



## Efecto subletal del plaguicida spirotetramat sobre los lípidos totales del camarón de agua dulce *Macrobrachium borellii*

Constanza Mulreedy<sup>1</sup>, Laura Cornaglia<sup>1</sup>, Fernando Spaccesi<sup>1</sup>, Karine Delevati Colpo<sup>1</sup>  
y Sabrina Lavarías<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Limnología Dr. Raúl A. Ringuelet (UNLP-CONICET) – Boulevard 120 y 60, La Plata (1900), Buenos Aires, Argentina.

Email: mulreedy.constanza@yahoo.com

### RESUMEN

Para evaluar los riesgos ecotoxicológicos de los plaguicidas es necesario realizar ensayos en organismos sensibles. En este trabajo se estudió el efecto del plaguicida de nueva generación spirotetramat, un ácido tetrámico que inhibe la síntesis de lípidos, sobre el camarón *Macrobrachium borellii*. Los camarones fueron expuestos a concentraciones subletales del plaguicida spirotetramat (0,6 y 1,2 mg/L) durante 4 y 10 días. Para cada ensayo se agregó un grupo control. Los lípidos totales fueron extraídos y analizados. Se compararon las variaciones estacionales de invierno y verano con 4 días de exposición (1,2 mg/L) y no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ). Sin embargo, en el ensayo de 4 días realizado en invierno se observó una disminución de los lípidos entre los camarones expuestos a 0,6 mg/L con respecto al control ( $p < 0,05$ ). Mientras que en el ensayo de 10 días se observó una tendencia al aumento en el contenido de lípidos en los camarones expuestos.

Palabras claves: PLAGUICIDAS – CRUSTÁCEOS - TOXICIDAD

### Introducción

Los plaguicidas son muy utilizados a nivel global para el control de plagas en los cultivos. Argentina es un país productor agrícola de importancia, lo que conlleva al uso intensivo de tales compuestos que impactan sobre la calidad del ambiente (Villaamil Lepori et al., 2013). Los insecticidas más utilizados son principalmente los organofosforados y piretroides (Bonicatto et al., 2013). Sin embargo, los ecosistemas acuáticos cercanos a las áreas de aplicación pueden resultar contaminados por estos plaguicidas que ingresan por escorrentía, derrame accidental o por exceso de pulverización directa (Bonicatto et al., 2013). Varios estudios han demostrado que los invertebrados acuáticos y los peces son extremadamente sensibles a sus efectos neurotóxicos alterando diversas funciones vitales (Palmquist et al., 2012). Como una alternativa más benévola para el ambiente, surgen los plaguicidas de última generación como el Spirotetramat (STM), cuyo mecanismo de acción es la inhibición de la lipogénesis afectando el crecimiento y la reproducción (Brück et al., 2009). Debido a que en nuestro

país ya se está comercializando, surge la necesidad de evaluar su efecto tóxico en organismos que no son su blanco de acción. Considerando que varias especies de crustáceos muestran sensibilidad a pesticidas (Lavarías et al., 2013; Chang et al., 2012), se seleccionó la especie *Macrobrachium borellii* (Nobili, 1896), un camarón común en los arroyos pampeanos, como modelo de estudio. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de concentraciones subletales del STM (Movento®) sobre la concentración de lípidos totales en el hepatopáncreas, órgano principal del metabolismo energético y detoxificación en los crustáceos.

### Materiales y métodos

#### Muestreo y mantenimiento de los camarones

Camarones adultos de *M. borellii* fueron recolectados en un arroyo cercano al Río de la Plata próximo a la ciudad de Magdalena (35°8'18"S y 57°33'58"O), Provincia de Buenos Aires. Los muestreos se realizaron utilizando copos y tamices. Los camarones fueron acondicionados en recipientes de 30 L para

transporte al Laboratorio de Bentos, Instituto de Limnología Dr. Raul Ringuelet. En el laboratorio se mantuvieron en peceras con agua declorinada, oxigenación constante, temperatura  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  y fotoperiodo natural durante un mes aproximadamente, para su aclimatación y depuración. En ese periodo los camarones fueron alimentados con la dieta recomendada por Collins y Petriella (1996).

### Ensayos subletales de exposición con el insecticida STM

El primer ensayo tuvo como objetivo específico comparar el efecto de la dosis 1,2 mg/L de STM en la concentración de lípidos en el hepatopáncreas entre dos momentos del año en que las demandas metabólicas de los camarones son distintas. Uno en verano (ensayo realizado en enero) cuando la especie está en su período reproductivo, y otro en invierno (ensayo realizado en junio) cuando los camarones están en un período de crecimiento. Este ensayo tuvo duración de 4 días.

En un segundo ensayo, el objetivo fue comparar el efecto de las dosis 0,6 mg/L y 1,2 mg/L de STM en la concentración de lípidos en el hepatopáncreas entre diferentes tiempos de exposición (4 días y 10 días). Este ensayo se realizó en invierno (junio) cuando los camarones están en una misma condición metabólica.

Para ambos ensayos, 4 camarones fueron colocados en frascos de 2,5 litros (4 frascos por tratamiento N=16), y se los expuso a las respectivas concentraciones subletales de STM (0,6 mg/L y 1,2 mg/L) con agua declorinada, sin oxigenación, fotoperiodo natural, temperatura  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  y en ayunas. Para cada ensayo se mantuvo un grupo control sin plaguicida. Se realizó el cambio de medio cada 24 horas.

### Diseción de los organismos

Finalizado el período de exposición, los camarones fueron anestesiados en hielo por 5 minutos; pasado este tiempo se procedió a pesarlos y medir el largo de su cefalotórax. Luego se extrajeron los hepatopáncreas con pinzas (se agruparon en 4 pools de 4 individuos). Las muestras se conservaron en freezer a  $-20^\circ\text{C}$  para los estudios de lípidos.

### Extracción de lípidos

Se extrajeron los lípidos de los pools con la mezcla de solventes cloroformo/metanol (2:1 v/v) de acuerdo al método de Folch et al. (1957) y la cantidad de lípidos se determinó por gravimetría.

### Análisis estadístico

Para evaluar las diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ) se calcularon las medias  $\pm$  desvíos estándar (SD) y se analizaron usando t-Student y ANOVA.

## Resultados

### Efecto estacional del STM sobre el contenido lipídico de *M. borellii*.

Como se muestra en la Tabla 1 durante la temporada de invierno no se observaron diferencias entre los camarones control y los expuestos. Aunque en verano se observa una leve tendencia a disminuir el contenido de lípidos totales con la exposición al STM no resultaron significativamente diferentes a los controles. Sí se observa una diferencia significativa entre las estaciones ( $p < 0,05$ ).

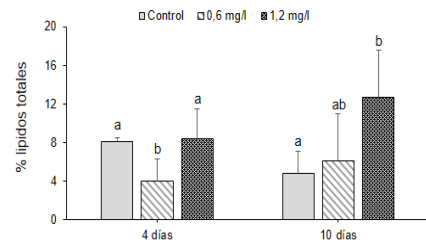
**Tabla 1.** Efecto subletal del STM sobre los lípidos totales del hepatopáncreas de *M. borellii* ensayados en diferentes estaciones.

Valores expresados como la media del % de lípidos en relación al peso húmedo + SD (n=4). Significativo ( $p < 0,05$ ), (ns) no significativo

	Control	1,2 mg/L STM	p
Invierno	8,15 $\pm$ 0,40	8,44 $\pm$ 3,10	ns
Verano	3,78 $\pm$ 1,44	2,35 $\pm$ 1,19	ns

### Efecto de la exposición a distintas concentraciones de Stm Movento® en *M. borellii* durante el invierno.

Durante el ensayo de 4 días se observó en los camarones expuestos a 0,6 mg/l de STM una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) de los lípidos totales con respecto a los controles (Fig. 1). Como se mencionó anteriormente la exposición a 1,2 mg/L de STM no provocó alteración en este parámetro. Sin embargo a los 10 días de exposición el STM causó un aumento dosis-dependiente en el contenido lipídico de los hepatopáncreas resultando significativo ( $p < 0,05$ ).



**Fig. 1.** Efecto subletal del STM sobre los lípidos totales del hepatopáncreas de *M. borellii* ensayados en invierno.

## Discusión

Los lípidos representan las principales reservas energéticas de los camarones (Lavarías et al., 2005). El efecto inhibitorio del STM se observó a la menor concentración durante la exposición aguda (4 días) y en verano. Este hecho podría afectar principalmente el crecimiento de los juveniles y deteriorar la reproducción por inhibición de la vitelogenénesis, sobre todo durante la época estival (Chen y Stark, 2010). Bajo estas condiciones queda en evidencia el mecanismo tóxico de este nuevo producto que es inhibir los lípidos como recurso energético indispensable para la reproducción (Brück et al., 2009). Sin embargo, bajo los tratamientos más estresantes (mayor concentración y tiempo de exposición) se observa una tendencia a acumular lípidos. Esta "lipogénesis" es un síntoma característico provocado por contaminantes orgánicos en los tejidos encargados de la detoxificación, como el hepatopáncreas de los crustáceos (Raftopoulou et al., 2006). Por lo tanto los resultados obtenidos en *M. borellii*, representan un punto de partida para evaluar un nuevo plaguicida del que se sabe muy poco sobre sus riesgos ecotoxicológicos en especies autóctonas de los sistemas dulceacuícolas de nuestro país. Sería interesante seguir investigando sobre el perfil lipídico, en particular en diferentes estados de desarrollo de este organismo ya que tienen diferentes necesidades metabólicas (Heras et al., 2000).

## Conclusiones

Los resultados del presente trabajo muestran que el plaguicida STM afecta el contenido de lípidos totales en el hepatopáncreas de *M. borellii*. Por lo tanto, se propone evaluar el efecto de este plaguicida sobre otros organismos que forman parte de los ambientes donde son aplicados.

## Agradecimientos

El presente trabajo fue financiado por el Proyecto PIP CONICET 2014-0570 y el N 869 de FCNyM-UNLP Director A. Rodrigues Capítulo.

## Referencias

Bonicatto, C., Jaurequiberry, I., González, C., Alarcón, P., Castellano, G., Echegaray, A., Luliano, R., Lara, I. 2013. Relevamiento de la utilización de agroquímicos en la Provincia de Buenos Aires. Defensor del Pueblo de la Provincia de Buenos Aires y la Universidad Nacional de la Plata.

- Brück, E., Elbert, A., Fischer, R., Krueger, S., Kühnhold, J., Klueken, A.M., Nauen, R., Niebes, J.F., Reckmann, U., Schnorbach, H.J., Steffens, R. y van Waetermeulen, X. 2009. Movento, an innovative ambimobile insecticide for sucking insect pest control in agriculture: Biological profile and field performance. *Crop Protec.*, 28:838–844.
- Chang, C.C., Rahmawaty, A. y Chang, Z.W. 2012. Molecular and immunological responses of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, to the organophosphorus insecticide, trichlorfon. *Aquat. Toxicol.*, 130-131:18–26.
- Chen, X.D. y Stark, J.D. 2010. Individual -and population- level toxicity of the insecticide, spirotetramat and the agricultural adjuvant, Destiny to the Cladoceran, *Ceriodaphnia dubia*. *Ecotoxicol.*, 19:1124–1129.
- Collins, P.A. y Petriella, A.M. 1996. Crecimiento y supervivencia del camarón *Macrobrachium borellii* (Decapoda: Palaemonidae) alimentado con dietas artificiales. *Neotrópica*, 42: 3-7.
- Folch, J., Lees, M. y Sloane-Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226:497-509.
- Heras, H., González-Baró, M.R. y Pollero, R.J. 2000. Lipid and fatty acid composition and energy partitioning during embryo development in the shrimp *Macrobrachium borellii*. *Lipids*, 35(6):645-651.
- Lavarías, S., Dreon, M., Pollero, R. y Heras, H. 2005. Change in phosphatidylcholine molecular species in the shrimp *Macrobrachium borellii* in response to water-soluble fraction of petroleum. *Lipids*, 40:487-494.
- Lavarías, S., García, C., Crespo, R., Pedrini, N. y Heras, H. 2013. Study of biochemical biomarkers in freshwater prawn *Macrobrachium borellii* (Crustacea: Palaemonidae) exposed to organophosphate fenitrothion. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 96:10-16.
- Palmquist, K., Salatas J. y Fairbrother A. 2012. Pyrethroid insecticides: Use, environmental fate, and ecotoxicology. En: Perveen, F. (Ed.). *Insecticides - Advances in Integrated Pest Manag.*, InTech, Rijeka, Croatia. 251–278.
- Raftopoulou, E.K., Dailianis, S., Dimitriadis, V.K. y Kaloyianni, M. 2006. Introduction of cAMP and establishment of neutral lipids alterations as pollution biomarkers using the mussel *Mytilus galloprovincialis*. Correlation with a battery of biomarkers. *Sci. Tot. Environ.*, 368:597–614.
- Villaamil-Lepori, E.C., Bovi Mitre, G. y Nassetta, M. 2013. Situación actual de la contaminación por plaguicidas en Argentina. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 29:25-43.