



RESPUESTAS METABOLICAS DE *HYALELLA CURVISPIA* ANTE LA EXPOSICIÓN A CONCENTRACIONES AMBIENTALMENTE RELEVANTES DE MONENSINA.

^{1,2} **Aguilar Alexis**

1 Instituto Nacional de Limnología (UNL-CONICET)

2 Escuela Superior de Sanidad, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (UNL)

Director: Negro Carlos Leandro

Codirectora: Villagran Diana Mariel

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: Monensina (MON), *Hyalella curvispina*, Tasa de Consumo de Oxígeno (TCO).

INTRODUCCION

La creciente demanda mundial de productos ganaderos ha llevado a la intensificación de los sistemas de producción de animales para faena. En nuestro país la expansión de la frontera agrícola en los últimos años ha reducido la disponibilidad de tierras para pastoreo, lo que produjo que el modelo de producción vacuna tradicional se transformara en un modelo basado en sistemas de corrales con una alta densidad de ganado en superficies reducidas (Yoshida et al., 2013). Argentina se posiciona entre los primeros países exportadores de carne vacuna a nivel mundial (USDA, 2021), y para sostener tanto esta demanda externa como también el consumo interno, es común el uso de diversos fármacos veterinarios. El antibiótico Monensina (MON) es utilizado como antimicrobiano y promotor de crecimiento ya que ejerce presión selectiva sobre las bacterias ruminales, conduciendo a un incremento en la eficiencia de conversión del alimento (Bretschneider et al., 2008). Los fármacos de uso veterinario pueden llegar a los cuerpos de agua desde plantas de manufactura y mataderos (Scott et al. 2018 Pérez et al. 2021a), desde vertederos y/o efluentes de cría de animales (Masoner et al. 2016), por aplicación de estiércol como enmienda orgánica en suelos, por excreción directa de heces y orina (Song y Gou 2014). La transferencia de fármacos veterinarios, principalmente antibióticos, a los ambientes acuáticos es una problemática ya documentada en el sistema Paraná - De la Plata. La MON es un compuesto con alta frecuencia de detección y valores entre 0,05- 2,60 µg/L con un valor máximo detectado de 4,67 (Kergaravat et al.2018; Pérez et al., 2021a). La monensina está catalogada como contaminante prioritario por su elevada toxicidad potencial sobre la salud ambiental y humana (Capleton et al. 2006). En ensayos de toxicidad monoespecíficos, la concentración letal media (CL50 48hs) para el crustáceo *Daphnia magna* fue de 7,29 mg/L (EFSA, 2005), mientras que en estudios de mesocosmos, luego de 50 días de exposición a 500 µg/L, la MON modificó la abundancia y riqueza de especies planctónicas (Hillis et al. 2007). Sin embargo, estos estudios se han realizado utilizando concentraciones de MON mucho más altas que aquellas encontradas en el ambiente, por lo cual toma relevancia la evaluación de los efectos que estas concentraciones, más asociadas a escenarios reales, podrían tener. En este contexto, las ciencias ambientales y en especial la ecotoxicología brindan herramientas sumamente útiles para conocer los potenciales efectos que estos contaminantes podrían causar en la biota acuática. Un

Título proyecto: "Fármacos de uso veterinario en el ambiente: efectos en la biota acuática nativa y su implicancia para la evaluación del riesgo ecológico (ERA)", PICT- 2020-SERIEA-03010, financiado por FONCYT directora: Menone Mirta
Director: Carlos Leandro Negro

parámetro muy útil en la determinación de estos efectos son las modificaciones en el metabolismo, las cuales pueden ser abordadas a través de la medición de la tasa de consumo de oxígeno y la tasa de excreción de amonio. En la actualidad se toma en cuenta además de la muerte y de la bioacumulación de sustancias tóxicas, los efectos sobre sistemas fisiológicos específicos, donde el organismo puede tolerar las severas limitaciones ambientales, sin embargo, en presencia de sustancias tóxicas, la demanda de energía aumenta en detrimento de la necesaria para el mantenimiento de otras funciones vitales asimismo, se incluyen estas mediciones y la adaptación de los especímenes a niveles bajos o crónicos de los contaminantes. (Espina, S., & Vanegas, C. 2005). Dentro de los organismos test que pueden ser utilizados, diferentes metodologías estandarizadas recomiendan el uso de gammaridos. Sin embargo, algunas de las especies propuestas no poseen distribución en la Argentina, por lo cual toma mayor relevancia si estos ensayos de toxicidad se aplican sobre organismos equivalentes ecológicos locales. *Hyaella curvispina* (Shoemaker, 1942) es un anfípodo dulceacuícola ampliamente distribuido en Sudamérica. Puede encontrarse nadando en el agua, asociada a la vegetación o a los sedimentos, por lo que cumple un rol fundamental en las tramas tróficas de los ecosistemas acuáticos, siendo alimento de invertebrados más grandes y peces (Peralta, 2001). Ha demostrado ser una especie modelo de invertebrado acuático muy útil para la evaluación de efectos de distintos xenobióticos presentes tanto en agua como en sedimentos (Negro et al., 2013; Anguiano et al., 2016; Mugni et al., 2016).

Especialmente, los efectos que los fármacos veterinarios, así como también los plaguicidas, ejercen sobre el metabolismo de los crustáceos anfípodos y decápodos, los cuales ocupan un lugar intermedio en las redes tróficas y poseen tamaño adecuado para la experimentación. Los efectos en la tasa de consumo de oxígeno (TCO) y excreción de amoníaco permiten inferir, mediante la relación O:N, los sustratos energéticos (carbohidratos, lípidos y proteínas) que se están utilizando y las modificaciones que se producen por la presencia de contaminantes como la Monensina.

OBJETIVOS

Evaluar los efectos en la tasa de consumo de Oxígeno y la tasa de excreción de Amonio de *Hyaella curvispina* expuestas a concentraciones ambientalmente relevantes del medicamento veterinario monensina.

METODOLOGIA

Los ejemplares adultos de *Hyaella curvispina* utilizados fueron obtenidos del cultivo permanente del Instituto Nacional de Limnología (INALI, CONICET-UNL), Santa Fe, mantenidos según las recomendaciones de Somma et al. (2011). Estos se agruparon de a 10 por unidad experimental, utilizando botellas de Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) de vidrio, y fueron expuestos a tres concentraciones de monensina (C1= 0,05; C2= 0,5; C3= 5 µg/L) según las concentraciones encontradas en el ambiente y reportadas en la bibliografía. Además, se incluyeron un grupo control de MON con agua declorinada sin la presencia de anfípodos (CSH), un grupo control de hyalellas sin pesticidas (C0) y un grupo solvente control (Etanol) para determinar el consumo de

Título proyecto: "Fármacos de uso veterinario en el ambiente: efectos en la biota acuática nativa y su implicancia para la evaluación del riesgo ecológico (ERA)", PICT- 2020-SERIEA-03010, financiado por FONCYT directora: Menone Mirta
Director: Carlos Leandro Negro

oxígeno y la generación de amonio. Cada concentración y tipo de control tuvo 10 réplicas (10 unidades experimentales). Estas se mantuvieron a una temperatura constante de 25 °C y bajo condiciones de luz permanente en una incubadora SEMEDIC I-29OPF.

El oxígeno disuelto se midió con un sensor de oxígeno disuelto luminiscente Hanna LBOD 10101 y el medidor multiparamétrico HQ4100 a las 6, 12, 24 y 48 horas, utilizando una unidad experimental diferente para cada tiempo de medición. Luego de la medición de oxígeno, se tomaron 50 ml de muestra de agua para una futura medición de amonio mediante el método de Nessler (modelo de kit FF-2 de espectrofotómetro Hatch). Al finalizar los experimentos, los individuos de cada unidad experimental fueron crioanestesiados hasta su muerte, conservados en alcohol al 70%, llevados a estufa hasta la sequedad y pesados (peso seco). La TCO se calculó como la diferencia entre la concentración de oxígeno disuelto inicial y la concentración de oxígeno disuelto final/peso.

Los datos se evaluaron en cuanto a su normalidad y homogeneidad en las varianzas mediante los métodos de Shapiro-Wilk y Levene. Las comparaciones se realizaron mediante ANOVA con post-test de Tukey o Kruskal-Wallis con post-test de Dunn, según se cumplieran o no los supuestos para pruebas paramétricas.

RESULTADOS

Se realizaron pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis para analizar las diferencias estadísticas. Se observó un aumento en la en la tasa de consumo de oxígeno (TCO) a las 6, 12 y 24 horas en la concentración C3 con respecto a las demás concentraciones ($p < 0.05$). En C2 se observó un aumento de la TCO a partir de las 48 hs con respecto a la menor concentración (0,05 µg/L) y al grupo control C0 ($p < 0.05$). En el tratamiento de C1 no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la TCO con respecto al control ($p > 0.05$).

CONCLUSIONES

Estos resultados muestran que la MON podría impactar en la tasa de consumo de oxígeno de *H. curvispina*. Se observó un incremento de la TCO con el aumento de la concentración de MON, lo cual sugiere que los organismos responden metabólicamente ante la presencia de este fármaco. Además, a la concentración más altas de MON no sólo se intensificó la respuesta metabólica de los organismos, sino que también se acortó el tiempo al cual se observaron efectos, sugiriendo que *H. curvispina* experimenta un estrés metabólico mayor. Más allá de este aumento en el metabolismo, medido a través de la tasa de consumo de Oxígeno, los efectos provocados por las diferentes concentraciones del solvente utilizado (etanol) deben ser en un futuro evaluadas.

BIBLIOGRAFIA

- Anguiano, O. L., Vacca, M., Rodriguez Araujo, M. E., Montagna, M., Venturino, A., & Ferrara, A.** (2016). *Aqua Tox*, 188, 72–79.
- Bretschneider, G., Elizalde, J. C., & Pérez, F. A.** (2008). *Livest Sci*, 114, 135–149.
- Capleton, A., Courage, C., Rumsby, P., Holmesa, P., Stutt, E., Boxall, A., & Levy, L.** (2006). *Toxicol Lett*, 163, 213–223.
- Espina, S., & Vanegas, C.** (2005). *Ecotoxicología y contaminación. Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias*, 2da ed. Univ. Autón de Campeche, Univ. Nal. Autón. De México, Instituto Nacional de Ecología, 79-120.
- European Food Safety Authority.** EFSA J 283, 1–53 (2005).
- Hillis, D. G., Lissemore, L., Sibley, P. K., & Solomon, K. R.** (2007). *Environ Sci Technol*, 41, 6620–6626.
- Kergaravat, S. V., Althaus, R. L., & Hernandez, S. R.** (2018). *Int J Environ An Ch*, 98(11), 1063–1079.
- Masoner JR, Kolpin DW, Furlong ET, Cozzarelli IM, Gray JL.** *Environ Toxicol Chem* 35: 906–918 (2016).
- Mugni, H., Paracampo, A., Demetrio, P., Pardi, M., Bulus, G., Ronco, A., & Bonetto, C.** (2016). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 70(2), 257–264.
- Negro, C. L., Castiglioni, M., Senkman, L. E., Loteste, A., & Collins, P.** (2013). *Ecotox Environ Saf*, 90, 121–127.
- Peralta, M.** (2001). *Crustacea Eumalacostraca (257- 282)*. in: H. R Fernández y E. Domínguez (eds.). *Guía para la determinación de Artrópodos Bentónicos sudamericanos*. Editorial Universitaria de Tucumán, Tucumán. 282 p
- Pérez, D. J., Okada, E., Iturburu, F. G., De Gerónimo, E., Cantón, G., Aparicio, V. C., Costa, J. L., & Menone, M. L.** (2021a). *Environ Sci Pollut R*, 28, 8530–8538.
- Pérez, D. J., Iturburu, F. G., Calderón, G., Oyesqui, L. E., De Gerónimo, E., & Aparicio, V. C.** (2021b). *Chemosphere*, 263, 128061.
- Scott, T. M., Phillips, P. J., Kolpin, D. W., Colella, K. M., Furlong, E. T., Foreman, W. T., & Gray, J. L.** (2018). *Sci Total Environ*, 636, 69–79.
- Song, W., & Guo, M.** (2014). *Residual veterinary pharmaceuticals in animal manures and their environmental behaviors in soils*. In *Applied manure and nutrient chemistry for sustainable agriculture and environment* (pp. 23-52). Springer, Dordrecht.
- Somma, A., Giusto, A., & Ferrari, L.** (2011). *Manual de Producción de Hyalella curvispina en Laboratorio*. Editorial Utopías. Ushuaia, Tierra del Fuego. 25 p.
- U.S. Department of Agriculture.** (2021). *Foreign Agricultural Service*
- Yoshida, N., Fernández Cirelli, A., & Castro, M.** (2013). *Chem Ecol*, 29, 379–390.