

EFFECTOS SUBLETALES DE CUATRO FORMULACIONES DE GLIFOSATO SOBRE *Daphnia magna* Y *Ceriodaphnia dubia* (CRUSTÁCEA, CLADOCERA)

ULISES RENO, LUCIANA REGALDO y ANA MARÍA GAGNETEN

Laboratorio de Ecotoxicología. Facultad de Humanidades y Ciencias. Departamento de Ciencias Naturales, Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria. CP3000. Santa Fe, Argentina.

E-mail: ulisesreno@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar, a través de ensayos crónicos de 21 días, los efectos de cuatro formulaciones comerciales de glifosato (Eskoba® (Red Surcos), Panzer Gold® (Dow Agrosiences), Sulfosato Touchdown® (Syngenta Agro) y Roundup Ultramax® (Monsanto)) sobre atributos de historia de vida y el parámetro poblacional R_0 de *Daphnia magna* y *Ceriodaphnia dubia*. La fecundidad fue el atributo más afectado en las dos especies. Se registraron alteraciones en el ciclo de vida por la producción de huevos abortados y epípos en *D. magna* expuestos a 0,15 y 0,62 mg e.a L⁻¹ de Panzer Gold®. Además, a 0,1 y 0,31 mg e.a L⁻¹ de los dos formulados de mayor toxicidad (Sulfosato Touchdown® y Panzer Gold®), R_0 para las dos especies de cladóceros fue <1, condición que indicaría una disminución poblacional y posible extinción local en los ambientes perturbados por los herbicidas evaluados. Se destaca la importancia de profundizar el conocimiento de los efectos subletales de formulaciones que tienen al glifosato como principio activo, mediante el análisis de componentes clave del ciclo de vida de las especies acuáticas.

Palabras clave:

herbicidas, zooplancton, atributos de historia de vida.

SUBLETHAL EFFECTS OF FOUR FORMULATIONS OF GLYPHOSATE ON *Daphnia magna* AND *Ceriodaphnia dubia* (CRUSTACEA, CLADOCERA)

ULISES RENO, LUCIANA REGALDO & ANA MARÍA GAGNETEN

Laboratorio de Ecotoxicología. Facultad de Humanidades y Ciencias. Departamento de Ciencias Naturales, Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria. CP3000. Santa Fe, Argentina.

E-mail: ulisesreno@hotmail.comr

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate through 21 days chronic tests, the effects of four commercial formulations of glyphosate (Eskoba® (Red Surcos), Panzer Gold® (Dow Agrosiences), Sulfosato Touchdown® (Syngenta Agro) and Roundup Ultramax® (Monsanto)) on attributes of life history and the population parameter R_0 of *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia*. Fertility was the life history attribute most affected in the two species. Changes occurred in the life cycle through the production of aborted eggs and ephippia in *D. magna* exposed to 0.15 and 0.62 a.e mg L⁻¹ of Panzer Gold®. In addition, 0.1 and 0.31 a.e mg L⁻¹ of the two formulations of greater toxicity (Sulfosato Touchdown® and Panzer Gold®), R_0 for the two species of cladocerans was <1, condition that would indicate a population decline and possible local extinction. The importance of further studying on sublethal effects of glyphosate formulations on key attributes of the life cycle of aquatic species is discussed.

Key words:

herbicides, zooplankton, life history attributes.

INTRODUCCIÓN

Argentina es el tercer productor mundial de soja, luego de Brasil y Estados Unidos, con una producción anual de 57 millones de toneladas, según las estimaciones de USDA (2015). Su cultivo se desarrolla con la tecnología de siembra directa (labranza cero, semillas genéticamente modificadas resistentes al glifosato y fumigación con glifosato para controlar las malezas). Según CASAFE (2013), en Argentina el glifosato ([N-fosfonometil] glicina) es el herbicida más aplicado (180 millones de litros por año) y tiene el volumen de producción y uso más alto del mundo. Recientemente fue reclasificado por la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (WHO, 2015) en el grupo 2A como probablemente cancerígeno para el ser humano, condición que intensificó el estudio de sus posibles efectos en distintos organismos no-blanco.

El glifosato puede ingresar a los sistemas de agua superficiales provocando contaminación puntual, en el caso de las aplicaciones directas sobre los cuerpos de agua o por el lavado en ríos y arroyos de bidones o máquinas aplicadoras. También puede generar contaminación difusa de los sistemas acuáticos mediante deriva o escorrentía de agua de lluvia (Ayarragaray *et al.*, 2014; Struger *et al.*, 2015).

Si bien son conocidos los efectos negativos del glifosato sobre diferentes indicadores biológicos (Vendrell *et al.*, 2009; Mugni *et al.*, 2011; UrenWebster *et al.*, 2014; Brodeur *et al.*, 2014), el herbicida se aplica junto con diversos aditivos y coadyuvantes para mejorar su eficiencia. Esta situación determina que resulte difícil extrapolar la toxicidad del principio activo a la posible toxicidad de las formulaciones comerciales.

Muy frecuentemente, en los sistemas naturales se encuentran concentraciones bajas de plaguicidas que pueden estar por debajo de los niveles guía permitidos o resultar inocuas para los organismos en el corto plazo. Sin embargo es de suma importancia conocer los efectos que pueden causar concentraciones bajas y ambientalmente relevantes en el largo plazo sobre poblaciones de organismos no-blanco expuestas durante un período de tiempo lo suficientemente prolongando, que permita poner en evidencia efectos subletales en atributos de historia de vida y parámetros poblacionales. Entre ellos, la supervivencia, el crecimiento, la fecundidad y la madurez sexual son indicadores de la estabilidad de una población y de su capacidad potencial para mantenerse en el tiempo en los ecosistemas (Rand *et al.*, 1995). Los cambios en la asignación de la energía pueden alterar el *fitness*, adecuación biológica o desempeño del organismo, el cual es una medida de la capacidad reproductiva del mismo. En los sistemas acuáticos la comunidad planctónica es la más sensible a los cambios en la calidad de agua y sus alteraciones podrán afectar a los niveles tróficos adyacentes y provocar efectos *top down* y *bottom up* (Hanazato, 2001; McCormick & Cairns, 1997). Las respuestas del zooplancton ante estímulos adversos pueden ser morfológicas, cambios en el ciclo de vida (e.g. huevos de resistencia) o de comportamiento (Lass & Spaak, 2003). En este contex-

to, y teniendo en cuenta la importancia del zooplancton en las cadenas tróficas acuáticas y la necesidad de conocer los efectos de concentraciones subletales de diferentes formulaciones comerciales de glifosato sobre especies no-blanco, en este trabajo se seleccionaron cuatro formulados de glifosato de uso frecuente en la pampa argentina. Se realizaron ensayos crónicos para evaluar comparativamente sus efectos sobre atributos poblacionales de dos especies de cladóceros utilizados como modelos biológicos: una especie de cladóceros muy frecuente en los sistemas acuáticos continentales de la región Neotropical y por ende en la región pampásica de Argentina (*Ceriodaphnia dubia*) y otra de distribución holártica (*Daphnia magna*). Si bien esta última especie ha sido estudiada a nivel mundial, especies de importancia regional son menos tolerantes a herbicidas (UNL, 2010), por lo cual es necesario profundizar el conocimiento de sus efectos sobre nuestras especies silvestres.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para establecer los cultivos stock de microcrustáceos, *D. magna* se mantuvo en medio sintético compuesto por 0,13 g K_2SO_4 , 1,12 g $CaCl_2$, 1 g $NaHCO_3$ disuelto en 5 L de agua destilada y *C. dubia* en medio propuesto por APHA (1998): 2,4 g SO_4Mg , 3,84 g $NaHCO_3$, 0,16 g KCl y 2,4 g $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ disuelto en 20 L de agua destilada. Los organismos fueron alimentados tres veces por semana (cada 48 h) con *Chlorella vulgaris* (absorbancia=1,5 λ , 650 nm) y mantenidos en cámara de cultivo en condiciones controladas y constantes: fotoperiodo 16L: 8O y temperatura 20 ± 1 °C.

Se seleccionaron cuatro formulaciones de glifosato: Eskoba® (Red Surcos) 48 % (p/v) de sal de isopropilamina [N-(fosfonometil) glicina], Panzer Gold® (Dow Agrosiences) 60,8 % (p/v) sal de dimetilamina-[N-(fosfonometil) glicina], Sulfosato Touchdown® (Syngenta Agro) 62 % (p/v) sal potásica del ácido-[N-(fosfonometil) glicina] y Roundup Ultramax® (Monsanto) 74,7 (p/p) de sal monoamónica-[N-(fosfonometil) glicina] (CA-SAFE, 2013), que se encuentran entre las más utilizadas en la pampa y en el litoral fluvial de Argentina (CONICET, 2009; UNL, 2010), las dos ecorregiones de mayor productividad sojera de Argentina.

Previamente a los ensayos, se prepararon soluciones madres de 1000 mg e.a. L^{-1} de los cuatro formulados en agua bidestilada estéril que se mantuvieron en oscuridad a -4 °C hasta su análisis. La determinación analítica se llevó a cabo por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) cromatógrafo Dionex DX-100 ion, bajo las siguientes condiciones: Columna cromatográfica: Phenomenex Luna® NH_2 , 5 μm ; 250 mm x 3 mm; Fase móvil: Fosfato de potasio monobásico 50 mM (pH 6)/Acetonitrilo (60:40); Solvente de disolución de muestras: Tetraborato de sodio 25 mM; Caudal: 0,8 $mL\ min^{-1}$;

Temperatura de horno: 40 °C; Detector: Fluorescencia; Detección: Longitud de onda de excitación: 206 nm; Longitud de onda de emisión: 320 nm; Tiempo de análisis: 25 minutos; Volumen de muestra a inyectar: 25 µL; Tratamiento de las muestras: Derivatización precolumna con FMOC-Cl (9-fluorenilmetil cloroformiato).

La concentración de glifosato de las soluciones madres fueron: 1067; 1091; 914 y 993 mg e.a L⁻¹ en los formulados Eskoba®, Sulfosato Touchdown®, Panzer Gold® y Roundup Ultramax®, respectivamente. Estas soluciones se usaron para preparar cada una de las concentraciones definitivas ensayadas en este trabajo.

Se realizaron ensayos de toxicidad crónicos (21 días), con neonatos (< 24 h) de *D. magna* y *C. dubia* expuestos a concentraciones de las cuatro formulaciones anteriormente mencionadas. Como criterio de selección de concentraciones a utilizar, en este trabajo se consideraron valores cercanos e inferiores a las 48h-CL₅₀ obtenidos para ambas especies (datos no publicados).

Para realizar los ensayos con Eskoba®, se emplearon las siguientes concentraciones nominales, con un factor de dilución que estuvo entre 1,5 y 2: 15 (C1), 10 (C2) y 5 (C3) y 2,5 (C4) mg e.a L⁻¹ para *D. magna* y 10 (C1), 5 (C2) y 2,5 (C3) y 1,25 (C4) mg e.a L⁻¹ para *C. dubia*. En los ensayos con Panzer Gold®: 0,62 (C1), 0,31 (C2) y 0,15 (C3) mg e.a L⁻¹ para *D. magna* y 0,25 (C1), 0,125 (C2) y 0,062 (C3) para *C. dubia*. En los ensayos con Sulfosato Touchdown®: 0,4 (C1), 0,2 (C2) y 0,1 (C3) mg e.a L⁻¹ para *D. magna* y 0,1(C1), 0,06 (C2) y 0,04 (C3) mg e.a L⁻¹ para *C. dubia* y en los ensayos con Roundup Ultramax®: 1,45 (C1), 0,725 (C2) y 0,362 (C3) mg e.a L⁻¹ para *D. magna* y 1,12 (C1), 0,56 (C2), 0,28 (C3) y 0,14 (C4) mg e.a L⁻¹ para *C. dubia*. Se realizaron 10 réplicas por concentración y un control bajo condiciones idénticas al cultivo stock. Los cladóceros fueron alimentados tres veces por semana (cada 48 h) con 40 µL de *C. vulgaris* (absorbancia = 1.5 λ, 650 nm). Los valores de pH y oxígeno disuelto (OD, mgL⁻¹) fueron registrados al comenzar y finalizar cada ensayo con el fin de corroborar que se encuentren dentro de los rangos propuestos por APHA (1998). Tres veces por semana (cada 48 h) se registró el número de organismos vivos y muertos (como medida de la supervivencia), el número de crías o neonatos (como medida de la fecundidad), la edad de la primera reproducción (como medida de la madurez sexual) y el número de mudas (como medida del crecimiento). Con estos datos se calcularon los siguientes atributos de historia de vida: supervivencia, fecundidad, edad de madurez sexual y crecimiento respectivamente. También se determinó el parámetro poblacional R₀ (tasa reproductiva neta) para cada cohorte según la ecuación (1), propuesta por Pianka (1982).

$$(1) \quad R_0 = \sum (lx \cdot mx)$$

donde R₀: tasa reproductiva neta, lx: sobrevivencia a la edad x, y mx: fecundidad a la edad x.

Posibles diferencias significativas entre los tratamientos (con glifosato) y sus controles (sin glifosato) para cada una de las especies, tomando como variables dependientes la supervivencia, la fecundidad, la edad de madurez sexual y el crecimiento, fueron analizadas con ANOVA y post test de Tukey–Kramer con un nivel de confianza del 95 %, previa comprobación de la normalidad y homocedasticidad de los datos (Sokal & Rohlf, 1969). Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa GraphPad InfoStat (2004).

RESULTADOS

La fecundidad fue el atributo más afectado por los cuatro formulados comerciales de glifosato. La Tabla 1 muestra los valores de p correspondientes a los análisis de la varianza (ANOVA) con posttest de Tukey–Kramer para los atributos de historia de vida de *D. magna* y *C. dubia* analizados, luego de ser expuestas a las cuatro formulaciones de glifosato con relación al control sin glifosato.

La edad de primera reproducción de *D. magna* mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) con el control en todas las concentraciones ensayadas, excepto cuando estuvo expuesta a C3 (0,362 mg e.a L⁻¹) de Roundup Ultramax®. En el caso de *C. dubia*, este parámetro mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) en 0,1 mg e.a L⁻¹ de Sulfosato Touchdown®; 0,25 mg e.a L⁻¹ de Panzer Gold® y 1,12 mg e.a L⁻¹ de Roundup Ultramax®.

En el ensayo con *D. magna*, expuesta a Panzer Gold® en C1 (0,62 mg e.a L⁻¹) y C2 (0,31 mg e.a L⁻¹), se observó un total de 7 huevos abortados. También se registró la formación de un efipio (huevo de resistencia en cladóceros) a los 17 días. Se destaca que en las dos concentraciones mencionadas tampoco se registraron eventos reproductivos. Si bien en C3 (0,15 mg e.a L⁻¹), se produjeron neonatos, a los días 12, 15 y 16 se registraron 4 huevos abortados.

En la Tabla 2 se puede observar que a concentraciones de Panzer Gold® y Sulfosato Touchdown® (los dos formulados de mayor toxicidad) en concentraciones entre 0,31 y 0,1 mg e.a L⁻¹, los valores de R_0 obtenidos para *D. magna* y *C. dubia* fueron < 1 .

	Supervivencia		Fecundidad		N° de Mudas	
	<i>D. magna</i>	<i>C. dubia</i>	<i>D. magna</i>	<i>C. dubia</i>	<i>D. magna</i>	<i>C. dubia</i>
Eskoba®						
Control vs C ₁	*	*	—	—	*	*
Control vs C ₂	ns	*	*	—	ns	*
Control vs C ₃	ns	ns	*	*	ns	ns
Control vs C ₄	ns	ns	*	ns	ns	ns
Panzer Gold®						
Control vs C ₁	ns	ns	—	*	ns	*
Control vs C ₂	ns	ns	—	*	ns	ns
Control vs C ₃	ns	ns	*	ns	ns	ns
Roundup Ultramax®						
Control vs C ₁	ns	*	*	*	ns	*
Control vs C ₂	ns	ns	*	*	ns	*
Control vs C ₃	ns	ns	*	*	ns	*
Control vs C ₄		ns		*		ns
Sulfosato Touchdown®						
Control vs C ₁	ns	*	—	*	ns	*
Control vs C ₂	ns	ns	*	*	ns	ns
Control vs C ₃	ns	ns	*	ns	ns	ns

Tabla 1. Análisis de la varianza (ANOVA) con post test de Tukey–Kramer para supervivencia, fecundidad y número de mudas de *D. magna* (izquierda) y *C. dubia* (derecha) luego de ser expuesta a cuatro formulaciones de glifosato durante 21 días.
ns: no significativo; (*) diferencias significativas ($p < 0.05$); (—) sin eventos reproductivos.

R_0		
	<i>D. magna</i>	<i>C. dubia</i>
Control	3,55	2,56
Eskoba®		
C1	0	0
C2	0,51	0
C3	0,77	1,45
C4	1,23	2,12
Roundup Ultramax®		
C1	0,41	0,05
C2	0,67	0,63
C3	1,65	1,1
C4		1,3
Panzer Gold®		
C1	0	0,89
C2	0	1,28
C3	1,04	2,26
Sulfosato Touchdown®		
C1	0	0,65
C2	0,13	1,5
C3	0,2	2,32

Tabla 2. Tasa reproductiva neta (R_0) calculada para cada uno de las concentraciones ensayadas de cuatro formulados con glifosato y controles, en ensayos crónicos de 21 días.

DISCUSIÓN

La toxicidad de las formulaciones de glifosato pueden presentar variaciones según la especie que sea considerada como modelo biológico y la presentación comercial que sea evaluada (Domínguez–Cortinas *et al.*, 2008; Raipulis *et al.*, 2009).

En este trabajo se mostró que la fecundidad fue el atributo más sensible, mientras que la supervivencia mostró pocas diferencias entre los tratamientos y controles para las dos especies de cladóceros estudiadas. Melnichuk *et al.* (2007) reportaron una disminución

en la fecundidad de *Ceriodaphnia affinis* a concentraciones muy bajas (de hasta 0,01 mg L⁻¹) en ensayos con el formulado comercial Fabel® (48 % e.a glifosato-IPA). La presencia de huevos sin eclosionar o embriones abortados, también fue reportada por Cuhra *et al.*, (2013), luego de exponer a *D. magna* a 1,35 mg L⁻¹ de Roundup® en ensayos crónicos.

Los resultados obtenidos en este trabajo aportan a la teoría ecofisiológica, en el sentido de que la supervivencia es el rasgo de historia de vida más importante de conservar; para cumplir con este objetivo los organismos pueden adoptar una estrategia de *trade-off*, que implica disminuir otras funciones biológicas, como la movilidad, la madurez sexual, la fecundidad e incluso el crecimiento, para poder sobrevivir a eventos de estrés (Dodson & Hanazato, 1995). La contaminación ambiental por agroquímicos expone a organismos no-blanco a la urgencia de responder rápida y eficientemente a eventos de estrés debiendo efectuar un balance entre las distintas demandas energéticas en conflicto. En este sentido, la necesidad de eliminar una sustancia tóxica puede romper el equilibrio entre los diferentes componentes del presupuesto energético, causando modificaciones en la dinámica poblacional. Según Sibly & Calow (1989), puede establecerse un compromiso entre la capacidad de sobrevivir al tóxico, la tasa de crecimiento y la fecundidad. Por otro lado, Calow & Sibly (1990) y Stearns (1993) reportaron que los organismos generalmente no aportan recursos a todas las funciones que pueden estar involucradas en una situación de estrés. En este contexto, este trabajo mostró que las dos especies de cladóceros utilizadas como organismos test asignaron mayores recursos energéticos a la supervivencia, en detrimento de la fecundidad, en todos los formulados de glifosato evaluados. Sin embargo, tales desbalances pueden tener consecuencias ecológicas de relevancia a nivel poblacional, comunitario y ecosistémico.

Las dos especies estudiadas en este trabajo mostraron retraso en el inicio de la primera reproducción. Resultados similares fueron reportados por Papchenkova *et al.*, (2009) y Gagneten *et al.*, (2014) luego de exponer a *C. reticulata* y *D. magna* al formulado comercial Roundup® y Ron-do®, respectivamente. Por otra parte, Reno *et al.* (2014) informaron que en el cladóceros *Simocephalus vetulus* se atrasó la edad de la primera reproducción así como en el copépodo *Notodiaptomus conifer* el tiempo para alcanzar el estado adulto (pasando de copepodito 5 a copepodito 6). Las mencionadas modificaciones en el ciclo de vida se registraron en ejemplares de ambas especies que sobrevivieron a una exposición aguda (48 h) del formulado con glifosato, Eskoba®.

La formación de los huevos abortados en los ensayos con *D. magna*, expuesta a C1 y C2 de Panzer Gold® así como la formación de un epipio a los 17 días de exposición pueden interpretarse como respuestas adaptativa de evasión ante el efecto prolongado de un tóxico. Cabe destacar además que en las dos concentraciones mencionadas esta especie tampoco se reprodujo. Como señalan Lass & Spaak (2003), los cambios en la asignación de la energía pueden alterar el *fitness* o adecuación biológica del organis-

mo, el cual es una medida de su capacidad reproductiva. En este contexto, el cladócono no estaría invirtiendo los recursos energéticos asignados a la reproducción en la formación de neonatos (con escasas probabilidades de supervivencia) sino a la formación de huevos de resistencia, con mayores probabilidades de supervivencia futura (en el caso de cesar la exposición al tóxico).

En tanto, algunos estudios que evaluaron toxicidad del glifosato comunicaron efectos negativos y significativos sobre diversos rasgos de historia de vida del zooplancton (Chu *et al.*, 2005; Gagneten *et al.*, 2014). Ceresoli & Gagneten (2003) demostraron que la tasa neta de crecimiento poblacional (R_0) es un buen parámetro de adecuación biológica en ensayos crónicos de exposición continua y enfatizan la importancia de considerar parámetros poblacionales integradores y no sólo la mortalidad, punto final comúnmente utilizado en ensayos de toxicidad aguda. La comparación de los valores de R_0 obtenidos para los cuatro formulados aquí estudiados, permitió conocer sus efectos sobre ambos atributos combinados: la supervivencia y la reproducción de *D. magna* y *C. dubia*.

Las diferencias encontradas para R_0 a similares concentraciones de glifosato, podrían ser atribuidas a la variedad de compuestos que forman estas formulaciones comerciales, independientemente del % de principio activo declarado en el formulado comercial. Sin embargo, esta información no está disponible en el marbete de los productos que se comercializan, lo cual genera incerteza acerca de su toxicidad real, tal como fuera señalado por Nielsen (2013) y Annett *et al.*, (2014). Estos autores sostienen que en las formulaciones comerciales se debe reportar la toxicidad de las presentaciones de herbicidas que se ofrecen en el mercado, indicando si la misma corresponde al principio activo, a los coadyudantes o al efecto conjunto de ambos.

En este trabajo se evaluaron concentraciones de glifosato que están cercanas o por debajo de las encontradas en el ambiente ($0,0005 - 0,56 \text{ mg kg}^{-1}$ en material particulado en suspensión según datos informados por Aparicio *et al.*, 2013) y las informadas por la Subsecretaría de Recursos Hídricos de la República Argentina (2003), ($\leq 0,24 \text{ mg/L}^{-1}$) y el Ministerio de Ambiente de Canadá ($2,7$ y $0,8 \text{ mg L}^{-1}$), para exposiciones cortas y prolongadas, respectivamente) como valores guía para la protección de la biota acuática y en las cuales R_0 fue < 1 . Esta condición indicaría una disminución poblacional de las dos especies de microcrustáceos, lo que pondría en peligro la permanencia de ambas especies en los ecosistemas acuáticos expuestos al vertido de los plaguicidas mencionados en este estudio.

Cabe destacar que los valores guías de glifosato para la protección de la biota acuática informados por los dos entes reguladores mencionados anteriormente se establecieron sobre determinaciones realizadas en agua dulce superficial. Sin embargo, Aparicio *et al.*, (2013) y Ayarragaray *et al.*, (2014), cuando analizaron cuerpos de agua

superficiales en zonas agrícolas de la pampa Argentina, encontraron valores de glifosato mayores en material particulado en suspensión que en el agua. La determinación de plaguicidas en material particulado en suspensión no es una práctica habitual de monitoreo en estudios ecotoxicológicos. No obstante, la unión del glifosato a esta matriz aumentaría la toxicidad de este compuesto para organismos que poseen una alimentación suspensiva por filtración tales como la mayor parte de las especies zooplanctónicas, entre ellas, los cladóceros planctónicos. En este escenario, los actuales niveles guías basados en una sola matriz de análisis —el agua dulce superficial— y consignando sólo el principio activo, no estarían teniendo en consideración la protección de la biota en general y las especies no-blanco en particular, que son de gran relevancia para el mantenimiento de la salud ecosistémica.

CONCLUSIONES

El presente trabajo aporta información relevante sobre los efectos de formulaciones comerciales de glifosato a concentraciones subletales, sobre una especie de microcrustáceo de distribución neotropical de gran relevancia en ecosistemas acuáticos continentales de la región pampásica argentina, y de una especie de distribución holártica, datos que pueden ser utilizados en ecosistemas donde las especies son abundantes o frecuentes. Además, se destaca la necesidad de desarrollar valores guía que incluyan determinaciones ambientales en diferentes matrices, la importancia de realizar ensayos crónicos considerando el ciclo de vida completo de las especies, no sólo la mortalidad sino también otros atributos de historia de vida y parámetros poblacionales integradores. Este enfoque integrador permitiría desarrollar evaluaciones de riesgos más adecuadas que permitan una gestión integral de los plaguicidas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el financiamiento otorgado por la Universidad Nacional del Litoral a través de los Proyectos CAI+D 2011 N° 501 201101 00215: Biomarcadores de metales y fitosanitarios en plancton y crustáceos de humedales de la región central de la provincia de Santa Fe y CAI+D Orientado 2012: Evaluación integral y procesos de remediación de los efectos de mezclas de herbicidas e insecticidas sobre especies nativas del Litoral fluvial argentino.

Recibido | Received: 04 de septiembre de 2015

Aceptado | Accepted: 30 de diciembre de 2015

REFERENCIAS

- American Public Health Association. American Water Works Association; Water Environment Federation. (APHA).** 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. American Public Health Association. Washington, D.C.
- Annett, R., H. R. Habibi & A. Hontela.** 2014. Impact of glyphosate and glyphosate based herbicides on the freshwater environment. *J. Appl. Toxicol.* 34 (5): 458–479.
- Aparicio, V. C., E. De Gerónimo, D. Marino, J. Priemost & P. Carriquiriborde.** 2013. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere* 93: 1866–1873.
- Ayarragaray, M., L. Regaldo, U. Reno, M. F. Gutiérrez, D. J. Marino & A. M. Gagneten.** 2014. Monitoreo de glifosato y ácido aminometilfosfónico (AMPA) en ambientes acuáticos cercanos a la ciudad de San Justo (Provincia de Santa Fe, Argentina). Vº Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental. Producción Sustentable y Compromiso Social para el Cuidado del Ambiente. Neuquén. Argentina. 97.
- Brodeur, J. C., M. V. Poliserpi, M. F. D. Andrea & M. Sánchez.** 2014. Synergy between glyphosate- and cypermethrin-based pesticides during acute exposures in tadpoles of the common South American Toad *Rhinella arenarum*. *Chemosphere*. 112: 70–76.
- Calow, P. & R. M. Sibly.** 1990. A physiological basis of population processes: ecotoxicological implications. *Functional Ecology*. 4: 283–288.
- Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes (CASAFE).** 2013. Guía de Productos Fitosanitarios. 15 Ed. Buenos Aires. Argentina. 354.
- Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life.** 2012. Canadian Environmental Quality Guidelines Canadian Council of Ministers of the Environment. Canadian. 1–10.
- Ceresoli, N. & A. M. Gagneten.** 2003. Efectos del efluente de curtiembre sobre *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) en condiciones experimentales. *Interciencia* 28: 469–475.
- Chu, Z., Y. Yi., X. Xu., Y. Ge., L. Dong & F. Chen.** 2005. Effects of glyphosate on life history characteristics of fresh water rotifer *Brachionus calyciflorus*. *J. Appl. Ecol.* 6: 1142–1145.
- Consejo Nacional de Ciencia y Técnica (CONICET).** 2009. Comisión Nacional de Investigación sobre Agroquímicos. Decreto 21/2009. Consejo Científico Interdisciplinario. Informe: Evaluación de la Información Científica vinculada al glifosato en su incidencia sobre la salud humana y el ambiente. Buenos Aires, Argentina. 133.
- Cuhra, M., T. Traavik & T. Bøhn.** 2013. Clone- and Age-Dependent Toxicity of a Glyphosate Commercial Formulation and Its Active Ingredient in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*. 22: 251–262.
- Dodson, S. & T. Hanazato.** 1995. Commentary on effects of anthropogenic and natural organic chemicals on development, swimming behaviour, and reproduction of daphnia, a key member of aquatic ecosystems. *Environ Health Persp.* 103 (41): 7–11.

- Domínguez-Cortinas, G., J. Mejía-Saavedra, G. E. Santos-Medrano & R. Rico-Martínez.** 2008. Analysis of the Toxicity of Glyphosate and Fauna Using the Freshwater Invertebrates *Daphnia magna* and *Lecane quadridentata*. *Toxicol. Environ. Chem.* 90: 377–384.
- Gagneten, A. M., M. I. Maitre, U. Reno, L. Regaldo, S. Roldan & S. Enrique.** 2014. Efectos del herbicida Ron-do® sobre *Ceriodaphnia reticulata* (Crustacea, Cladocera) y degradabilidad del glifosato (N-fosfometilglicina) en condiciones experimentales. *Natura Neotropicalis*. 45: 71–85.
- Hanazato, T.** 2001. Pesticide Effects on Freshwater Zooplankton: An Ecological Perspective. *Environ. Pollut.* 112: 1–10.
- InfoStat.** 2004. Infostat Group. FCA. National University of Córdoba, 1st ed.; Bruges: Buenos Aires, Argentina.
- Kenaga, E.** 1982. Predictability of chronic toxicity from acute toxicity of chemicals in fish and aquatic invertebrates. *Environ. Toxicol. Chem.* 1:347–358.
- Lancôtta, C., L. Navarro-Martina, C. Robertsona, B. Park, P. Jackmanc, B. D. Paulid, & V. L. Trudeau.** 2014. Effects of glyphosate-based herbicides on survival, development, growth and sex ratios of wood frog (*Lithobates sylvaticus*) tadpoles. II: Agriculturally relevant exposures to Roundup Weather Max® and Vision® under laboratory conditions. *Aquat. Toxicol.* 154: 291–303.
- Lass, S. & P. Spaak.** 2003. Chemically induced anti-predator defences in plankton: a review. *Hydrobiologia*. 491: 221–239.
- McCormick, P. V. & J. Cairns.** 1997. Algal Indicators of Aquatic Ecosystem Condition and Change. In *Plants for Environmental Studies*; Wuncheng, W., Gorsuch, J. W., Hughes, J. S., Eds.; Lewis Publishers: Chelsea, Michigan; pp 177–208.
- Melnichuk, S. D., E. P. Sherban & V. I. Lokhanskaya.** 2007. Effects of Fabel Herbicide on vital activity of *Ceriodaphnia affinis* in acute and chronic experiments. *J. Hydrobiol.* 43(6): 83–91.
- Mugni, H., A. Ronco & C. Bonetto.** 2011. Insecticide toxicity to *Hyalella curvispina* in runoff and stream water within a soybean farm (Buenos Aires, Argentina). *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 3: 350–354.
- Nielsen, K. M.** 2013. Biosafety data as confidential business information. *PLOS Biology*. 11(3); 1–5.
- Papchenkova, G. A., I. L. Golovanova & N. V. U. Shakova.** 2009. The Parameters of Reproduction, Sizes, and Activities of Hydrolases in *Daphnia magna* Straus of Successive Generations Affected by Roundup Herbicide. *Inland Water Biol.* 2: 286–291.
- Pianka, E.** 1982. *Ecología Evolutiva*. Omega. Barcelona, España. 365.
- Raipulis, J., M. M. Toma & M. Balode.** 2009 Toxicity and Genotoxicity Testing of Roundup. *Proc. Latvian Ac. Sci.* 63: 29–32.
- Rand, G. M., P. G. Wells & L. S. McCarthy.** 1995. Introduction to aquatic toxicology, In: *Fundamentals of aquatic toxicology—effects, environmental fates, and risk assessment* (Ed. 2^{da}), Rand, G.M. (Ed.), Taylor and Francis, Washington DC. USA. 3–67.
- Reno, U., M. F. Gutiérrez, L. Regaldo & A. M. Gagneten.** 2014. The Impact of Eskoba, a Glyphosate Formulation, on the Freshwater Plankton Community. *Water Environ Res.* 86(12): 2294–2300.
- Sibly, R. M. & P. Calow.** 1989. A life-cycle theory of responses to stress. *Biol. J. Linn. Soc.* 37: 101–116.
- Sokal, R. R. & F. J. Rohlf.** 1969. *Principles and Statistical Methods in Biological Research* Biometría. 852.
- Stearns, S.** 1993. *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press. Reino Unido. 249.
- Struger, J., D. R. Van Stempvoort, S. J. Brown.** 2015. Sources of aminomethylphosphonic acid (AMPA) in urban and rural catchments in Ontario, Canada: Glyphosate or phosphonates in wastewater. *Environ Pollut.* 204: 289–297.

- Subsecretaria de Recursos Hídricos de la Nación. República Argentina.** 2003. Desarrollos de niveles guía nacionales de calidad de agua ambiente correspondientes a glifosato. Buenos Aires, Argentina. 1–21.
- United States Department of Agriculture (USDA).** 2015. Oilseeds: World Markets and Trade. Estados Unidos, p 12.
- Universidad Nacional del Litoral (UNL).** 2010. Informe acerca del grado de toxicidad del glifosato. Expediente Nº 542212. Santa Fe, Capital, Argentina. 24–71.
- Uren Webster, T. M., L. V. Laing, H. Florance, E. M. Santos.** 2014. Effects of Glyphosate and its Formulation, Roundup, on Reproduction in Zebrafish (*Danio rerio*). *Environ. Sci. Technol.* 48(2): 1271–1279.
- Vendrell, E., D.G.B. Ferraz, C. Sabater, J.M. Carrasco.** 2009. Effect of Glyphosate on Growth of Four Freshwater Species of Phytoplankton: A Microplate Bioassay. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 82: 538–542.
- World Health Organization.** 2015. The International Agency for Research on Cancer (IARC). Evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides. Vol. 112.