

# Toxicidad aguda y alteraciones tisulares producidas por acción del herbicida paraquat en juveniles de "pacú" (*Piaractus mesopotamicus*) (Pisces, Characidae). (\*)

Parma de Croux, M. Julieta <sup>(1)</sup>; Arquiél, Patricio <sup>(2)</sup>;  
Ortega, Hugo <sup>(2)</sup>; Lorente, Juan A. <sup>(2)</sup> y Cordiviola de Yuan, Elly <sup>(1)</sup>

Instituto Nacional de Limnología (CONICET), José Maciá 1933, (3016) Santo Tomé, Prov. Santa Fe, Argentina. TE/FAX: 54-342-4750394. E-mail: inali @ arcride.edu.ar.  
Cátedra de Histología y Embriología, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional del Litoral. R.P. Kreder 2805. (3080) Esperanza, Prov. Santa Fe, Argentina.

**RESUMEN:** Se evaluó la toxicidad aguda del Paraquat en juveniles de *Piaractus mesopotamicus* analizándose los daños en branquias e hígado. Se emplearon ejemplares con un peso medio de 5,7 g (S = 1,5). Los ensayos para estimar LC50-72 hs fueron de tipo semiestático, a una temperatura de 25°C y fotoperíodo de 12:12 hs. Las concentraciones fueron: 0,75; 1,5; 3,0; 6,0; 12,0; 24,0 y 48,0 mg/l. La mortalidad fue del 0% en las primeras cuatro, 5% en 12 mg/l; 20% en 24 mg/l y del 100% en 48 mg/l. El LC50 para 72 hs fue de 29,3 con límites de confianza (95%) superior e inferior de 35,2 y 24,5. Las lesiones en branquias comenzaron a partir de 3 mg/l observándose un edema en la base de las laminillas secundarias. A partir de 12 mg/l se comprobaron desprendimientos del epitelio respiratorio. Los daños en hígado fueron a altas concentraciones, observándose alteraciones en los hepatocitos, con vacuolización de los citoplasmas y desplazamiento de núcleos.

**SUMMARY: ACUTE TOXICITY AND TISSUE ALTERATIONS PRODUCED BY THE ACTION OF PARAQUAT HERBICIDE IN "PACÚ" JUVENILES (PIARACTUS MESOPOTAMICUS) (PISCES, CHARACIDAE).** Parma de Croux, M. Julieta <sup>(1)</sup>; Arquiél, Patricio <sup>(2)</sup>; Ortega, Hugo <sup>(2)</sup>; Lorente, Juan A. <sup>(2)</sup> y Cordiviola de Yuan, Elly <sup>(1)</sup>. It was evaluated the acute toxicity of the Paraquat in juvenile of *Piaractus mesopotamicus* been analyzed the damages in gills and liver. Pacú juveniles, average wet weight 5.7 g (S=1.5), were used. The test to estimate LC50-72 hs were of semi-static type, to a temperature of 25° C and photoperiod of 12:12 hs. The exposure concentrations were: 0.75; 1.5; 3.0; 6.0; 12.0; 24.0 and 48.0 mg/l. The mortality was 0% in the first four concentrations; 5% in 12mg/l; 20% in 24 mg/l and 100% in 48 mg/l. The LC50-72 hs were 29.3 with confidence limits (95%) upper and lower of 35.2 and 24.5, respectively. The lesions in gills began to be observed starting from 3 mg/l with an edema in the base of secondary lamella. In concentrations of 12 mg/l and uppers they were necrosis, rupture and loss of the structure of lamellar epithelium. The damages at level of the liver went to high concentrations, being observed alterations in the hepatocytes, with hydropic vacuolation of the cytoplasm and displacement of nuclei.

## Introducción

La capacidad de predecir el impacto de algunos contaminantes potenciales, es de gran importancia para determinar la cantidad máxima que se puede liberar en el medio sin afectar de manera drástica a la biota. Entre los objetivos de las pruebas de toxicidad se menciona la determinación de las concentraciones umbrales tóxicas de algunas sustancias.

En los últimos años se han realizado una gran cantidad de ensayos de toxicidad con organismos de

aguas continentales, estuariales y marinas, con el objeto de evaluar los efectos de xenobióticos sobre la biota acuática a fin de establecer límites de permisibilidad y de evaluar el impacto de mezclas de contaminantes sobre las comunidades de los cuerpos de agua.

El efecto inmediato de los contaminantes se produce sobre los organismos, por toxicidad directa o alterando el ambiente donde se desarrollan. Su significado ecológico radica en el impacto sobre las poblaciones. El hecho de que un tóxico elimine a la mitad de la población, retarde su crecimiento o disminuya su capacidad reproductiva, puede tener un considerable impacto ecológico.

Los peces representan un grupo presente en la gran mayoría de los cuerpos de agua del mundo y evidencian una gran variedad de mecanismos de

(\*) Trabajo presentado en el IV Congreso Latinoamericano de Ecología. Arequipa, Perú, Octubre de 1998

adaptación. Más allá de su valor económico para el hombre (pesca, cultivos en diferentes escalas), juegan un rol muy importante dentro de los ecosistemas acuáticos, debido al papel que desempeñan en las tramas tróficas, a su biomasa, productividad, desplazamientos, etc.

Dentro del grupo de los herbicidas se destaca, por la amplitud de su uso en Argentina, el Paraquat (PQ) (Dicloruro de 1-1' Dimetil- 4 4' - Dipyridilo), herbicida postemergente de contacto, utilizado, también, como defoliante y desecante en numerosos cultivos como arroz, girasol, maíz y fundamentalmente en la soja (1,2).

Si bien es cierto que los herbicidas, en general, han sido mencionados con un poder tóxico para la fauna acuática relativamente bajo en comparación con otros pesticidas (3,4), el PQ es considerado como producto muy tóxico - Clase B (2), existiendo antecedentes de sus efectos adversos (agudos y crónicos) y de alteraciones que produce en branquias, hígado y riñones de los peces (5-9). En este sentido es importante destacar que las branquias constituyen órganos de "choque", y que sus estructuras se consideran entre las más delicadas del cuerpo de los peces. Su vulnerabilidad es extrema, por su localización externa y por su necesario e íntimo contacto con el agua, por esto pueden sufrir daños frente a cualquier agente irritante, disuelto o en suspensión.

El objetivo del trabajo fue evaluar, en condiciones de laboratorio, la toxicidad aguda del herbicida Paraquat en juveniles de *Piaractus mesopotamicus* ("pacú") y analizar histológicamente los posibles daños en las estructuras branquiales y en el hígado de los peces sometidos a diferentes concentraciones.

La especie íctica, seleccionada para los estudios, pertenece a la Familia Characidae, es nativa, de amplia distribución geográfica neotropical que abarca la cuenca platense: río Paraná medio e inferior, río de La Plata, río Paraguay superior y medio y río Uruguay (10). Se trata de un pez omnívoro (amplio espectro de alimentación), que en ambientes naturales, y en determinadas épocas del año, pueden capturarse ejemplares de 5 y 8 kg de peso en forma normal.

Las especies de este género y de *Colossoma* se han venido cultivando (con distintos grados de desarrollo) en varios países de Latinoamérica desde el inicio de la década de los 80. En nuestro país el desarrollo de tecnologías para su cultivo se iniciaron

a partir de 1991; en la actualidad se realizan cultivos de tipo experimental y piloto-comercial en las provincias de Corrientes, Misiones, Chaco, Formosa y Santa Fe con diferentes modalidades y resultados (11).

## Materiales y Métodos

Los ejemplares juveniles fueron obtenidos de un criadero particular (Localidad de Saguier, Santa Fe, Argentina) y transportados inmediatamente a los laboratorios del Instituto Nacional de Limnología. Fueron aclimatados a las condiciones experimentales durante 5 días antes de iniciado los ensayos, manteniéndolos en recipientes de 180 litros de capacidad con oxigenación permanente. El alimento utilizado fue un "pellet" comercial, que fue suspendido 24 hs antes del inicio del bioensayo. Se utilizaron 160 ejemplares con pesos y longitudes medias de 5,7 g ( $S = 1,5$ ) y 7,0 cm ( $S = 0,8$ ) respectivamente.

El producto ensayado fue el Gramoxone®, cuya fórmula comercial contiene 27,6% de PQ. Las concentraciones ensayadas fueron: 0,75; 1,5; 3,0; 6,0; 12,0; 24,0 y 48,0 mg/l de PQ y los controles o testigos. Los ensayos para estimar el LC50-72 hs fueron de tipo semiestático, renovándose las soluciones en forma total a las 48 hs de iniciados los mismos. Se utilizó un laboratorio climatizado a una temperatura constante de 25° C, fotoperíodo de 12:12hs. y una concentración de oxígeno disuelto que osciló entre 5,5 y 6,2 ppm. El pH se mantuvo entre 8,2 y 8,5, la dureza del agua de 212 mg/l  $CO_3Ca$ , la alcalinidad de 228 mg/l  $CO_3Ca$  y el amonio permaneció por debajo de 0,1 mg/l  $NH_3$ .

Los tests de toxicidad se realizaron en recipientes de poliuretano de 26 l de capacidad. Se colocaron 10 peces en cada concentración y se efectuaron dos repeticiones. La densidad obtenida fue de 2,2 g/l, aproximadamente.

Las observaciones se efectuaron cada 24 hs, registrándose los porcentajes de mortalidad y el comportamiento de los peces.

Todos los ejemplares fueron pesados, luego de producida la muerte y el resto, al término de los ensayos, utilizando una balanza con precisión 0,01 g.

Los valores de LC-50 y sus límites de confianza fueron estimados por un programa de análisis

Probit.

Los peces muertos durante las experiencias y los sacrificados al término de la misma se fijaron en formol bufferado al 10%. Una vez fijados, se extrajeron las branquias y el hígado y se procesaron mediante técnicas histológicas de rutina, inclusión parafínica, corte en micrótomos rotativos de 5  $\mu\text{m}$  de espesor y coloración con Hematoxilina-Eosina, P.A.S., Azul de Toluidina e impregnaciones argénticas (12).

La caracterización de las lesiones encontradas en branquias se realizó de acuerdo a lo propuesto por Romano y Cuevas (13) y Monasterio de Gonzo *et al.* (14).

## Resultados y Discusión

En las más bajas concentraciones, dentro del rango 0,75-3,0 mg/l, la sobrevida al término del ensayo fue del 100%, al igual que en los grupos controles; en tanto que con 6,0 y 12 mg/l alcanzaron valores de 95 y 90 %, respectivamente. En contraste, en las concentraciones más altas la mortalidad fue elevada; de tal modo que en 24 mg/l el porcentaje de sobrevida fue del 90% a las 24 hs y 70 % cumplidas las 72 hs de ensayo; y en la más alta concentración la mortalidad fue total al término de las primeras 24 hs (Figura 1).

A partir de la concentración de 3,0 mg/l los peces evidenciaron signos de stress con alteraciones en la cantidad y amplitud de los movimientos operculares, indicando las dificultades para respirar normalmente. Si bien estos movimientos no fueron cuantificados, no se observaron en los grupos testigos y en las dos concentraciones más bajas.

El valor de LC50- 24 hs, estimado por el análisis Probit, fue de 26,69 mg/l de PQ, siendo los límites de confianza inferior y superior de 20,56 y 35,37, respectivamente; en tanto que a las 72 hs el LC50 fue ligeramente menor, 25,33 con límites de confianza de 20,27 y 32,66, respectivamente.

El estudio de las estructuras normales de las branquias en *Piaractus mesopotamicus*, muestran las laminillas primarias constituidas por un epitelio respiratorio compuesto por células planas, que se disponen en un solo estrato; interpuestas entre este epitelio respiratorio, se destacan las células pilares de aspecto columnar y cuyos núcleos se observan dispuestos en empalizada, entre estas células pilares es posible observar la presencia de capilares

sanguíneos (Figura 2).

En la concentración de 3mg/l se observa formación de edema en la base de las laminillas secundarias, caracterizado por la presencia de espacios incoloros, y una ya importante hipertrofia, caracterizada por el aumento en el tamaño de las células.

Las branquias de los peces expuestos a las mayores concentraciones, evidenciaron un edema manifiesto de las laminillas secundarias y la ruptura de la estructura laminar, lifting muy marcado, daños que comenzaron a manifestarse a partir de la concentración de 12,0 mg/l (Figura 3). Por otra parte, fue posible observar adherencias entre laminillas secundarias en algunos sectores, como así también una metaplasia mucinosa en la base de las laminillas primarias. Las lesiones observadas en las branquias se asemejan a las encontradas por Tortorelli, *et al.* (8) para larvas de *Plecostomus commersoni* y las halladas por Parma de Croux, *et al.* (15) para *Apareiodon affinis*. Los resultados estarían indicando una dependencia entre las lesiones y las concentraciones ensayadas.

En el hígado, las lesiones predominantes a bajas concentraciones son una leve degeneración hidrópica de los hepatocitos. A concentraciones mayores (a partir de 12,0 mg/l) los daños más importantes son un agrandamiento de los sinusoides hepáticos, congestión y tumefacción generalizada (48 mg/l).

La medida del grado de mortalidad producido por una sustancia, es un dato inequívoco empleado para evaluar la potencia de un determinado químico. Sin embargo, es importante el conocimiento de los efectos subletales que indican signos de stress o un estado previo a la muerte. En nuestro caso, las anomalías morfológicas encontradas a nivel de las branquias, guardan relación con las alteraciones respiratorias observadas.

La toxicidad del Paraquat varía ampliamente entre especies y tamaño de los ejemplares. Refiriéndonos específicamente a la fauna íctica neotropical, existen escasos antecedentes sobre los efectos del PQ (Tabla 1). En tal sentido, Tortorelli, *et al.* (8), mencionan valores de LC50-48 hs de 5,2 mg/l para larvas de *Plecostomus commersoni* y LC50-48 hs de 17,07 y LC50-72 hs de 12,45 mg/l para larvas de *Cnesterodon decemmaculatus* (16). Posteriormente, Parma de Croux, *et al.* (15) trabajando con juveniles de "virolioto" (*Apareiodon affinis*) halla-

ron valores de LC50-48 hs de 7,17 y LC50-72 hs de 6,70. Los resultados indican variaciones entre especies, siendo los más elevados los obtenidos para *Piaractus*, probablemente por tratarse de un ensayo realizado con ejemplares juveniles en comparación con los estadios de vida larvales de los anteriores estudios. Todo ello evidencia la importancia y los riesgos de la extrapolación de la información obtenida.

Los resultados hallados confirman los efectos tóxicos del Paraquat, de tal modo que tanto las poblaciones naturales como las de criadero (donde es muy frecuente su empleo para el control de malezas acuáticas) de *Piaractus mesopotamicus* podrían verse afectadas por la presencia de PQ en los ambientes acuáticos, aún en bajas concentraciones, dado que este herbicida es bastante persistente, pudiéndose encontrar en los sedimentos de fondo y en la vegetación acuática, donde habitualmente se alimenta esta especie, por más de 6 meses después de su aplicación (2, 17-19).

### Agradecimientos

A la Prof. Mirta Campana y Lionel Mehaudy (INALI) y a la Srta. Marcela Montagna (FAFODOC-UNL) por la colaboración prestada en los trabajos de laboratorio.

Este trabajo fue realizado en el marco de un Proyecto de Investigación PIA-CONICET N° 6897, Diciembre de 1997.

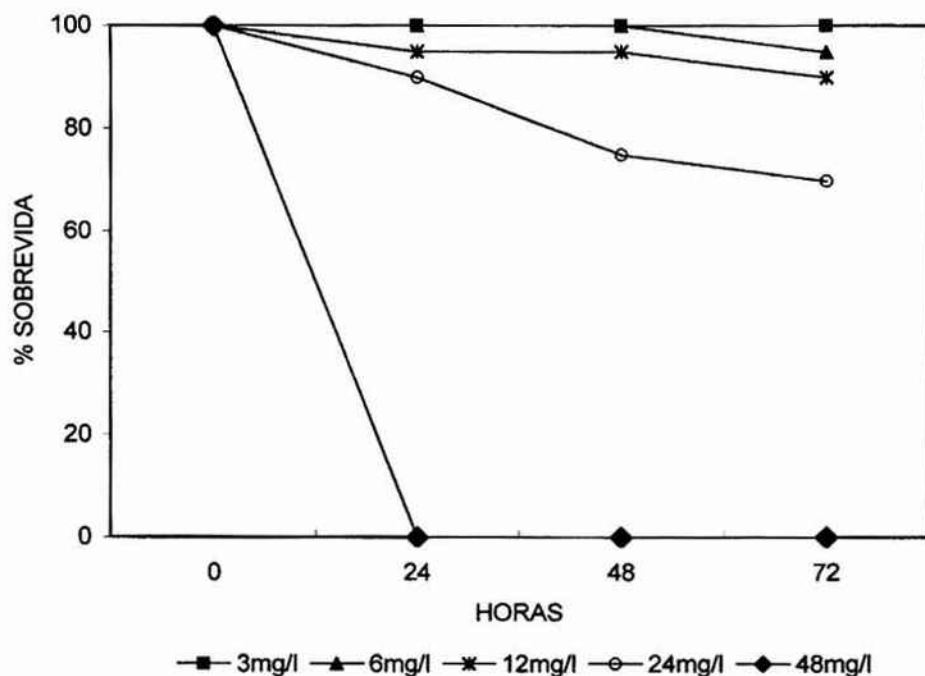
### Bibliografía

- 1- Thompson, W.T. 1993. «Agricultural Chemicals. Book II. Herbicides». Thompson Publications. (California) 310 pp.
- 2- CASAFE. 1995. «Guía de Productos Fitosanitarios para la República Argentina.» Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes (Buenos Aires). 1343 p.
- 3- Rand, G.M y S.R. Petrocelli, 1985. «Fundamentals of Aquatic Toxicology». Hemisphere Publishing Corporation. 666 p.
- 4- Heath, A.G. 1987. «Water pollution and fish physiology». CRC Press (Boca Ratón). 245 pp.
- 5- Edwards, C. 1977. «Nature and origins of pollution of aquatic systems by pesticides.» In: Quddus Khan, M. (Eds.) Pesticides in Aquatic Environments. Plenum Press (New York) 257 pp.
- 6- Mallat, J. 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review.

- Can.J.Fish.Aquat.Sci., 42: 630-648.
- 7- Nemcsók, J; A. Nemeth; Z.S. Buzás y L. Boross. 1984. Effects of copper, zinc and paraquat on acetylcholinesterase activity in carp (*Cyprinus carpio*). Aquat.Toxicol., 5: 23-31.
- 8- Tortorelli, M.C; D.A. Hernández; G. Rey Vázquez y A. Salbián. 1990. Effects of Paraquat on mortality and cardiorespiratory function of Catfish fry *Plecostomus commersoni*. Arch.Environ.Contam.Toxicol., 19: 523-529.
- 9- Vittozzi, L y G. De Angelis. 1991. A critical review of comparative acute toxicity data on freshwater fish. Aquat.Toxicology, 19: 167-204.
- 10- Ringuélet, R.A. et al. 1967. «Los Peces Argentinos de Agua Dulce». CIC (Buenos Aires) 248 p.
- 11- Martínez, M y G. Wicki. 1997. «Guía práctica para el cultivo de pacú (*Piaractus mesopotamicus*).» Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Subsecretaría de pesca. (Buenos Aires). 36 p.
- 12- Martoja, R y M. Martoja. 1976. Técnicas de Histología Animal. Toray. S.A. (Barcelona) 350 p.
- 13- Romano, L.A y F. Cueva. 1988. Lesiones histológicas branquiales atribuibles a tóxicos en *Odontheistes bonariensis* (Cuv. y Val. 1835). Rev.Asoc.Cienc.Nat.Litoral, 19 2: 135-142.
- 14- Monasterio de Gonzo, G; V.H. Martínez y O. Leone. 1995. Estudio histopatológico de branquias de peces del Río Juramento, Provincia de Salta. Argentina. Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral, 26 2: 9-13.
- 15- Parma de Croux, M.J; P. Arquiel; H. Ortega y J.A. Lorente. (En prensa). Acute toxicity of Paraquat to a commonly neotropical fish species *Apareiodon affinis* (Pisces, Hemiodidae). Pol.Arch.Hydrobiol.
- 16- Di Marzio, W y M.C. Tortorelli. 1994. Effects of Paraquat on Survival and Total Cholinesterase in fry of *Cnesterodon decemmaculatus* (Pisces, Poeciliidae). Bull. Env. Contam. Toxicol., 52 2.
- 17- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela (FAO/ FCV-UCV). 1987. Curso de Ampliación de Conocimiento sobre "Ictiopatología". Técnicas de fijación y coloración para el estudio de parásitos de peces. (Maracay). Venezuela.
- 18- 1984. Paraquat and Diquat. Environmental Health Criteria 39. World Health Organization. (Genova).
- 19- Earnest, R.D. 1971. The effect of Paraquat on fish in a Colorado farm pond. Progressive Fish Culturist, 33: 27-31.

**Tabla 1.** Valores de LC50 de Paraquat para especies icticas neotropicales

Especie	Duración (hs)	LC50 (mg/l)	Referencia
<i>Plecostomus commersoni</i> (larvas)	60	5,20 (48 hs) 5,20 (60 hs)	Tortorelli, <i>et al.</i> 1990
<i>Cnesterodon decemmaculatus</i> (larvas)	96	17,07 (48 hs) 12,45 (72 hs)	Di Marzo, <i>et al.</i> 1994
<i>Apareidon affinis</i> (postlarvas)	72	7,17 (48 hs) 6,70 (72 hs)	Parma de Croux, <i>et al.</i> (En prensa)
<i>Piaractus mesopotamicus</i> (juveniles)	72	29,30 (72 hs)	Parma de Croux, <i>et al.</i> (Este estudio)

**Figura 1.** Porcentaje de sobrevivencia de juveniles de "pacú" (*Piaractus mesopotamicus*) expuestos a diferentes concentraciones de Paraquat



**Figura 2.** Filamento branquial control 45X



**Figura 3.** Filamento branquial a 24 mg/l 45X

