

## ESTRÉS OXIDATIVO Y RESPUESTA ANTIOXIDANTE EN ZOOPLANCTON EXPUESTO A PLAGUICIDAS

*(Oxidative stress and antioxidant response in zooplankton exposed to pesticides)*

María del Rocío FRANCO<sup>1\*</sup>; María Florencia GONZALEZ<sup>2</sup>; María Florencia KRONBERG<sup>3</sup>; Antonella DIEZ<sup>4</sup>; Claudia GÓMEZ<sup>5</sup>; Thiago Machado da Silva ACIOLY<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS), Balcarce (7620), Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>Universidad Nacional de Córdoba; <sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires;

<sup>4</sup>Instituto Argentino de Oceanografía; <sup>5</sup>Universidad Nacional de Asunción; <sup>6</sup>Centro de Estudios Morfofisiológicos Avanzados. \*E-mail: franco.maria@inta.gob.ar

### RESUMEN

*El estudio de la inducción de estrés oxidativo y de respuesta antioxidante, es una herramienta para evaluar los efectos toxicológicos en organismos acuáticos. El desbalance en la producción de especies reactivas de oxígeno puede ser provocado por diversas sustancias químicas, como los plaguicidas. Tanto los daños provocados por estrés oxidativo como la alteración de la respuesta antioxidante en los organismos acuáticos, pueden ser buenos biomarcadores para evaluar la contaminación de los ambientes acuáticos. Esta revisión consistió en una recopilación bibliográfica sobre el empleo del zooplancton como bioindicador de exposición a plaguicidas, utilizando biomarcadores de estrés oxidativo. El objetivo general es contribuir al diseño de estrategias de biomonitoreo ambiental para evaluar los efectos del uso de plaguicidas sobre el ecosistema acuático. Se revisaron un total de 14 artículos, en los cuales los piretroides fueron el grupo de insecticidas más estudiados (40%), junto con el orden Cladocera (36%). Se observó una preferencia por los biomarcadores enzimáticos, siendo la catalasa (CAT) el más utilizado y, la peroxidación de lípidica mediante la determinación de malondialdehído (MDA). Las técnicas tradicionales continúan en auge, sin embargo, se observa una evolución en la aparición de nuevos biomarcadores y herramientas de medición de estrés oxidativo por exposición a plaguicidas. Las perspectivas a futuro sugieren que es necesario profundizar la investigación sobre efectos de mezclas de plaguicidas, así como ensayos a campo, con el fin de evaluar condiciones reales de estrés oxidativo y respuestas al daño oxidativo en zooplancton.*

**Palabras-clave:** *Ecotoxicología, biomonitoreo, crustáceos, catalasa, superóxido dismutasa.*

### RESUMO

O estudo da indução de estresse oxidativo e resposta antioxidante é uma ferramenta para avaliar os efeitos toxicológicos em organismos aquáticos. O desequilíbrio na produção de espécies reativas de oxigênio pode ser causado por diversas substâncias químicas, como os agrotóxicos. Tanto os danos causados pelo estresse oxidativo quanto a alteração da resposta antioxidante em organismos aquáticos podem ser bons biomarcadores para avaliar a contaminação de ambientes aquáticos. Esta revisão consistiu na compilação bibliográfica sobre o uso do zooplâncton como bioindicador de exposição a agrotóxicos, utilizando biomarcadores de estresse oxidativo. O objetivo geral é contribuir para o desenho de estratégias de biomonitoramento ambiental para avaliar os efeitos do uso de agrotóxicos no ecossistema aquático. Foram revisados 14 artigos, nos quais os piretróides foram o grupo de inseticidas mais estudado (40%), juntamente com a ordem Cladocera (36%). Observou-se preferência por biomarcadores enzimáticos, sendo a catalase (CAT) a mais utilizada, e a peroxidação lipídica através da determinação do malondialdeído (MDA). As técnicas tradicionais continuam a florescer; no entanto, observa-se uma evolução no surgimento de novos biomarcadores e ferramentas para mensurar o estresse oxidativo devido à exposição a agrotóxicos. Perspectivas futuras sugerem que é necessário aprofundar pesquisas sobre os efeitos de misturas de agrotóxicos, bem como ensaios de campo, a fim de avaliar condições reais de estresse oxidativo e respostas a danos oxidativos no zooplâncton.

**Palavras-chave:** Ecotoxicologia, biomonitoramento, crustáceos, peroxidação lipídica, radicais livres.

## INTRODUCCIÓN

Debido a la creciente demanda mundial de alimentos la producción agrícola basada en tecnologías, dependen en gran medida del uso de insumos, como los plaguicidas (DE GERÓNIMO *et al.*, 2014). Entre los xenobióticos, los plaguicidas son los contaminantes más frecuentemente encontrados, debido a su uso intensivo y extensivo a nivel mundial (WANG *et al.*, 2022). Pueden alcanzar los cuerpos de agua superficiales por deriva de las aplicaciones aéreas, lixiviación y/o escurrimiento superficial. En el agua, pueden depositarse en el sedimento de fondo, adsorberse a las partículas sólidas en suspensión o ser absorbido por los organismos acuáticos, pudiendo acumularse en los tejidos, ejercer un efecto tóxico, ser detoxificado o eliminado parcialmente (NEVES *et al.*, 2015; PÉREZ *et al.*, 2021).

De esta forma, la contaminación del agua por plaguicidas resulta ser uno de los problemas más importantes a enfrentar en el siglo XXI, debido a que el destino ambiental de estas sustancias es complejo (NEVES *et al.*, 2015). Por tanto, el uso inapropiado de los plaguicidas amenaza potencialmente la vitalidad de los ecosistemas acuáticos, ya que han sido estudiados como causantes del estrés oxidativo en diversos organismos acuáticos (LUSHCHAK, 2011).

Existen numerosos test de ecotoxicidad que emplean especies bioindicadoras para evaluar los efectos de productos químicos en aguas y sedimentos, así como de muestras ambientales. La evaluación de los efectos de los contaminantes también puede comprender el uso de biomarcadores, los cuales son señales sensibles de alerta temprana de exposición evaluadas como variaciones bioquímicas, celulares, fisiológicas o de comportamiento, en tejidos o en fluidos corporales (BETTINETTI *et al.*, 2012). Las respuestas de los biomarcadores suelen estar relacionadas con clases de compuestos y su modo de acción específica, por lo que se recomienda el uso de una batería de biomarcadores sensibles para establecer una relación adecuada entre los factores estresantes y los efectos ecológicos (SLANINOVA *et al.*, 2009).

Los biomarcadores pueden ser específicos o no específicos de la sustancia tóxica, por ejemplo, la metalotioneína, biomarcador específico ampliamente utilizado para indicar la presencia de metales pesados (GIGUÈRE *et al.*, 2003). Por otra parte, dado que varios contaminantes pueden inducir un desbalance redox en el organismo expuesto, la determinación del daño oxidativo (daño al ADN, oxidación de proteínas, peroxidación lipídica) y/o la variación de respuestas antioxidantes (enzimas catalasa, superóxido dismutasa, sistema glutatión, tioredoxina) en especies acuáticas es comúnmente empleado como un biomarcador no específico (SLANINOVA *et al.*, 2009).

El zooplancton comprende un grupo muy diverso de organismos heterótrofos tales como protozoarios anélidos, artrópodos hasta vertebrados en estadios larvales. rotíferos y una variedad de pequeños crustáceos; copépodos de cnidarios entre otros (BRUSCA y BRUSCA, 2005). Se los ha utilizado durante mucho tiempo como un grupo adecuado para evaluar el impacto del cambio ambiental, en parte debido a su posición intermedia en la red alimentaria trófica (siendo consumidores de algas y bacterias, y potenciales presas para invertebrados, aves acuáticas y peces juveniles); y también debido a la estrecha relación entre los factores ambientales y la composición y abundancia de las

especies ya que están influenciadas principalmente por sus migraciones verticales, agregación, épocas climáticas y además por factores antropogénicos y naturales como salinidad, temperatura, eutrofización entre otros (NEVES *et al.*, 2015).

El presente estudio consiste en una revisión bibliográfica sobre el uso del zooplancton como bioindicador de exposición a plaguicidas, utilizando biomarcadores de estrés oxidativo. El objetivo general es contribuir al diseño de estrategias de biomonitorio ambiental, y analizar los impactos humanos sobre el ecosistema acuático, como consecuencia del uso indiscriminado de plaguicidas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Búsqueda bibliográfica

Se realizó una búsqueda bibliográfica entre mayo y junio de 2022, la recopilación de datos se obtuvo de artículos de investigación originales disponibles en Science Direct (<https://www.sciencedirect.com>) y Scopus (<https://www.scopus.com/home.uri>), comprendiendo el período 2010-2022, y utilizando una combinación de los siguientes caracteres: ZOOPLANKTON + OXIDATIVE STRESS + PESTICIDE. Después de esta selección, los artículos fueron leídos y aquellos estudios que no estaban relacionados con el tema de investigación fueron excluidos.

### Clasificación de información

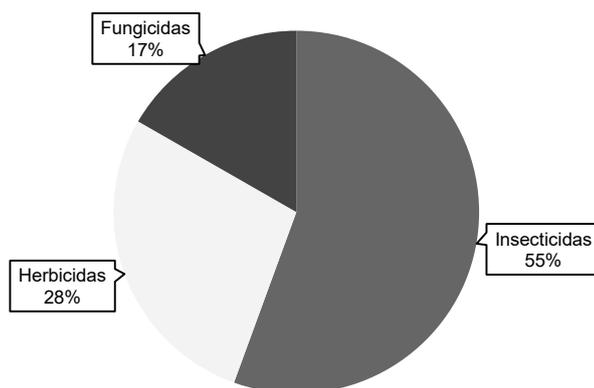
Luego de la lectura, se clasificó la información de acuerdo a diversos criterios: 1) Especies bajo estudio phylum, subphylum; orden y género. 2) Tipo de plaguicida empleado y grupo al que pertenece: insecticidas, herbicidas y fungicidas. 3) Condiciones en qué fueron determinados los biomarcadores: campo o laboratorio; 4) Tiempo de exposición 5) Tipo de biomarcadores medidos: a) Enzimáticos: Catalasa (CAT), Superóxido dismutasa (SOD), Glutación peroxidasa (GPx), Glutación Reductasa (GR), Glutación S-Transferasa (GST); b) Daño Oxidativo: Peroxidación lipídica (MDA), Especies reactivas de Oxígeno (EROS) y daño al ADN (ensayo cometa, micronúcleos (MN), ELISA) y Capacidad Antioxidante Total (CAOT) y; 6) Métodos analíticos utilizados para medir los biomarcadores.

### Análisis Estadístico

El análisis de los datos recopilados se llevó a cabo mediante estadística descriptiva. Con este propósito, se calcularon las frecuencias relativas y absolutas de los distintos plaguicidas, especies bioindicadoras, así como de los biomarcadores relevados. Para su representación se confeccionaron gráficos con las proporciones y tablas para organizar toda la información previamente clasificada. Asimismo, se elaboró una tabla analítica que indica el número de métodos utilizados para medir los biomarcadores por año, lo que identificó las tendencias y cambios en el uso de dichos métodos a lo largo del tiempo.

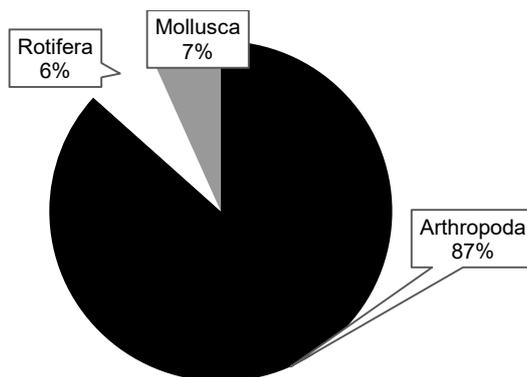
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se revisaron un total de 14 artículos, en los cuales 18 plaguicidas fueron evaluados, correspondiendo 55%, 28% y 17% a insecticidas, herbicidas y fungicidas respectivamente (Fig. 01). Los insecticidas más estudiados corresponden al grupo de los piretroides (40%), seguido por los neonicotinoides (20%); y en menor medida carbamatos, organofosforados, organoclorados y avermectinas (10%, respectivamente). Los herbicidas más estudiados pertenecieron al grupo de las cloroacetanilidas, acetanilida, organofosforado, dinitroanilina y organometal (20%, respectivamente); los principales grupos de fungicidas fueron triazol, cloronitrilo y organoclorado (33%, respectivamente).



**Figura 01:** Grupos de plaguicidas más estudiados, expresado en porcentaje (%).

Un 87% de las especies bioindicadores analizadas pertenecen al phylum Arthropoda, 7% al Mollusca y 6 % al Rotifera (Fig. 02). Dentro del phylum Arthropoda, el subphylum más representativo fue Crustacea. Los órdenes más estudiados fueron Cladocera, Decapoda y Cyclopoida con 36%, 29% y 14% respectivamente; en menor medida, Ostreidae, Ctenopoda, Ploima con 7% respectivamente. El orden Cladocera estuvo representado por el género *Daphnia*, mientras que en el orden Decapoda por los géneros *Penaeus*, *Palaemonetes*, *Eriocheir* y *Procambarus*.



**Figura 02:** Phylum más estudiado, expresado en porcentaje (%).

De los 14 artículos analizados la gran mayoría se han realizado bajo condiciones controladas de laboratorio, solo 2 investigaciones fueron realizadas bajo condiciones ambientales a campo, permitiendo inferir de esta manera en los efectos de múltiples

factores ambientales como temperatura, pH, oxígeno disuelto, salinidad y, diversos contaminantes presentes como metales pesados y compuestos orgánicos (BARKA *et al.*, 2020; ZEBRAL *et al.*, 2021). En la Tab. 01 se presenta la información detallada de los diferentes artículos analizados en relación a la especie bioindicadora bajo estudio, los plaguicidas medidos, así como las concentraciones, tiempos de exposición y condiciones de los ensayos con sus respectivas referencias.

**Tabla 01:** Concentraciones y tiempo de exposición en especies de zooplancton expuestos a plaguicidas.

Especie	Plaguicida	Concentración	Tiempo de exposición	Referencias
<i>Daphnia magna</i>	Metomilo Propoanil	10,5 363	48hs	Pereira <i>et al.</i> , 2010
<i>Penaeus monodon</i>	Deltametrina	0,1	96hs	Tu <i>et al.</i> , 2012
<i>Daphnia magna</i>	Guadipir	0 - 10000	24, 48hs	Qi <i>et al.</i> , 2013
<i>Caligus rogercresseyi</i>	Deltametrina <sup>(a)</sup>	1 - 3	30min	Mardones <i>et al.</i> , 2014
<i>Daphnia longispina</i>	s-metolaclor <sup>(b)</sup> s-metolaclor	8000 - 28000 - 13000 11500 - 26500	48hs	Neves <i>et al.</i> , 2015
<i>Crassostrea gigas</i>	Glifosato	0,1 - 100	0, 24hs, 7d, 14d, 56d	Mottier <i>et al.</i> , 2015
<i>Palaemonetes argentinus</i>	Clorpirifos	0,0035 - 0,0945	96hs	Bertrand <i>et al.</i> , 2016
<i>Daphnia magna</i> <i>Acanthocyclops robustus</i>	Deltametrina	0 - 0,03 - 0,09 - 0,23 <sup>(f)</sup> 0 - 0,005 - 0,009 - 0,023 <sup>(g)</sup>	48hs 7d	Barka <i>et al.</i> , 2016
<i>Eriocheir sinensis</i>	Deltametrina	0,073 - 0,146 - 0,291 - 0,582 - 1,164 <sup>(h)</sup>	48, 96hs	Hong <i>et al.</i> , 2018
<i>Acanthocyclops robustus</i> <i>Diaphanosoma mongolianum</i>	(c)	Conc. Ambientales <sup>(c)</sup>	Variación estacional <sup>(f)</sup>	Barka <i>et al.</i> , 2020
<i>Daphnia magna</i>	Abamectina <sup>(d)</sup> Difenoconazol <sup>(e)</sup>	0 - 0,002 - 0,004 - 0,006 0 - 12,5 - 25 - 50	48hs	Moreira <i>et al.</i> , 2020
Zooplancton <sup>c</sup>	Tifluralina Clorotalonil Diclofluanida HCHs <sup>(i)</sup> DDTs <sup>(k)</sup> Endosulfan <sup>(l)</sup>	Conc. ambientales <sup>(c)</sup>	Variación estacional <sup>(f)</sup>	Zebral <i>et al.</i> , 2021
<i>Procambarus clarkii</i>	Imidacloprid	0 - 2,5 - 25 - 250	7d	Huang <i>et al.</i> , 2021
<i>Brachionus plicatilis</i>	Trifeniltin	0 - 0,01 - 0,1 - 0,2	5d	Cao <i>et al.</i> , 2022

Se emplearon principios activos para las exposiciones y las concentraciones están expresadas en µg/L. <sup>(a)</sup>AlphaMaxTM; <sup>(b)</sup>Primextra®; Gold TZ; <sup>(c)</sup>no informada; <sup>(d)</sup>Kraft® 36 EC; <sup>(e)</sup>Score® 250 E; <sup>(f)</sup>1/2, 1/5, 1/15 de CL<sub>50/48hs</sub> (0,45 µg/L) de *D. magna*; <sup>(g)</sup>1/20, 1/50, 1/100 de CL<sub>50/48hs</sub> (0,45 µg/L) de *D. magna*; <sup>(h)</sup>1/16, 1/8, 1/4, 1/2 y 1 de CL<sub>50/96hs</sub> de *E. sinensis*; <sup>(i)</sup>estudio a campo; <sup>(j)</sup>HCHs (α, β, y γ HCH); <sup>(k)</sup>DDTs (o,p'-DDT, p,p'-DDT, o,p'-DDE, y 4,4'-DDD); <sup>(l)</sup>Endosulfan sulfato, α y β Endosulfan.

En la Tab. 02 se agrupan los resultados relevantes de los biomarcadores con sus respectivas referencias.

**Tabla 02:** Respuesta de biomarcadores de estrés oxidativo en especies de zooplancton expuestos a plaguicidas.

Especie	Plaguicida	Biomarcadores	Respuesta	Referencias
<i>Daphnia magna</i>	Metomilo	SOD/CAT/GST	(-)	Pereira <i>et al.</i> , 2010
	Propoanil			
<i>Penaeus monodon</i>	Deltametrina	MDA/GST GSHt CAT/GPx	(-) (↑) (↓)	Tu <i>et al.</i> , 2012
<i>Daphnia magna</i>	Guadipir	GST CAT	(↑) 48hs (-)	Qi <i>et al.</i> , 2013
<i>Caligus rogercresseyi</i>	Deltametrina <sup>(a)</sup>	EG <sub>EA</sub>	(↑)	Mardones <i>et al.</i> , 2014
<i>Daphnia longispina</i>	s-metolaclor <sup>(b)</sup> s-metolaclor	P <sub>AG</sub>	(-)	Neves <i>et al.</i> , 2015
<i>Crassostrea gigas</i>	Glifosato	GST CAT MDA	(-) (↓) 24hs (↑) 0,1/1ug/L 7d (↑) 100ug/L 56d (↓) 1ug/L 7d	Mottier <i>et al.</i> , 2015
<i>Palaemonetes argentinus</i>	Clorpirifos	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /MDA/CA T/ GPx/GST	(↑)	Bertrand <i>et al.</i> , 2016
		SOD	(-)	
<i>Daphnia magna</i> <i>Acanthocyclops robustus</i>	Deltametrina	MN	(↑) 0,09/0,23µg/L (-) 0,03µg/L 48hs (-) 7d	Barka <i>et al.</i> , 2016
<i>Eriocheir sinensis</i>	Deltametrina	CAT CAOT SOD MDA H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> MN EC	(↓) (↑) 0,291/ 0,146/ 0,073µg/L 96hs (↓) 0,582 / 1,164µg/L 96hs (↑) 0,291/0,582/1,164µg/L 24hs (↓) 0,291/0,582/1,164µg/L 96hs (↑) (↑) excepto 0,073µg/L 96hs (↑) 0,291 /0,582/1,164µg/L 96hs (↑) 0,291/0,582/1,164µg/L 96hs	Hong <i>et al.</i> , 2018
<i>Acanthocyclops robustus</i> <i>Diaphanosoma mongolianum</i>	(c)	CAT MDA MN	(↑)/(↓) variación estacional  (↑) verano	Barka <i>et al.</i> , 2020
<i>Daphnia magna</i>	Abamectina <sup>(d)</sup> Difenoconazol <sup>(e)</sup>	CAT MDA	(-) Compuesto Individual (↑) Mezcla <sup>(*)</sup> (↑) Bajas conc. individual/Mezcla <sup>(*)</sup>	Moreira <i>et al.</i> , 2020
Zooplancton <sup>c</sup>	Tifluralina Clorotalonil Diclofluanida HCHs <sup>(i)</sup> DDTs <sup>(k)</sup> Endosulfan <sup>(l)</sup>	MDA	(↑) variación espacial	Zebral <i>et al.</i> , 2021
<i>Procambarus clarkii</i>	Imidacloprid	SOD/CAT/GPx MDA/EC/ELISA EG <sub>EA</sub>	(↑) 250µg/L (↑) 25/250µg/L (↑)	Huang <i>et al.</i> , 2021
<i>Brachionus plicatilis</i>	Trifeniltin	CAT	(↓) 0,01µg/L (↑) 0,2µg/L	Cao <i>et al.</i> , 2022
		SOD	(↑)	
		MDA	(↑) 0,01µg/L (↓) 0,1µg/L	

La respuesta = relación entre los valores obtenidos en el tratamiento con el plaguicida y los obtenidos en el control; flecha hacia arriba = incremento (↑), hacia abajo = decrecimiento (↓) o sin respuesta (-).  
<sup>(a)</sup>AlphaMaxTM; <sup>(b)</sup>Primextra® Gold TZ; <sup>(c)</sup>No informado; <sup>(d)</sup>Kraft® 36 EC; <sup>(e)</sup>Score® 250 E;  
<sup>(\*)</sup>Sinergismo en algunas conc. de mezcla; <sup>(i)</sup>HCHs (α, β, y γ HCH); <sup>(k)</sup>DDTs (o,p'-DDT, p,p'-DDT, o,p'-DDE, y 4,4'-DDD); <sup>(l)</sup>Endosulfan sulfato; α/β Endosulfan.

Sin embargo, se puede observar una preferencia por los biomarcadores enzimáticos, siendo entre ellos la CAT el más utilizado, ya que, de los 14 artículos analizados, 10 emplearon esta enzima como biomarcador. El siguiente biomarcador más utilizado es la peroxidación de lípidos (n=9) por acción de radicales libres, medida por el ensayo del malondialdehído (MDA). Se observa una frecuente combinación de estos dos biomarcadores y cabe destacar que con el pasar de los años, si bien se siguen utilizando las técnicas tradicionales, se observa una evolución en la aparición de nuevos biomarcadores y nuevas herramientas de medición del estrés oxidativo por exposición a plaguicidas (Tab. 03).

**Tabla 03:** Biomarcadores de estrés oxidativo utilizados en los últimos 10 años, en zooplancton expuesto a plaguicidas.

	S O D	C A T	G S T	G S Ht	G Px	E GAE	M D A	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	P <sub>AG</sub>	M N	C A O T	E C	ELISA
Pereira <i>et al.</i> (2010)	•	•	•										
Tu <i>et al.</i> (2012)		•	•	•	•		•						
Qi <i>et al.</i> (2013)		•	•										
Mardones <i>et al.</i> (2014)						•							
Neves <i>et al.</i> (2015)									•				
Mottier <i>et al.</i> (2015)		•	•				•						
Bertrand <i>et al.</i> (2016)	•	•	•		•		•	•					
Barka <i>et al.</i> (2016)											•		
Hong <i>et al.</i> (2018)	•	•					•	•			•	•	•
Barka <i>et al.</i> (2020)		•					•				•		
Moreira <i>et al.</i> (2020)		•					•						
Zebral <i>et al.</i> (2021)							•						
Huang <i>et al.</i> (2021)	•	•			•	•	•					•	•
Cao <i>et al.</i> (2022)	•	•					•						
TOTAL	5	10	5	1	3	2	9	2	1	3	1	2	1

### Biomarcadores de daño oxidativo

Huang *et al.* (2021) observaron en *Procambarus clarkii*, un aumento en los niveles de MDA por exposición al imidacloprid en concentraciones medias (25µg/L) y altas (250µg/L). Además, Moreira *et al.* (2020) detectaron peroxidación lipídica al exponer *D. magna* a bajas concentraciones del fungicida difenoconazol ya sea en forma individual y en una mezcla con el insecticida abamectina.

Bertrand *et al.* (2016) evaluaron la toxicidad del insecticida organofosforado clorpirifos en una especie de crustáceo nativo sudamericano: *Palaemonetes argentinus*. Este estudio evidenció un aumento significativo en el contenido de peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en cefalotórax y abdomen a concentraciones ambientalmente relevantes del contaminante. Además, se encontró un incremento de los niveles de peroxidación lipídica, estimada a través de la medición de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS por sus siglas en inglés) del extracto acuoso del cefalotórax y abdomen, encontrándose valores más importantes en el cefalotórax. Con este estudio se resalta además la relevancia de utilizar especies nativas como bioindicadoras de la contaminación específica de cada región, ya que la sensibilidad a los contaminantes varía según la especie.

Otro tipo de daño por radicales libres que suele evaluarse al analizar la toxicidad de los plaguicidas es la alteración del ADN. mediante el ensayo cometa. Hong *et al.* (2018) encontraron mediante esta metodología que el ADN del cangrejo *Eriocheir sinensis* resultó significativamente dañado por la exposición a deltametrina (DL), incluso por debajo de la concentración segura (0,293µg/L), en 24 horas de exposición. Por otro lado, utilizando la misma metodología, Huang *et al.* (2021) reportaron un daño severo en el ADN en células de la hepatopáncreas de *Procambarus clarkii* expuestas a concentraciones medias y altas del insecticida imidacloprid. Otra forma es a través de la observación de MN.

Según Barka *et al.* (2016), el ensayo de MN es una técnica rápida, barata y fácil de usar que consiste en detectar aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas, es considerado como un biomarcador sensible de daño cromosómico o disfunción del huso mitótico. Los mismos autores han aplicado este ensayo para evaluar genotoxicidad en microcrustáceos y han encontrado una relación dosis-respuesta en la inducción de MN en *D. magna* luego de dos días de exposición al insecticida deltametrina.

### **Respuestas antioxidantes como biomarcadores**

La medida de la respuesta antioxidante, puede comprender el análisis de enzimas detoxificantes de EROS, como CAT o SOD, o el análisis de antioxidantes no enzimáticos, como el secuestrador de EROS  $\alpha$ -tocoferol. Bertrand *et al.* (2016) estudiaron la respuesta antioxidante del *P. argentinus* ante su exposición a concentraciones ambientalmente relevantes de clorpirifos, evidenciando una inducción de la actividad de enzimas antioxidantes como GST, CAT y GPx. Otros autores encontraron variación del  $\alpha$ -tocoferol entre las partes del cuerpo estudiadas, que indicaría la existencia de un transporte de este antioxidante desde el abdomen al cefalotórax de modo de evitar la oxidación de moléculas vitales.

### **Herramientas de medición de respuesta a estrés oxidativo basadas en el análisis de la expresión génica**

Una alternativa para la determinación de la actividad de enzimas detoxificantes de EROS, es el análisis de la expresión de los genes que codifican para esas proteínas, como medida de la inducción de una respuesta antioxidante por la presencia del plaguicida. Así, por ejemplo, Huang *et al.* (2021) determinaron como era modulada la

expresión de los genes que codifican para las enzimas antioxidantes y para factores relacionados con la inmunidad, incluidos CZ-SOD, CAT, GPx, GST, AFL, proPO, HSP27 y HSP70 en el cangrejo de río *Procambarus clarkii* por el insecticida imidacloprid. Este análisis les permitió confirmar la inducción de estrés oxidativo en todos los tratamientos con el plaguicida estudiado.

Una estrategia interesante para analizar biomarcadores de estrés oxidativo fue la desarrollada por Chavez-Mardones *et al.* (2014), mediante el análisis del transcriptoma por RNA-seqM en este trabajo se estudió cómo era modulada la respuesta antioxidante enzimática del copépodo *Caligus rogercresseyi* al insecticida piretroide deltametrina. Identificaron dentro de las secuencias obtenidas, 33 relacionadas a la respuesta oxidativa, entre las cuales se encontraron transcritos para GST, CAT, SOD, GPx, entre otros. Posteriormente, analizaron cómo la exposición a 2 ppt de deltametrina modula la expresión de algunos de estos transcritos, y encontraron que la actividad transcripcional de SOD, CAT, PRX6 (peroxirredoxina), PHGP1 y PHGP2 (Fosfolípido – hidroperóxido GPx) se sobreexpresó significativamente.

Pereira *et al.* (2010) también emplearon el análisis del transcriptoma para evaluar la respuesta a los plaguicidas metomil y propanil en *D. magna*. En este trabajo se utilizó la técnica de microarrays para identificar los genes regulados en respuesta a los xenobióticos, ambos plaguicidas promovieron cambios transcripcionales en genes relacionados al metabolismo energético, la muda y la biosíntesis de proteínas.

### **Implicaciones y direcciones futuras de la investigación**

Debido a la selección cuidadosa de las palabras clave utilizadas en la búsqueda bibliográfica, la cantidad de publicaciones que cumplieron con los criterios de inclusión fue limitada, restringiendo la aplicación de técnicas estadísticas más avanzadas. Por su parte, la escasez de estudios en este tema, sugiere la necesidad de futuras investigaciones para comprender mejor los efectos de los plaguicidas en los organismos del zooplancton.

## **CONCLUSIONES**

Los plaguicidas pueden producir diversos efectos tóxicos en los organismos zooplanctónicos generando un detrimento en eslabones superiores de la cadena trófica. Una vez más, se denota la capacidad de estos organismos de actuar como bioindicadores, especialmente los pertenecientes al subphylum Crustacea. De todas las investigaciones consultadas, los piretroides fueron el grupo de insecticidas más estudiado. Para evaluar el estrés oxidativo en organismos zooplanctónicos, es necesario medir una batería de biomarcadores, debido a que algunos organismos pueden mostrar más de una respuesta incluso frente al mismo plaguicida, sacrificando algunos recursos metabólicos para mantener la homeostasis interna. Además, es importante tener en cuenta cómo algunos parámetros físicoquímicos de calidad de agua pueden afectar la respuesta de estos organismos expuestos a plaguicidas.

Para comprender mejor los efectos de los plaguicidas en los organismos del zooplancton y los ecosistemas acuáticos en general, es necesario fomentar más

investigaciones. En particular, se deben llevar a cabo estudios que evalúen los efectos de mezclas de plaguicidas, ya que son escasos los trabajos de investigación que los han evaluado. También es importante profundizar la investigación sobre los efectos de los plaguicidas sobre el zooplancton a través del biomonitoreo a nivel de campo, con el fin de evaluar las condiciones reales del estrés oxidativo y respuestas al daño oxidativo de estos organismos expuestos a concentraciones ambientales. Complementando el estudio mediante la determinación de factores ambientales y la ampliación en el uso de biomarcadores de respuesta temprana como la EG<sub>EA</sub>.

## REFERENCIAS

- BARKA, S.; GDARA, I.; OUANES-BEN OTHMEN, Z.; MOUELHI, S.; EL BOUR, M.; HAMZA-CHAFFAI, A. Seasonal ecotoxicological monitoring of freshwater zooplankton in bir mcherga dam (tunisia). **Environmental Science and Pollution Research**, v.27, n.6, p.5670-5680, 2020.
- BARKA, S.; OUANES, Z.; GHARBI, A.; GDARA, I.; MOUELHI, S.; HAMZA-CHAFFAI, A. Monitoring genotoxicity in freshwater microcrustaceans: A new application of the micronucleus assay. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v.803, n.1, p.27-33, 2016.
- BERTRAND, L.; MONFERRÁN, M.V.; MOUNEYRAC, C.; BONANSEA, R.I.; ASIS, R.; AMÉ, M.V. Sensitive biomarker responses of the shrimp *Palaemonetes argentinus* exposed to chlorpyrifos at environmental concentrations: Roles of alpha-tocopherol and metallothioneins. **Aquatic Toxicology**, v.179, n.1, p.72-81, 2016.
- BETTINETTI, R.; GARIBALDI, L.; LEONI, B.; QUADRONI, S.; GALASSI, S. Zooplankton as an early warning system of persistent organic pollutants contamination in a deep lake (lake Iseo, Northern Italy). **Journal of Limnology**, v.71, n.2, p.335-338, 2012.
- BRUSCA, R.C.; BRUSCA, G.J. **Invertebrados**. 2. ed. México D.F.: McGraw-Hill Interamericana, 2005.
- CAO, Z.; LI, P.; CAO, X.; WANG, X.; LIU, B.; HE, S.; GAO, G.; LU, R.; LI, Z.H. Reproductive toxicity of environmental levels of triphenyltin to the marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology**, v.254, p.109-272, 2022.
- CHAVEZ-MARDONES, J.; GALLARDO-ESCÁRATE, C. Deltamethrin (AlphaMax™) reveals modulation of genes related to oxidative stress in the ectoparasite *Caligus rogercresseyi*: Implications on delousing drug effectiveness. **Aquaculture**, v.433, p.421-429, 2014.
- DE GERÓNIMO, E.; APARICIO, V.C.; BÁRBARO, S.; PORTOCARRERO, R.; JAIME, S.; COSTA, J.L. Presence of pesticides in surface water from four sub-basins in Argentina. **Chemosphere**, v.107, p.423-431, 2014.

GIGUÈRE, A.; COUILLARD, Y.; CAMPBELL, P.G.; PERCEVAL, O.; HARE, L.; PINEL-ALLOUL, B.; PELLERIN, J. Steady-state distribution of metals among metallothionein and other cytosolic ligands and links to cytotoxicity in bivalves living along a polymetallic gradient. **Aquatic Toxicology**, v.64, n.2, p.185-200, 2003.

HONG, Y.; YANG, X.; HUANG, Y.; YAN, G.; CHENG, Y. Oxidative stress and genotoxic effect of deltamethrin exposure on the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology y Pharmacology**, v.212, p.25-33, 2018.

HUANG, Y.; HONG, Y.; YIN, H.; YAN, G.; HUANG, Q.; LI, Z.; HUANG, Z. Imidacloprid induces locomotion impairment of the freshwater crayfish, *Procambarus clarkii* via neurotoxicity and oxidative stress in digestive system. **Aquatic Toxicology**, v.238, p.105913, 2021.

LUSHCHAK, V.I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. **Aquatic Toxicology**, v.101, n.1, p.13-30. 2011

MOREIRA, R.A.; DE ARAUJO, G.S.; SILVA, A.R.R.G.; DAAM, M.A.; ROCHA, O.; SOARES, A.M.V.M.; LOUREIRO, S. Effects of abamectin-based and difenoconazole-based formulations and their mixtures in daphnia magna: A multiple endpoint approach. **Ecotoxicology**, v.29, n.9, p.1486-1499, 2020.

MOTTIER, A.; SÉGUIN, A.; DEVOS, A.; LE PABIC, C.; VOISEUX, C.; LEBEL, J.M.; COSTIL, K. Effects of subchronic exposure to glyphosate in juvenile oysters (*Crassostrea gigas*): From molecular to individual levels. **Marine Pollution Bulletin**, v.95, n.2, p.665-677, 2015.

NEVES, M.F.J.V.; CASTRO, B.B.; VIDAL, T.; VIEIRA, R.H.S.D.F.; MARQUES, J.C.; COUTINHO, J.A.P.; GONÇALVES, F.; GONÇALVES, A.M.M. Biochemical and populational responses of an aquatic bioindicator species, *Daphnia longispina*, to a commercial formulation of a herbicide (Primextra® Gold TZ) and its active ingredient (S-metolachlor). **Ecological Indicators**, v.53, p.220-230, 2015.

PEREIRA, J.L.; HILL, C.J.; SIBLY, R.M.; BOLSHAKOV, V.N.; GONÇALVES, F.; HECKMANN, L.H.; CALLAGHAN, A. Gene transcription in *Daphnia magna*: effects of acute exposure to a carbamate insecticide and an acetanilide herbicide. **Aquatic Toxicology**, v.97, n.3, p.268-276, 2010.

PÉREZ, D.J.; ITURBURU, F.G.; CALDERON, G.; OYESQUI, L.A.; DE GERÓNIMO, E.; APARICIO, V.C. Ecological risk assessment of current-use pesticides and biocides in soils, sediments and surface water of a mixed land-use basin of the Pampas region, Argentina. **Chemosphere**, v.263, p.128061, 2021.

QI, S.; WANG, C.; CHEN, X.; QIN, Z.; LI, X.; WANG, C. Toxicity assessments with *Daphnia magna* of Guadipyr, a new neonicotinoid insecticide and studies of its effect on acetylcholinesterase (AChE), glutathione S-transferase (GST), catalase (CAT) and chitobiase activities. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.98, p.339-344, 2013.

SLANINOVA, A.; SMUTNA, M.; MODRA, H.; SVOBODOVA, Z. A review: oxidative stress in fish induced by pesticides. **Neuroendocrinology Letters**, v.30, n.1, p.2-12, 2009.

TU, H.T.; SILVESTRE, F.; DE MEULDER, B.; THOME, J. P.; PHUONG, N.T.; KESTEMONT, P. Combined effects of deltamethrin, temperature and salinity on oxidative stress biomarkers and acetylcholinesterase activity in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). **Chemosphere**, v.86, n.1, p.83-91, 2012.

WANG, X.; SIAL, M.U.; BASHIR, M.A.; BILAL, M.; RAZA, Q.U.A.; ALI RAZA, H.M.; GENG, Y. Pesticides Xenobiotics in Soil Ecosystem and Their Remediation Approaches. **Sustainability**, v.14, n.6, p.33-53, 2022.

ZEBRAL, Y.D.; RIGHI, B.D.P.; ABOU ANNI, I.S.; ESCARRONE, A.L.V.; ROZA, M.; VIEIRA, C.E.D.; BIANCHINI, A. Pollution levels and biomarker responses in zooplankton from three hydrographic regions of southern Brazil: an integrated approach for water quality monitoring. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v.9, n.5, p.106-180, 2021.