- Lim, J. y Miller, M.G. (1997) *Role of testis exposure levels in the insensitivity of prepubertal rats to carbendazim-induced testicular toxicity*. Fundam. Appl. Toxicol. 37: 158–167.
- Linton, S.; Wilde, J. y Greenaway, P. (2005) *Excretory and storage purines in the anomuran land crab Birgus latro: guanine and uric acid*. J. Crust. Biol. 25 (1): 100-104.
- Lopretto, E.C. (1995a) *Crustacea: Introducción, clave de taxones con representantes en agua dulce y glosario*. En: *Ecosistemas de aguas continentales. Metodologías para su estudio*. (Eds: Lopretto, E.C. y Tell, G.) Ediciones Sur, Tomo II, p: 855-870.
- Lopretto, E.C. (1995b) *Crustacea Eumalacostraca*. En: *Ecosistemas de aguas continentales. Metodologías para su estudio*. (Eds.: Lopretto, E.C. y Tell, G.) Ediciones Sur, Tomo III, p: 1001-1039.
- Lopretto, E.C. (1998) *Eucarida*. En: *Biodiversidad de Artrópodos Argentinos. Una Perspectiva Biotaxonómica*. (Eds.: Morrone, J.J. y Coscarón, S.) Ediciones SUR, p: 536- 544.
- Lorenzatti, E.; Altahus, R.; Lajmanovich, R. y Peltzer, P. (2004) *Residues of Endosulfan in Soy Plants in Argentina Croplands*. Fresen. Environ. Bull. 13: 89-92.
- Lorenzatti, E.; Lenardón, A.; Costantini, L.; Delbó, A.; Lorenzatti, A. y Rivas, P. (2008) *Convivencia con los plaguicidas de uso doméstico en áreas urbanas. Su estudio en Santa Fe*. Rev. FABICIB. 12: 203-210.
- Lorenzatti, E.A.; Negro, C.L.; de la Sierra, P.; Marino, F. y Lenardón, A. (2008) *Plaguicidas en aire. Estudio preliminar en la ciudad de Santa Fe*. Rev. FABICIB. 12: 129-135.
- Magalhães, C.; Bond-Buckup, G.; De Melo, G.A. y Buckup, L. (2003) *Famílias Palaemonidae e Trichodactylidae*. En: *Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil*. (Ed.: De Melo, G.A.) Museu de Zoologia, São Paulo, p: 143-398.
- Martin, G.G.; Quintero, M.; Quigley, M. y Khosrovian, H. (2000) *Elimination of sequestered material from the gills of decapod crustaceans*. J. Crust. Biol. 20: 209-217.
- Martin, J.W. y Davis, G.E. (2001) *An update classification of the recent Crustacea*. Nat. Hist. Mus. Los Angeles Co., Contrib. Sci. 39: 1-124.
- Martin, M.L. y Ronco, A. (2006) *Effects of mixtures of pesticides used in the direct seeding technique on non-target plant seeds*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 77: 228–236.

- Massoia, E. (1976) *Mammalia*. En: *Fauna de Agua Dulce de la República Argentina*. (Ed.: Ringuelet, R.A.) Vol. 44. FECIC, Buenos Aires, p: 1-128.
- Mayzaud, P. y Conover, R.J. (1988) *O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 45: 289-302.
- Mente, E. (2003) *Nutrition, physiology and metabolism of crustaceans*. Sci. Publish., Inc. India, p.160.
- Mercado, M. y Coggiola de Panozzo, G. (1989) *El espacio pampeano. Geografía de la República Argentina*. Grafos Impresiones. Santa Fe, p: 77-94.
- Moore, M.T., Huggett, D.B., Gillespie, Jr W.B., Rodgers, Jr J.H. y Cooper, C.M. (1998) *Comparative toxicity of chlordane, chlorpyrifos, and aldicarb to four aquatic testing organisms*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 34(2): 152-157.
- Morrone, J.J. y Lopretto, E.C. (1994) *Distributional patterns of freshwater Decapoda (Crustacea: Malacostraca) in southern South America: a panbiogeographic approach*. J. Biogeog. 21: 97-109.
- Morrone, J.J. (2001) *Biogeografía de América Latina y el Caribe*. M & T- Manuales & Tesis SEA, p: 148.
- Navas, J. (1991) *Aves gruiformes*. En: *Fauna de Agua Dulce de la República Argentina*. (Ed.: Ageitos de Castellanos, Z.) PROFADU, Buenos Aires, 43 (3): 1-80.
- Navas, J. (1993) *Aves Podicipediformes y Pelecaniformes*. En: *Fauna de Agua Dulce de la República Argentina*. (Ed.: Ageitos de Castellanos, Z.) PROFADU, Buenos Aires, 43 (1A): 1-79.
- Navas, J. (1995) *Aves ciconiformes*. En: *Fauna de Agua Dulce de la República Argentina*. (Ed.: Ageitos de Castellanos, Z.) PROFADU, Buenos Aires, 43 (1C): 1-53.
- Newman, M.C. y Unger, M.A. (2003) *Fundamentals of Ecotoxicology*. Lewis Publishers, CRC Press, Florida, p: 458.
- Nieff, J.J. (1990) *Ideas para la interpretación ecológica del Paraná*. *Interciencia*. 15 (6): 424-441.
- Nieff, J.J. (1999) *El régimen de pulsos en ríos y grandes humedales de Sudamérica*. En: *Tópicos sobre humedales subtropicales y templados de Sudamérica*. (Ed.: Malvárez, A.I.) Universidad de Buenos Aires, p: 97-146.
- Nimmo, D.R. (1985) *Pesticides*. En: *Fundamentals of aquatic toxicology. Methods and applications*. (Eds.: Rand, G.M. y Petrocelli, S.R.) Taylor & Francis Group, New York, p: 335-373.

- Nobili, G. (1896) *Crostecei decapodi*. Viaggio del Dott. A. Borelli nella Republica Argentina en el Paraguay. Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Univ. Torino 11 (222): 1 – 4.
- Nobili, G. (1901) *Decapodi raccolti del Dr. Filippo Silvestri nell’America meridionale*. Bolletino dei Musei di Zoologia de Anatomia Comparata della R. Università di Torino 16: 1 – 16.
- Olima C, y Pablo, F. (1997) *Comparative tolerance of three populations of freshwater shrimp (Paratya australiensis) to the organophosphate pesticide, chlorpyrifos*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 59(2): 321-328.
- Oliva, A.; Ubeda C.A.; Vignes, I.E. e Iriondo, A. (1981) *Contribución al conocimiento de la ecología alimentaria del bagre amarillo (Pimelodus maculatus Lacépède 1803) del río de la Plata (Pisces, Pimelodidae)*. Com. Mus. Arg. Cs. Nat. y Ecol. 1: 31-50.
- Orozco Barrenetxea, C.; Pérez Serrano, A.; González Delgado, M.N.; Rodríguez Vidal, F.J. y Alfayate Blanco, J.M. (2005) *Contaminación Ambiental. Una visión desde la química*. Thomson, Madrid, p: 682.
- Ostroumov, S.A. (2005) *Biological effects of surfactants*. Taylor & Francis, New York, p: 279.
- Palawski, D.U. y Knowles, C.O. (1986) *Toxicological studies of benomyl and carbendazim in rainbow trout, channel catfish and bluegills*. Environ. Toxicol. Chem.. 5: 1039-1046.
- Parrish, P.R. (1985) *Acute Toxicity Tests*. En: *Fundamentals of Aquatic Toxicology. Methods and Applications*. (Eds.: Rand, G.M. y Petrocelli, S.R.) Hemisphere Publishing Corporation, Taylor & Francis Group, New York, p: 666.
- Parry, G. (1960) *Excretion*. En: *The physiology of Crustacea. Metabolism and growth* (Ed.: Waterman, T.H.) Vol. I, Academic Press, New York and London, p: 341-366.
- Passano, L.M. (1960) *Molting and its control*. En: *The physiology of Crustacea. Metabolism and growth* (Ed.: Waterman, T.H.) Vol. I, Academic Press, New York and London, p: 473-53.
- Penna, J.A. y Lema, D. (2003) *Adoption of herbicide tolerant soybeans in Argentina: An economic analysis*. En: *Economic and Environmental Impacts of Agrotechnology*. (Ed.: Kalaitzandonakes, N.) Kluwer-Plenum Publishers, New York, p: 203-220.
- Peruzzo, P.; Marino, D.; Cremonese, C.; da Silva, M.; Porta, A. y Ronco, A. (2003) *Impacto de pesticidas en aguas superficiales y sedimentos asociado a cultivos por siembra directa*.

- En: *Memorias Conferencia Internacional Usos del Agua: Para la Vida y el Desarrollo Sostenible*. Cartagena de Indias, pp: 135-142.
- Petriella, A.M. (1984) *Estudio del ciclo de la muda del camarón Artemesia longinaris Bate. I. Setogénesis Physis*. Bs. As. Secc. A. 42 (103): 93-100.
- Petriella, A.M. y Boschi, E.E. (1997) *Crecimiento en crustáceos decápodos: resultados de investigaciones realizadas en Argentina*. Invest. Mar. Valparaiso 25: 135-157.
- Piegorsch, W.W. y Bailer, A.J. (1997) *Statistics for Environmental Biology and Toxicology*. Chapman & Hall, Cornwall, p: 579.
- Pielou, E.C. (1998) *Fresh water*. The University of Chicago Press, Chicago, p: 275.
- Pillai, B.R. y Diwan, A.D. (2002) *Effects of acute salinity stress on oxygen consumption and ammonia excretion rates of the marine shrimp Metapenaeus monoceros*. J. Crust. Biol. 22: 45-52.
- Poi de Neiff, A. y Carignan, R. (1997) *Macroinvertebrates on Eichhornia crassipes roots in two lakes of the Paraná river floodplain*. Hydrobiologia. 345: 185-196.
- Poi de Neiff, A. y Neiff, J.J. (1980) *Los camalotes de Eichhornia crassipes en aguas lóxicas del Paraná y su fauna asociada*. Ecosur 7, 14: 185-199.
- Quackenbush, L.S. (1986) *Crustacean endocrinology, a review*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 43: 2271-2282.
- Ravera, O. (1989) *The "Enclosure" Method: Concepts, Technology, and some examples of experiments with trace metals*. En: *Aquatic Ecotoxicology: Fundamental Concepts and Methodologies*. (Eds.: Boudou, A. y Ribeyre, F.). Vol. I. CRS PRESS, p: 250- 272.
- Ray, A.K. y Ghosh, M.C. (2005) *Aquatic Toxicity of Carbamates and Organophosphates*. En: *Toxicology of Organophosphate & Carbamate Compounds*. (Ed.: Ramesh, G.). Academic Press, p: 657-672.
- Renzulli, P. y Collins, P. (2000) *Efecto de la temperatura en el crecimiento de Trichodactylus borellianus (Crustacea, Eumalacostraca)*. Rev. FABICIB. 4: 129-136.
- Renzulli, P. y Collins, P. (2001) *Ritmo nictimeral de la actividad locomotora de los cangrejos dulceacuícolas Dilocarcinus pagei pagei Simpson, 1861 y Trichodactylus borellianus Nobili, 1896*. Rev. FABICIB. 5: 145-153.
- Resetarits, W.J. y Fauth, J.E. (1998) *From Cattle Tanks to Carolina Bays. The Utility of Model Systems for Understanding Natural Communities*. En: *Experimental Ecology. Issues and Perspectives*. (Eds.: Resetarits, W.J. y Bernardo, J.) Oxford University Press, New York, p: 133-151.

- Ringuelet, R.A. (1949) *Consideraciones sobre las relaciones filogenéticas entre las especies del género Aegla Leach (Decapodos Anomuros)*. Notas Mus. La Plata Zool. 14: 111-118.
- Rodier, J. (1981) *Análisis de las aguas. Aguas naturales. Aguas residuales. Aguas de mar*. Editorial Omega, Barcelona, p: 1059.
- Rodriguez, G. (1980) *Los Crustáceos Decapodos de Venezuela. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas*. Caracas, Venezuela, p: 494.
- Rodriguez Capítulo, A. (1984a) *Efectos de los detergentes aniónicos sobre la supervivencia y tasa de metabolismo energético de Palaemnetes argentinus Nobili (Decapoda Natantia)*. Limnobios. 2: 549-555.
- Rodriguez Capítulo, A. (1984b) *Incidencia del arsénico en parámetros biológicos de Palaemnetes argentinus Nobili (Decapoda Natantia)*. Limnobios. 2: 609-612.
- Rodriguez Capítulo, A. y Freyre, L.R. (1989) *Demografía de Palaemnetes argentinus Nobili (Decapoda Natantia). I. Crecimiento*. Limnobios 2 (10): 744-756.
- Rodriguez, E.M. y Amin, O.A. (1991) *Acute toxicity of parathion and 2,4D to larval and juvenile stages of Chasmagnathus granulata (Decapoda, Brachyura)*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 47: 634-640.
- Rodriguez, E.M. y Lombardo, R.J. (1991) *Acute toxicity of parathion and 2,4D to estuarine adult crabs*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 46: 576-582.
- Rodriguez, E.M. y Monserrat, J.M. (1991) *Acute and chronic effects of parathion and 2,4D on the oxygen consumption of Chasmagnathus granulata (Decapoda, Brachyura)*. APPTLA. 41: 201-210.
- Rodriguez, E.M.; Monserrat, J.M.; Medesani, D.A.; Bigi, R.; Rodriguez Moreno, P.A.; Lopez, L.S.; Stella, V.S.; Cervino, C.O. y Ansaldo, A. (1998) *Efectos letales y subletales de plaguicidas y metales pesados en cangrejos de estuario. Revisión de una década de investigaciones*. Mus. Arg. Cs. Nat. "Bernardino Rivadavia" e Instit. Nac. Invest. Cs. Nat. 150: 1-17.
- Ronco, A.; Díaz Báez, M. C. y Pica Granados, Y. (2004) *Conceptos generales*. En: *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de agua. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. (Ed. Castillo Morales, G.) México, IMTA, p: 17-22.
- Ronco, A.E.; Carriquiriborde, P.; Natale, G.; Martin, M.L.; Mugni, H. y Bonetto, C. *Impacto de agroquímicos asociados al cultivo de soja transgénica en arroyos de la región pampásica*. VIII Congreso SETAC Latinoamérica, 2007, Montevideo, Uruguay.

- Rose, R.L.; Hodgson, E. y Roe, R.M. (1999) *Pesticides*. En: *Toxicology* (Eds.: Marquardt, H.; Schafer, S.G.; McClellan, R. y Welsch, F.) ACADEMIC PRESS, p: 1330.
- SAGPyA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos) (2008) *Estimaciones agrícolas mensuales. Cifras oficiales al 19/11/08. Campaña Agrícola 2008/09*. [Http://www.sagpya.mecon.gov.ar/new/00/agricultura/otros/estimaciones/pdfmensual/no_viembre_2008.pdf](http://www.sagpya.mecon.gov.ar/new/00/agricultura/otros/estimaciones/pdfmensual/no_viembre_2008.pdf)
- Sánchez, A.; Pascual, C.; Sánchez, A.; Vargas-Albores, F.; LeMoullac, G. y Rosas, C. (2002) *Acclimation of adult males of Litopenaeus setiferus exposed at 27 °C and 31 °C: bioenergetic balance*. En: *Modern approaches to the study of Crustacea*. (Eds.: Escobar-Briones, E. y Alvarez, F.) Kluwer Academic/Plenum Publishers, p: 45-52.
- Saravana Bhavan, P. y Geraldine, P. (2001) *Biochemical stress responses in tissues of the prawn Macrobrachium malcolmsonii on exposure to endosulfan*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 70: 27-41.
- Schmidt-Nielsen, K. (1997) *Animal physiology. Adaptation and environment*. Cambridge University Press, New York, p. 607.
- Schuldt, M. y Damborenea, M.C. (1987) *La fecundidad de Palaemonetes argentinus (Crustacea: Palaemonidae) en el canal Villa Elisa (Punta Lara, provincia de Buenos Aires, Argentina)*. *An. Mus. Hist. Nat., Valparaiso*, 18: 33-39.
- Scott, G.I.; Fulton, M.H.; Moore, D.W.; Wirth, E.F.; Chandler, G.T.; Key, P.B.; Daugomah J.W.; Strozier, E.D.; DeVane, J.; Clark, J.R.; Lewis, M.A.; Finley, D.B.; Ellenberg, W. y Karnaky, K.J. (1999) *Assessment of risk reduction strategies for the management of agricultural nonpoint source pesticide runoff in estuarine ecosystems*. *Toxicol. Ind. Health*. 15: 200-213.
- Selvakumar, S.; Geraldine, P.; Shanju S. y Jayakumar T. (2005) *Stressor-specific induction of heat shock protein 70 in the freshwater prawn Macrobrachium malcolmsonii (H. Milne Edwards) exposed to the pesticides endosulfan and carbaryl*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 82: 125-132.
- Sobrero, M.C.; Martin, M.L. y Ronco, A. E. (2007a) *Fitotoxicidad del herbicida Roundup® Max sobre la especie no blanco Lemna gibba en estudios de campo y laboratorio*. *Hidrobiol.* 17 (1 Suplemento): 31-39.
- Sobrero, M.C.; Rimoldi, F. y Ronco, A. E. (2007b) *Effects of the glyphosate active ingredient and a formulation on Lemna gibba L. at different exposure levels and assessment endpoints*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 79: 537-543.

- Sousa, L.G.; Petriella, A.M. y Díaz, A.C. (1997) *Modificaciones del tegumento de Palaemonetes argentinus (Crustacea: Decapoda, Caridea) durante el ciclo de muda*. Iheringia, Sér. Zool., Porto Alegre. 83: 3-12.
- Spivak, E.D. (1997) *Life history of a brackish-water population of Palaemonetes argentinus (Decapoda: Caridea) in Argentina*. Ann. Limnol. 33 (3): 179-190.
- Strahler, A. (1974) *El suelo. Geografía Física*. Omega, p: 319-332.
- Thompson, J. (1989) *Chronic effects of sub-lethal levels of dalapon, glyphosate, and 2,4-D amine on the lymnaeid snails Pseudosuccinea columella and Fossaria cubensis*. Unpublished MS thesis, Southern University Library, Baton Rouge, Louisiana, p: 146.
- Tate, T.M.; Spurlock, O.J. y Christian, F.A. (1997) *Effect of glyphosate on the development of Pseudosuccinea columella snails*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 33: 286 – 289.
- Tornisielo, V.L.; Pinho, R.S.; Monteiro, R.T.R. y Costa, M.A. (1998) *Lixiviação do insecticida ¹⁴c-endosulfan em solos do estado de São Paulo*. Pesticidas: Rev. Ecotoxicol. e Meio Ambiente, Curitiba, 8: 1-8.
- Tsui, M.T.K. y Chu, L.M. (2003) *Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors*. Chemosphere. 52: 1189–1197.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency) (1980a) *Ambient Water Quality Criteria for Endosulfan*. Washington DC.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency) (1980b) *Ambient Water Quality Criteria for 2,4-dichlorophenol*. Washington DC.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency) (1986) *Ambient water quality criteria for Chlorpyrifos*. Washington, DC. EPA 440/5-86-005.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency) (1994a) *Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates*. Washington DC.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency) (1994b) *Pesticide Registration Rejection Rate Analysis: Ecological Effects, Prevention, Pesticides and Toxic Substances*. Washington DC., 20460, US, pp: 188.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency) (2000) *National management measures of the control of nonpoint pollution from agriculture*. Washington, DC. EPA-841-B-03-004., p: 299.

- USEPA (United States Environmental Protection Agency) (2002) *Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms*. Washington DC., p: 266.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency) (2005) *Robust Summaries for Carbamic Acid, 1H-Benzimidazol-2-YL-, Methyl Ester*. Washington DC., CAS No. 10605-21-7.
- Walker, C.H.; Hopkin, S.P.; Sibly, R.M. y Peakall, D.B.. (2001) *Principles of Ecotoxicology*. Taylor & Francis, Second Edition, London, p: 309.
- Weatherburn, M.W. (1967) *Phenolhypochlorite reactor determination of ammonia*. Anal. Chem., 39: p: 971.
- WHO (World Health Organization) (1984) *Environmental Health Criteria for Endosulfan*. Environmental Health Criteria 40, Geneva.
- WHO (World Health Organization) (1986) *Organophosphorus Insecticides: A General Introduction*. Environmental Health Criteria 63, Geneva.
- WHO (World Health Organization) (1989) *Environmental Health Criteria for 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)*. Environmental Health Criteria 29, Geneva, Switzerland, p: 1-74.
- WHO (World Health Organization) (1993) *Environmental Health Criteria for Carbendazim*. Environmental Health Criteria 149, Geneva.
- WHO (World Health Organization) (1994) *Glyphosate, Environmental Health Criteria*. vol. 159, p: 1-177.
- WHO (World Health Organization) (2004a) *The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification. Corrigenda published on 2006 incorporated*. WHO/IPCS, [Http://www.who.int/pcs/docs/Classif_Pestic_2000-02.pdf](http://www.who.int/pcs/docs/Classif_Pestic_2000-02.pdf)
- WHO (World Health Organization) (2004b) *WHO Specifications and Evaluations for Public Health Pesticides. Chlorpyrifos*. WHO/IPCS, [Http://www.who.int/whopes/quality/Chlorpyrifos_WHO_specs_eval_Mar_2009.pdf](http://www.who.int/whopes/quality/Chlorpyrifos_WHO_specs_eval_Mar_2009.pdf)
- Williner, V. y Collins, P.A. (2000) *¿Existe jerarquización en las poblaciones de Palemónidos del valle aluvial del Río Paraná?*. Nat. Neotrop. 31 (1 y 2): 53-60.
- Williner, V. y Collins, P.A. (2002) *Daily rhythm of feeding activity of the freshwater crab Dilocarcinus pagei pagei in the Rio Pilcomayo National Park, Formosa, Argentina*. En: *Modern Approaches to the Study of Crustacea*. (Eds.: Escobar-Briones, E. y Alvarez, F.) Kluwer Academic / Plenum Publishers, p: 171-178.

- Williner, V. y Collins, P.A. (2003) *Effects of cypermethrin upon the freshwater crab Trichodactylus borellianus (Crustacea: Decapoda: Braquiura)*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 71: 106-113.
- Wirth, E.F.; Lund, S.A.; Fulton, M.H.; Scott, G.I. (2001) *Determination of acute mortality in adults and sublethal embryo responses of Palaemonetes pugio to endosulfan and methoprene exposure*. Aquat. Toxicol. 53: 9–18.
- Wirth, E.F.; Lund, S.A.; Fulton, M.H. y Scott, G.I. (2002) *Reproductive alterations in adult grass shrimp, Palaemonetes pugio, following sublethal, chronic endosulfan exposure*. Aquat. Toxicol. 59: 93–99.
- Wolvekamp, H.P. y Waterman, T.H. (1960) *Respiration*. En: *The physiology of Crustacea. Metabolism and growth*. (Ed.: Waterman, T.H.) Vol. I, Academic Press, New York and London, p: 35-100.
- Xuereb, B.; Noury, P.; Felten, V.; Garric, J. y Geffard, O. (2007) *Cholinesterase activity in Gammarus pulex (Crustacea Amphipoda): Characterization and effects of chlorpyrifos*. Toxicology. 236: 178–189.
- Zar, J.H. (1996) *Biostatistical Analysis*. Third Edition. Prentice Hall, p: 662.

Anexo

9. Anexo

9.1. Descripción de los agroquímicos utilizados en los ensayos, zonas y cultivos de aplicación, especies blanco y modo de acción tóxica

9.1.1. Herbicida glifosato

Tabla 1. Características del glifosato y especies de vegetales a la que es efectivo en cultivos y otras áreas de aplicación. Mecanismo de acción tóxica en las especie blanco (modificado de CASAFE 2001 y 2007).

| Nomenclatura química: Acido N-(fosfometil) glicina Clasificación química: Fosfometilglicina Formulaciones: Sal isopropilamina de la N-fosfometil glicina al 48%; 46%; 64,8% y sal amónica de la N-fosfometil glicina al 75,7%; 40,5% y 39% | | | |
|---|--|--|---|
| Zonas y cultivos | Especies que controla | Modo de acción | |
| Alambrados Áreas no cultivadas | <i>Amaranthus quitensis</i> (yuyo colorado) <i>Ambrosia tenuifolia</i> (altamisa) <i>Bidens subalternans</i> (amor seco) | Sistémico, se traslada a través del floema hacia los órganos subterráneos impidiendo el posterior rebrote y ocasiona la muerte total de la planta tratada. | |
| Vías férreas Pasturas | <i>Bromus unioloides</i> (cebadilla criolla) <i>Cenchrus pauciflorus</i> (roseta) <i>Chenopodium quinoa</i> (quinoa) | | |
| Pinos | <i>Cynodon dactylon</i> (gramón, gramilla, pasto) <i>Cyperus rotundus</i> (cebollín) | | |
| Cítricos o citrus Frutales de pepita | <i>Cyperus esculentus</i> (chufa salvaje) <i>Datura ferox</i> (chamico) | | |
| Vid | <i>Digitaria sanguinalis</i> (pasto de cuaresma) <i>Echinochloa crusgalli</i> (capín arroz) | | |
| Girasol | <i>Imperata brasiliensis</i> (yahapé) <i>Panicum elephantipes</i> (camalote) | | |
| Maíz | <i>Panicum maximum</i> (pasto guinea) <i>Paspalum dilatatum</i> (pasto miel) <i>Paspalum notatum</i> (pasto horqueta) | | |
| Soja Soja RR (Resistente al gifosato) | <i>Paspalum notatum</i> (pasto horqueta) <i>Polygonum aviculare</i> (cien nudos) <i>Polygonum convolvulus</i> (enredadera anual) <i>Portulaca oleracea</i> (verdolaga) <i>Raphanus sativus</i> (nabón) | | Actúa sobre la vía del ácido shikímico inhibiendo la 5-enolpiruvil-shikimico-3-fosfato sintetasa (EPSPS). Como resultado de esta acción se inhibe la síntesis de aminoácidos aromáticos fenil-alanina, tirosina y triptofano. |

| Zonas y cultivos | Especies que controla | Modo de acción |
|--|--|--|
| (Continuación) Trigo Siembra directa Yerba mate | <i>Setaria spp</i> (cola de zorro) <i>Solanum sisymbriifolium</i> (espina colorada) <i>Sorghum halepense</i> (sorgo de alepo) <i>Stipa brachychaeta</i> (pasto puna) <i>Wedelia glauca</i> (sunchillo) <i>Xanthium cavanillesii</i> (abrojo grande) | Se producen alteraciones en otros procesos bioquímicos que se consideran como efectos secundarios, pero tienen importancia en la acción herbicida final. |

9.1.2. Herbicida 2,4-D

Tabla 1. Características del 2,4-D y especies de vegetales a la que es efectivo en cultivos y otras áreas de aplicación. Mecanismo de acción tóxica en las especies blanco (Rose et al. 1999; CASAFE 2001 y 2007).

| <p>Nomenclatura química: Sal dimetilamina del ácido 2,4-diclorofenoxiacético y éster isobutílico del ácido 2,4-diclorofenoxiacético Clasificación química: Airoxiácido Formulaciones: Sal al 58,4%; 60,2%; 84,3%; 86,7% y éster al 97% y 100%</p> | | |
|--|---|---|
| Zonas y cultivos | Especies que controla | Modo de acción |
| Campos naturales de gramíneas | <i>Amaranthus quitensis</i> (yuyo colorado) | <p>Sistémico, se traslada a través del floema hacia los órganos subterráneos impidiendo el posterior rebrote y ocasiona la muerte total de la planta tratada.</p> <p>Es regulador del crecimiento vegetal. Actúa como hormona de crecimiento alterando el metabolismo y consecuentemente el crecimiento de las plantas.</p> |
| Pasturas cultivadas de gramíneas (verdeos) | <i>Bidens pilosa</i> (saetilla) | |
| | <i>Brassica campestris</i> (nabo) | |
| Papa | <i>Brassica nigra</i> (mostaza negra) | |
| | <i>Carduus pycnocephalus</i> (cardo crespo) | |
| Arroz | <i>Carthamus lanatus</i> (cardo lanudo) | |
| | <i>Centaurea melitensis</i> (abrepuño) | |
| Alpiste | <i>Centaurea solstitialis</i> (abrepuño amarillo) | |
| | <i>Centaurea calcitrapa</i> (abrepuño colorado) | |
| Avena | <i>Chenopodium album</i> (quinoa blanca) | |
| | <i>Chenopodium hircinum</i> (quinoa criolla) | |
| Sorgo | <i>Chenopodium murale</i> (quinoa negra) | |
| | <i>Cirsium vulgare</i> (cardo negro) | |
| Maíz | <i>Datura ferox</i> (chamico) | |
| | <i>Erodium cicutarium</i> (alfilerillo) | |
| Caña de azúcar | <i>Kochia scoparia</i> (morenita) | |
| | <i>Medicago lupulina</i> (lupulina) | |
| | <i>Plantago major</i> (llantén) | |
| | <i>Raphanus sativus</i> (nabón) | |
| | <i>Rumex crispus</i> (lengua de vaca) | |
| | <i>Silybum marianum</i> (cardo asnal) | |
| | <i>Sonchus oleraceus</i> (cerraña) | |
| | <i>Taraxacum officinale</i> (diente de león) | |
| | <i>Verbesina enceliodes</i> (girasolillo) | |
| | <i>Xanthium cavanillesii</i> (abrojo grande) | |
| | <i>Xanthium spinosum</i> (cepa caballo) | |

9.1.3. Insecticida endosulfán

Tabla 1. Características de endosulfán y especies de insectos al que es efectivo en aplicaciones sobre cultivos. Mecanismo de acción tóxica en las especies blanco (Rose et al. 1999; CASAFE 2001 y 2007).

| <p>Nomenclatura química: hexacloro-endometileno-biciclohepteno-bis (oximetileno) sulfito ó 6,7,8,9,10,10-hexacloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahidro-6,9-metano-2,4,3,benzodioxatíepin-3-óxido</p> <p>Clasificación química: Organoclorado ciclodieno</p> <p>Formulaciones: Concentraciones al 35% y 50%</p> | | |
|---|--|--|
| Zonas y cultivos | Especies que controla | Modo de acción |
| Alfalfa | <i>Agrotis spp.</i> (gusanos cortadores) | Por contacto e ingestión. En altas temperaturas, actúa también por inhalación. |
| Algodón | <i>Alabama argillacea</i> (oruga de la hoja) | |
| | <i>Anticarsia gemmatalis</i> (oruga de las legumbres) | Neurotóxico cuyos efectos comienzan en los centros de estimulación motora. Su toxicidad es el resultado de la excesiva estimulación de los nervios colinérgicos dada por la habilidad de inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, lo que prolonga la transmisión de los estímulos nerviosos. |
| | <i>Aphis gossypii</i> (pulgón del algodón) | |
| | <i>Astylus atromaculatus</i> (astilo moteado) | Es inhibidor de la función neuronal por bloqueo del ácido gamma-aminobutílico (GABA) en los canales del sistema nervioso. |
| | <i>Athaumastus haematicus</i> (chinche roja) | |
| | <i>Brevicoryne brassicae</i> (pulgón del repollo) | |
| | <i>Brochus pisorum</i> (brucho de la arveja) | |
| | <i>Colias lesbia</i> (isoca de la alfalfa) | |
| | <i>Contarinia sorghicola</i> (mosquita del sorgo) | |
| | <i>Diabrotica vittigera</i> (vaquita) | |
| | <i>Edessa meditabunda</i> (alquiche chico) | |
| | <i>Empoasca fabae</i> (cotorrita) | |
| | <i>Epicauta adpersa</i> (bicho moro) | |
| | <i>Epitrimerus piri</i> (agamuzado de os frutos) | |
| | <i>Epitrix argentiniensis</i> (pulguilla) | |
| | <i>Eulia loxonephes</i> (enrulador de la hoja) | |
| | <i>Helicoverpa gelotopoeon</i> (isoca bolillera) | |
| | <i>Heliothis virescens</i> (gusano cogollero) | |
| | <i>Heliothis zea</i> (isoca del maíz) | |
| | <i>Homeosoma heinrichi</i> (polilla del girasol) | |
| | <i>Horcia nobilellus</i> (chinche rayada) | |
| | <i>Loxostege bifidalis</i> (oruguita verde) | |
| | <i>Macrosiphum euphorbiae</i> (pulgón) | |
| | <i>Macrosiphum rosae</i> (pulgón del rosal) | |
| | <i>Manduca sexta</i> (marandová de las solanáceas) | |
| | <i>Macrosiphoniella sanborni</i> (pulgón del crisantemo) | |

| Zonas y cultivos | Especies que controla | Modo de acción |
|--|--|-----------------------|
| (Continuación) Soja Tabaco | <i>Nezara viridula</i> (chinche verde) <i>Oiketicus platensis</i> (bicho de cesto) <i>Piezodorus guildinii</i> (chinche de la alfalfa) <i>Peridroma saucia</i> (gusano variado) <i>Pseudaletia adultera</i> (oruga militar verdadera) <i>Psylla pyricola</i> (psílido del peral) <i>Rachiplusia nu</i> (isoca medidora) <i>Spodoptera frugiperda</i> (oruga militar tardía) <i>Thrips spp.</i> (trips) | |

9.1.4. Insecticida clorpirifós

Tabla 1. Características de clorpirifós y especies de insectos al que es efectivo en aplicaciones sobre cultivos. Mecanismo de acción tóxica en las especies blanco (Rose et al. 1999; CASAFE 2001 y 2007).

| Nomenclatura química: 0,0-dietilfosforotioato de 0-3,5,6-tricloro-2-piridilo ó 0,0-dietil 0-(3,5,6-tricloro-2-piridil) fosforotioato Clasificación química: Organofosforado Formulaciones: Concentración al 48% y 50% | | |
|--|--|---|
| Zonas y cultivos | Especies que controla | Modo de acción |
| Ajo | <i>Aceria sheldoni</i> (acaró de la yema) | Por contacto, ingestión e inhalación. Neurotóxico cuyos efectos comienzan en los centros de estimulación motora. Su toxicidad es el resultado de la excesiva estimulación de los nervios colinérgicos dada por la habilidad de inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, lo que prolonga la transmisión de los estímulos nerviosos. |
| Cebolla | <i>Acromyrmex lundii</i> (hormiga negra común) <i>Acromyrmex striatus</i> (hormiga colorada) <i>Acyrtosiphon dirthodum</i> (pulgón amarillo) <i>Acyrtosiphon pisum</i> (pulgón de la alfalfa) | |
| Alfalfa | <i>Agriotes spp.</i> (gusanos alambre) <i>Agrotis spp.</i> (gusanos cortadores) | |
| Algodón | <i>Alabama argillacea</i> (oruga de la hoja) <i>Anticarsia gemmatalis</i> (oruga de las legumbres) | |
| Almendro | <i>Aphis gossypii</i> (pulgón del algodónero) | |
| Cerezo | <i>Aphis citricola</i> (pulgón verde de los citrus) <i>Carpocapsa pomonella</i> (gusano de la pera y la manzana) | |
| Ciruelo | <i>Coccus hesperidum</i> (cochinilla blanca) | |
| Damasco | <i>Colias lesbia</i> (isoca de la alfalfa) <i>Contarinia sorghicola</i> (mosquita del sorgo) | |
| Duraznero | <i>Diloboderus abderus</i> (gusano blanco) | |
| Guindo | <i>Dysdercus chaquensis</i> (chinche tintórea) <i>Epitrix spp.</i> (pulguillas) | |
| Cítrico o citrus | <i>Epinotia aporema</i> (barrenador del brote) <i>Euxoa sp.</i> (gusano cortador) | |
| Manzano | <i>Gnorimoschema operculella</i> (polilla de la papa) | |
| Peral | <i>Grapholitha molesta</i> (polilla del brote del daraznero) | |
| Cereales de invierno | <i>Helicoverpa gelotopoeon</i> (isoca bolillera) <i>Heliothis virescens</i> (gusano cogollero) | |
| Girasol | <i>Heliothis zea</i> (isoca del maíz) <i>Horcia nobilellus</i> (chinche rayada) <i>Iridomyrmex humilis</i> (hormiga invasora) | |

| Zonas y cultivos | Especies que controla | Modo de acción |
|--|--|----------------|
| (Continuación) Maíz Sorgo Soja Hortalizas Tomate Papa Olivo Tabaco | <i>Loxostege bifidalis</i> (oruguita verde) <i>Macrosiphum avenae</i> (pulgón de la espiga) <i>Mytilococcus beckii</i> (cochinilla coma) <i>Oiketicus platensis</i> (bicho de cesto) <i>Pseudococcus maritimus</i> (cochinilla harinosa) <i>Pseudaulacaspis pentagona</i> (cochinilla blanca del duraznero) <i>Quadraspidiotus perniciosus</i> (piojo de San José) <i>Rhopalosiphum maidis</i> (pulgón del maíz) <i>Schizaphis graminum</i> (pulgón verde de los cereales) <i>Scrobipalpula absoluta</i> (polilla del tomate) <i>Spilosoma virginica</i> (gata peluda norteamericana) <i>Spodoptera frugiperda</i> (oruga militar tardía) <i>Tetranychus telarius</i> (arañuela roja común) <i>Thrips tabaci</i> (trips de la cebolla) <i>Toxoptera aurantii</i> (pulgón de los citrus) | |

9.1.5. Fungicida carbendazim

Tabla 1. Características de carbendazim y especies a la que es efectivo en cultivos y otras áreas de aplicación. Mecanismo de acción tóxica en las especies blanco (Rose et al. 1999; CASAFE 2001 y 2007).

| Nomenclatura química: 2-metoxicarbamoil-bencimidazol ó metil bencimidazol-2-ilcarbamato Clasificación química: Bencimidazol Formulaciones: Concentraciones al 50% y 75% | | |
|--|---|---|
| Zonas y cultivos | Especies que controla | Modo de acción |
| Ajo | <i>Ascochyta pisi</i> (antracnosis de la arveja) | Sistémico, se absorbe por los órganos verdes y las raíces de los vegetales. Preventivo y curativo. |
| Cebolla | <i>Botrytis allii</i> (podredumbre) | |
| | <i>Botrytis cinerea</i> (podredumbre gris) | |
| | <i>Botrytis squamosa</i> (podredumbre) | |
| Alcaucil | <i>Cercospora spp.</i> (mancha de la hoja, tallo y vaina) | |
| Apio | <i>Cercospora apii</i> (viruela del apio) | |
| Arveja | <i>Cercospora beticola</i> (viruela de la acelga y remolacha) | |
| | <i>Cercospora musae</i> (sigatoka) | |
| Cereales | <i>Cercospora nicotianae</i> (viruela del tabaco) | |
| | <i>Cercospora purpurea</i> (viruela del palto) | |
| Trigo | <i>Cladosporium carpophilum</i> (sarna de los frutales) | Produce anormalidades en la germinación de las esporas, multiplicación celular y crecimiento como resultado de la interferencia en la síntesis del ADN. |
| Berenjena | <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (antracnosis de los citrus) | |
| Pimiento | <i>Colletotrichum glycines</i> (antracnosis de la soja) | |
| Tomate | <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (antracnosis del poroto) | |
| Caña de azúcar | <i>Cycloconium oleaginum</i> (mancha ocular del olivo) | |
| Espárrago | <i>Diplodia spp.</i> (podredumbre de los frutos) | |
| | <i>Diplodia natalensis</i> (podredumbre peduncular) | |
| Cucurbitáceas | <i>Erysiphe fuliginea</i> (oídio de las cucurbitáceas) | |
| Ananá | <i>Fusarium spp.</i> (hongo del suelo) | |
| Banano | <i>Fusarium spp.</i> (mal de los almácigos) | |
| Cítricos o citrus | <i>Fusarium spp.</i> (marchitamiento de la papa) | |
| Manzano | <i>Fusarium spp.</i> (golpe blanco) | |
| Peral | <i>Fusarium graminearum</i> (golpe blanco) | |
| Duraznero | <i>Fusarium oxysporum</i> (podredumbre de los | |

| Zonas y cultivos | Especies que controla | Modo de acción |
|---|--|----------------|
| (Continuación) Maní Pepino Olivo Palto Papa Poroto Remolacha Repollito de Bruselas Repollo Gladiolo Rosales Tulipán Clavel Soja (tratamiento de semillas) Tabaco Vid Césped Frambueso Grosella Zarzamora Fresias Frutilla Melón Lechuga | bulbos) <i>Geotrichum candidum</i> (podredumbre amarga de los citrus) <i>Gloeosporium spp.</i> (podredumbre de los frutos) <i>Isariopsis griseola</i> (mancha angular del poroto) <i>Monilia spp.</i> (podredumbre de los frutos) <i>Monilia cinerea</i> (podredumbre morena de los frutales) <i>Mycosphaerella arachidis</i> (viruela temprana del maní) <i>Mycosphaerella citri</i> (mancha grasienta de los citrus) <i>Oidium ambrosiae</i> (oídio de las cucurbitáceas) <i>Oidium balsami</i> (oídio del poroto) <i>Penicillium spp.</i> (podredumbre de los frutos) <i>Penicillium corymbiferum</i> (podredumbre del ajo) <i>Penicillium digitatum</i> (moho verde de los citrus) <i>Penicillium italicum</i> (moho azul de los citrus) <i>Penicillium viridicatum</i> (moho azul) <i>Phoma exigua</i> (gangrena de la papa) <i>Phomopsis citri</i> (melanosis) <i>Phomopsis sojae</i> (hongo de la soja) <i>Phomopsis vexans</i> (tizón de la berenjena) <i>Sclerotinia spp.</i> (mal de los almácigos) <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (marchitamiento) <i>Sclerotium spp.</i> (podredumbres) <i>Sclerotium cepivorum</i> (podredumbre blanca) <i>Septoria glycines</i> (mancha marrón de la soja) <i>Septoria pisi</i> (viruela de la arveja) <i>Sphaceloma fawcettii</i> (sarna del naranjo agrio) <i>Rhizoctonia spp.</i> (mal de los almácigos) <i>Rhizoctonia microsinclerotia</i> (mustia hilachosa) <i>Rhizoctonia solani</i> (hongo del suelo) <i>Thielaviopsis paradoxa</i> (podredumbre) <i>Verticillium dahliae</i> (marchitamiento) | |

9.1.6. Fungicida carbendazim-tiram

Tabla 1. Características de carbendazim y especies a la que es efectivo el fungicida carbendazim-tiram. Mecanismo de acción tóxica en las especies blanco (Rose et al. 1999; CASAFE 2001 y 2007).

| Nomenclatura química: Carbendazim: 2-metoxicarbamoil-bencimidazol Tiram: Bisulfuro de tetrametiltiocarbamilo Clasificación química: Bencimidazol+dimetilditiocarbamato Formulaciones: Concentraciones al 15% + 35% | | |
|--|---|--|
| Zonas y cultivos | Especies que controla | Modo de acción |
| Alfalfa | <i>Antracnosis</i> (<i>Colletotrichum</i> spp.) | Por contacto y sistémico. Produce anomalías en la germinación de las esporas, multiplicación celular y crecimiento como resultado de la interferencia en la síntesis del ADN. |
| Lino | <i>Aspergillus</i> spp. (podredumbre) | |
| | <i>Aspergillus flavus</i> (hongo del suelo) | |
| | <i>Aspergillus niger</i> (hongo del suelo) | |
| | <i>Cercospora kikuchi</i> (mancha púrpura) | |
| Algodón | <i>Colletotrichum</i> spp. (antracnosis) | |
| Avena | <i>Diaporthe phaseolorum</i> var <i>meridionalis</i> (cancro del tallo) | |
| Cebada | <i>Diplodia zae</i> (podredumbre seca de la espiga) | |
| Cebadilla | <i>Fusarium</i> spp. (hongo del suelo) | |
| | <i>Fusarium</i> spp. (mal de los almácigos) | |
| | <i>Fusarium graminearum</i> (golpe blanco) | |
| Maíz | <i>Fusarium moniliforme</i> (podredumbre seca de la espiga) | |
| Maíz dulce | <i>Giberella zae</i> (golpe blanco del trigo) | |
| | <i>Mucor</i> spp. (podredumbre de semillas) | |
| Poroto | <i>Penicillium</i> spp. (podredumbre de la semilla) | |
| Trigo | <i>Phomopsis sojae</i> (tizón del tallo y de la vaina) | |
| Arveja o alverja | <i>Phytium</i> spp. (hongo del suelo) | |
| | <i>Phytophthora</i> spp. (podredumbre de la semilla) | |
| Maní | <i>Rhizoctonia solani</i> (hongo del suelo) | |
| Soja | <i>Rhizopus</i> spp. (podredumbre de la semilla) | |
| | <i>Tilletia</i> spp. (caries) | |
| | <i>Ustilago bullata</i> (carbón volador de la cebadilla) | |
| | <i>Ustilago tritici</i> (carbón volador) | |

9.2. Propiedades físicas y químicas de los componentes activos de los productos comerciales utilizados en los ensayos

9.2.1. En Roundup®: Herbicida glifosato

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas del ingrediente activo glifosato (WHO, 1994).

| | |
|--|---|
| Estado físico | Sólido |
| Color | Blanco |
| Olor | Inodoro |
| Nombre químico | Acido N-(fosfonometil) glicina |
| Formula molecular | C ₃ H ₈ NO ₅ P |
| Peso molecular | 169,1 g/mol |
| Familia química | Isopropilamina |
| Surfactantes y sustancias inertes en formulaciones con glifosato | Polioxietileno (en Roundup). Otros surfactantes conocidos son el X-77, LI-700, R-11 (Monsanto, 1990). Otros aditivos pueden ser los ácidos sulfúrico y fosfórico. |
| Punto de fusión | 184,5 °C (descomposición a 187 °C) |
| Solubilidad en agua | 10 - 100 mg/L (20 °C); 11 - 600 mg/L (25 °C) |
| Otros solventes | Ninguno |
| Presión de vapor | <1 x 10 ⁻⁵ Pa (25°C) |

Persistencia del glifosato:

Tanto el glifosato como sus principal metabolito, el ácido aminoetilfosfónico (AMPA) muestran una alta polaridad, por lo tanto son altamente solubles en agua. La degradación del glifosato en el suelo mostró resultados muy variables (entre 3 y 174 días). La biodegradación parece ser la principal fuente de eliminación. La vida media del glifosato disminuye el 50% en el agua en unos pocos días a 2 semanas. En experiencias a campo sin sedimentos, sólo una cantidad muy pequeña de las dosis efectivamente aplicadas desaparecieron después de 30 días (pH 5,9 - 7,0), mientras que con el sedimento las concentraciones iniciales en el agua han disminuido en un 50%, aproximadamente 6 días después de la aplicación (WHO, 1994).

9.2.2. En Herbifen Super®: Herbicida 2,4-D

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas del ingrediente activo 2,4-D (USAPE, 1980b; WHO, 1989).

| | |
|---------------------------------|---|
| Estado físico del grado técnico | Sólido cristalino |
| Color | Incoloro |
| Nombre químico | Acido 2,4-diclorofenoxiacético y éster isobutílico del ácido 2,4-diclorofenoxiacético |
| Formula molecular | C ₈ H ₆ Cl ₂ O ₃ |
| Peso molecular | 221,0 |
| Punto de fusión | 140 - 141 °C |
| Solubilidad en agua | ligeramente soluble |
| Presión de vapor | 52,3 Pa a 160 °C (ácido); 3,97 x 10 ⁻⁴ mmHg a 25 °C (éster butílico) |
| pKa a 25 °C | 2,64 -3,31 |

Persistencia del 2,4-D:

El ácido 2,4-D y sus sales son menos tóxicos para los organismos acuáticos que los ésteres. Muchas variables influyen en la degradación de herbicidas fenoxi dentro de un ecosistema acuático. Algunos registros indican que residuos de 2,4-D persisten durante 4 semanas. En el rango de pH de 8,5 a 5,0, la vida media cambia poco, y van desde 5 a 8 días. A pH 4,5 la vida media aumentó a 21 días y, a pH 4,0 aumentando hasta 41 días (USEPA, 1980b; WHO, 1989).

9.2.3. En Zebra Ciagro[®]: Insecticida endosulfán

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas del ingrediente activo endosulfán (USEPA, 1980a; WHO, 1984).

| | |
|---|---|
| Estado físico del grado técnico | Sólido cristalino |
| Olor | Terpeno |
| Nombre químico | 6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahidro-6,9-metano-2,4,3-benzodioxathiepin-3-oxide |
| Formula molecular | C ₉ Cl ₆ H ₆ O ₃ S |
| Familia química | Organoclorado (Tipo ciclodieno) |
| Peso molecular | 406,95 daltons |
| Composición | 70% α-endosulfán y 30% β-endosulfan |
| Punto de fusión | α-isómero de 108-110°C y del β-isómero de 208-210 °C |
| Punto de fusión del grado técnico endosulfán | 70 a 100 °C |
| Solubilidad en agua | Soluble de 60 a 150 µg/L |
| Solubilidad en solventes orgánicos | Soluble |
| Presión de vapor | α-isómero de 3,0 x 10 ⁻⁶ mmHg y del β-isómero de 7,2 x 10 ⁻⁷ mmHg a 25 °C |
| Presión de vapor del grado técnico endosulfán | 1 x 10 ⁻⁵ mmHg a 25 °C; 9 x 10 ⁻³ mmHg a 80 °C |
| Valor lipofílico (afinidad lipídica) | log P _{ow} 4,445 a 5,689 |

Persistencia del endosulfán:

El endosulfán es un compuesto persistente, semivolátil. El isómero-β resulta más persistente y el isómero-α es más volátil. La vida media de los compuestos es afectado por el pH y el contenido de oxígeno del medio. Ambos isómeros, a valores de pH superior a 7 la hidrólisis es una ruta importante de degradación, y a valores de pH por debajo de 7 ambos isómeros son bastante persistentes. A un pH de 7, α-endosulfán y β-endosulfán hidrolizan con vidas medias de 11 y 19 días, respectivamente. Por otra parte, en condiciones anaeróbicas

a pH 7, la vida media aumenta a aproximadamente 5 semanas, y con un pH 5,5 la vida media era de casi 5 meses (USEPA, 1980a; WHO, 1984).

9.2.4. En Terminator Ciagro[®]: Insecticida clorpirifós

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas del ingrediente activo clorpirifós (WHO, 1989; 2004b).

| | |
|---------------------------------|--|
| Estado físico del grado técnico | Sólido |
| Color | Amarillo pálido a ámbar |
| Nombre químico | <i>O,O</i> -diethyl <i>O</i> -(3,5,6-tricloro-2-piridinil) fosforotioato |
| Formula molecular | C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS |
| Peso molecular | 350,6 daltons |
| Punto de fusión | 42 – 44 °C |
| Solubilidad en agua | 0,39 mg/L a 19,5 °C |
| Presión de vapor | 1 x 10 ⁻³ Pa a 25°C. |
| Coefficiente de partición | Log P _{ow} = 5,0 a 24,5 °C |

Persistencia de clorpirifós:

En estado puro (99% de pureza), la vida media de clorpirifós en agua a 25 °C es de 72 días en un rango de pH de 5 a 7, mientras que se reduce a 16 días en un pH de 9. En una temperatura de 30 °C, la vida media del insecticida es de 72 días a pH 4, de 40 días a pH 7 y de 24 días a pH 9. Además, en soluciones disueltas en aguas de río el 50% aproximadamente del compuesto fue degradado por iluminación natural en 30-40 días (WHO, 2004b).

9.2.5. En Flow Thin 50®: Fungicida carbendazim**Tabla 1.** Propiedades físicas y químicas del ingrediente activo carbendazim (WHO, 1993).

| | |
|---------------------------------|--|
| Estado físico del grado técnico | Sólido cristalino |
| Color | Blanco |
| Olor | Insignificante |
| Nombre químico | 2-(metoxicarbonilamino)-bencimidazol |
| Formula molecular | C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ |
| Peso molecular | 191,18 |
| Punto de fusión | 302 °C |
| Solubilidad en agua | 8,0 mg/L |
| Presión de vapor | < 1 x 10 ⁻⁷ Pa (< 1 x 10 ⁻⁹ mbar) at 20 °C |
| pKa a 25 °C | 0,40 |

Persistencia de carbendazim:

Carbendazim se descompone en el medio ambiente con una vida media de 6 a 12 meses sobre suelo desnudo, de 3 a 6 meses en el césped. En el agua la vida media es de 2 y 25 meses en condiciones aeróbicas y anaeróbicas, respectivamente. Carbendazim es principalmente descompuesto por los microorganismos, siendo 2-aminobenzimidazole (2-PR) el principal producto de degradación por la actividad microbiana.

9.3. Curva de calibración de amonio

El nitrógeno amoniacal excretado por los organismos fue determinado ajustando los valores de excreción a una curva de calibración de amonio (Figura 1). La misma fue realizada mediante la preparación de una solución madre de amonio (NH_4Cl anhidro y agua destilada), de la cual luego fueron obtenidas distintas concentraciones de amonio (Tabla 1). La determinación de amonio en cada concentración fue establecida mediante el uso de reactivos cuyos componentes constituyen una variante del reactivo de Nessler (Weatherburn, 1967). En estos fueron reemplazados el yoduro mercúrico (I_2Hg) y yoduro potásico (IK) por el nitroferrocianato de sodio, fenol e hipoclorito de sodio usado con hidróxido de sodio. La presencia de amonio (NH_4^+) en las concentraciones con reactivos determinó la formación de indofenol de coloración azul intenso que fue leído colorimétricamente a una longitud de onda de 630 nm, ajustando la absorbancia con un blanco.

Tabla 1. Valores de concentraciones de amonio evaluadas y determinadas por absorbancia.

| Patrón N° | Concentraciones preparadas de amonio (mg/L) | Concentraciones reales de amonio (mg/L) |
|-----------|---|---|
| 1 | 0,0 | 0,0000 |
| 2 | 0,2 | 0,0147 |
| 3 | 0,4 | 0,0305 |
| 4 | 0,6 | 0,0460 |
| 5 | 0,8 | 0,0631 |
| 6 | 0,1 | 0,0758 |
| 7 | 1,2 | 0,0936 |
| 8 | 1,4 | 0,1094 |
| 9 | 1,6 | 0,1272 |

Los valores de las concentraciones preparadas de amonio y los determinados colorimétricamente fueron relacionados por regresión, y la ecuación obtenida fue:

$$Y = a * X + b$$

Donde el a representa la intercepción al eje Y (N-NH₄), mientras que b es la pendiente de la recta de regresión, cuyos valores son:

$$\text{N-NH}_4 \text{ (mg/L)} = 0,0139 * \text{Lectura} + 12,658$$

Coefficiente de correlación (r) = 0,999

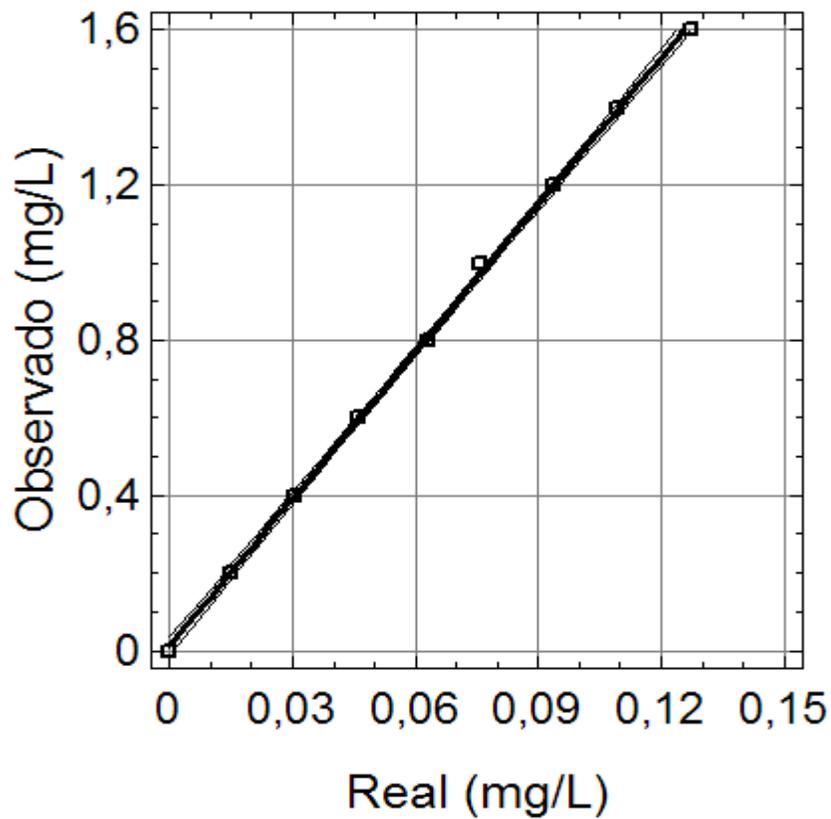


Figura 1. Relación lineal entre las concentraciones de amonio preparadas y determinadas por absorbancia.

9.4. Ensayos letales agudos: Relación concentración – respuesta.

Tabla 1. Valores de Chi-cuadrado (X^2), intersección y pendiente de la recta de regresión de la relación concentración – respuesta del camarón *P. argentinus* y el cangrejo *T. borellianus* en exposición letal aguda a diferentes herbicidas.

| Datos de la relación concentración - respuesta | | | | | | |
|--|-----------------------|---------|------------------------|----------|----------------------------|-------|
| Agroquímicos | Especies | Réplica | Chi-cuadrado (X^2) | | Parámetros de la regresión | |
| | | | Observado | En tabla | a | b |
| Glifosato Roundup® | <i>P. argentinus</i> | A | 5,452 | 7,815 | 5,807 | 0,766 |
| | | B | 2,734 | 7,815 | 6,841 | 2,452 |
| | | C | 4,560 | 7,815 | 6,300 | 1,647 |
| | <i>T. borellianus</i> | A | 4,824 | 7,815 | 8,644 | 2,975 |
| | | B | 2,178 | 7,815 | 8,731 | 2,760 |
| | | C | 5,244 | 7,815 | 8,958 | 3,287 |
| 2,4-D Herbifen Super® | <i>P. argentinus</i> | A | 8,739 | 9,488 | 0,626 | 4,509 |
| | | B | 6,013 | 9,488 | 1,815 | 4,045 |
| | | C | 7,354 | 9,488 | 2,612 | 3,006 |
| | <i>T. borellianus</i> | A | 4,018 | 9,488 | -6,332 | 7,176 |
| | | B | 7,186 | 9,488 | 0,688 | 2,712 |
| | | C | 5,297 | 9,488 | 0,574 | 3,103 |

Tabla 2. Valores de Chi-cuadrado (X^2), intersección y pendiente de la recta de regresión de la relación concentración – respuesta del camarón *P. argentinus* y el cangrejo *T. borellianus* en exposición letal aguda a diferentes insecticida.

| Datos de la relación concentración - respuesta | | | | | | |
|--|-----------------------|---------|------------------------|----------|----------------------------|-------|
| Agroquímicos | Especies | Réplica | Chi-cuadrado (X^2) | | Parámetros de la regresión | |
| | | | Observado | En tabla | a | b |
| Endosulfán Zebra Ciagro [®] | <i>P. argentinus</i> | A | 2,584 | 7,815 | 0,037 | 5,451 |
| | | B | 4,236 | 7,815 | 3,169 | 2,698 |
| | | C | 2,461 | 7,815 | 1,928 | 4,135 |
| | <i>T. borellianus</i> | A | 0,024 | 7,815 | -19,582 | 7,542 |
| | | B | 2,980 | 7,815 | -18,678 | 5,443 |
| | | C | 3,284 | 7,815 | -17,964 | 6,821 |
| Clorpirifós Terminator Ciagro [®] | <i>P. argentinus</i> | A | 14,751 | 15,751 | 5,674 | 0,979 |
| | | B | 12,389 | 15,751 | 5,290 | 1,479 |
| | | C | 13,074 | 15,751 | 5,314 | 1,354 |
| | <i>T. borellianus</i> | A | 3,195 | 11,070 | 0,867 | 3,541 |
| | | B | 2,413 | 11,070 | 0,335 | 2,943 |
| | | C | 2,620 | 11,070 | -1,551 | 4,149 |

Tabla 3. Valores de Chi-cuadrado (X^2), intersección y pendiente de la recta de regresión de la relación concentración – respuesta del camarón *P. argentinus* en exposición letal aguda a diferentes fungicidas.

| Datos de la relación concentración - respuesta | | | | | | |
|---|----------------------|---------|------------------------|----------|----------------------------|-------|
| Agroquímicos | Especies | Réplica | Chi-cuadrado (X^2) | | Parámetros de la regresión | |
| | | | Observado | En tabla | a | b |
| Carbendazim Flow Thin 50 [®] | <i>P. argentinus</i> | A | 7,543 | 12,592 | 8,078 | 2,621 |
| | | B | 6,951 | 12,592 | 7,268 | 1,819 |
| | | C | 8,656 | 12,592 | 5,066 | 1,463 |
| Carbendazim- tiram Flow Thin 15-35 [®] | <i>P. argentinus</i> | A | 3,175 | 11,070 | 6,054 | 2,423 |
| | | B | 7,195 | 11,070 | 6,074 | 2,563 |
| | | C | 0,939 | 11,070 | 6,377 | 3,766 |