



Listas de contenidos disponibles en ScienceDirect

Ciencia del Medio Ambiente Total

revista Página de inicio: www.elsevier.com/locate/scitotenv

Glifosato y glufosinato de amonio, herbicidas comúnmente usados en modificultivos ed, y su interacción con microplásticos: Ecotoxicidad en renacuajos anuros

Rafael C. Lajmanovich ^{a,B,*}, Andrés M. Attademo ^{a,B}, Germán Lener ^{B,C}, Ana P. Cuzziol Boccioni ^{a,B}, Paola M. Peltzer ^{a,B}, Candela S. Martinuzzi ^{a,B}, Luisina D. Demonte ^{B,D}, María R. Repetti ^D

^a Laboratorio de Ecotoxicología, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

^b Consejo Nacional de Investigaciones Científicas Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina

^c Instituto de Investigaciones en Físico-Química de Córdoba-CONICET, Departamento de Química Teórica y Computacional, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina

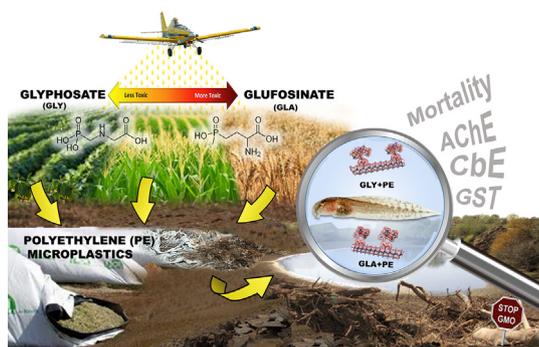
^d Programa de Investigación y Análisis de Residuos y Contaminantes Químicos, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

DESTACAR

- El glifosato, el glufosinato, los microplásticos y su mezcla afectaron a los renacuajos.
- Las actividades enzimáticas se vieron más afectadas por las mezclas que los tratamientos individuales.
- Las interacciones espontáneas entre herbicidas y microplásticos conducen a la formación de enlaces fuertes.
- La mezcla glufosinato-microplástico mostró mayor ecotoxicidad y fuerzas de unión.

GRÁFICO

ABSTRACTO



información del artículo

Historia del artículo:

Recibido el 25 de junio de 2021

Recibido en forma revisada el 21 de agosto de 2021

Aceptado el 2 de septiembre de 2021

On-line el 8 de septiembre de 2021

Montaje: Daniel Wunderlin

Palabras clave:

Anfibio

Contaminante emergente

Herbicidas

Partículas de polietileno

El plástico

Teoría funcional de la densidad

abstracto

Los efectos de los herbicidas a base de glifosato (GLY) y glufosinato de amonio (GA) (GBH y GABH, respectivamente) y las partículas microplásticas de polietileno (PEMP) en *Scinax squaleirostris* Se evaluaron renacuajos. Los renacuajos fueron expuestos a concentraciones nominales de ambos herbicidas (de 1,56 a 100 mg L⁻¹) y PEMP (60 mg L⁻¹), ya sea solo o en combinación, y la toxicidad se evaluó a las 48 h. Las actividades de acetilcolinesterasa (AChE), carboxilesterasa (CbE) y glutatión-S-transferasa (GST) se analizaron en las tres concentraciones más bajas (1,56, 3,12 y 6,25 mg L⁻¹, tasas de supervivencia > 85%) de ambos herbicidas solos y con PEMP. Además, la termoquímica de las interacciones entre los herbicidas y el polietileno (PE) se analizó mediante la teoría funcional de la densidad (DFT). La concentración mediana letal (LC₅₀) fue 43,53 mg L⁻¹ para GBH, 38,56 mg L⁻¹ para GBH + PEMP, 7,69 para GABH y 6,25 mg L⁻¹ para GABH + PEMP. El tratamiento con PEMP aumentó la GST pero disminuyó la actividad de CbE, mientras que los tratamientos con GBH y GABH aumentaron la GST pero disminuyeron la actividad de la AChE. En general, la mezcla de herbicidas con PEMP aumentó el efecto observado en los tratamientos individuales: la concentración más alta de GBH + PEMP aumentó la actividad de GST, mientras que los tratamientos con GABH + PEMP disminuyeron las actividades de AChE y CbE. El análisis DFT reveló interacciones espontáneas entre los herbicidas y el PE, que condujeron a la formación de enlaces en la interfase herbicida-PE, significativamente más fuerte para GA que para GLY. El experimental y teórico Los hallazgos de nuestro estudio indican que estas interacciones pueden conducir a un aumento de la toxicidad cuando los contaminantes están juntos, lo que significa un riesgo ambiental potencial de estas combinaciones, especialmente en el caso de GA.

© 2021 Publicado por Elsevier BV

* Autor para correspondencia en: Laboratorio de Ecotoxicología, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral (FBCB-UNL), Casilla de Correo 242, 3000 Santa Fe, Argentina.

Dirección de correo electrónico: lajmanovich@hotmail.com (RC Lajmanovich).

1. Introducción

La incorporación de genéticamente modified (GM) resistentes a plaguicidas ha convertido el modelo agrícola en dependiente de agroquímicos (Raman, 2017). Desde la introducción de cultivos transgénicos resistentes a herbicidas de amplio espectro como el glifosato (GLY) y el glufosinato de amonio (GA) en la década de 1990, la superficie de tierra plantada y, en consecuencia, el riesgo ambiental ecotoxicológico y la exposición humana a estos herbicidas han aumentado drásticamente (Sang y col., 2021). El uso masivo de herbicidas reduce la biodiversidad y disminuye la provisión de servicios ecosistémicos que mantienen la seguridad alimentaria (Almeida et al., 2017). Aunque este es un problema mundial, más del 95% de los cultivos transgénicos en el mundo son producidos solo por cinco países (Estados Unidos, Brasil, Argentina, Canadá y China). Después de Estados Unidos y Brasil, Argentina es el tercer país del mundo con mayores cantidades de cultivos transgénicos, y la tasa de incorporación de tecnologías transgénicas se ha estimado cercana a la saturación (Pengue, 2005). De acuerdo con la Base de datos ArgenBio (2021) Actualmente existen 61 eventos transgénicos aprobados (evaluados y aprobados para agricultura por las autoridades), principalmente para maíz, soja y algodón. Aproximadamente el 60,65% de estos eventos incluyen tolerancia a GLY, GA o ambos. En particular, los eventos tolerantes a GA han crecido mucho en la última década. GA es un herbicida clave para el manejo de malezas resistentes a GLY principalmente porque tiene un amplio espectro. Actualmente, existe una gran variedad de cultivos transgénicos resistentes a GA, entre los que se encuentran el trigo, la soja, el algodón y el maíz (Áy et al., 2012; Ayala et al., 2019; Takano y Dayan, 2020).

Es ampliamente conocido que el uso indiscriminado de plaguicidas afecta a los organismos acuáticos, y no es de extrañar que una de las principales hipótesis del declive global de las poblaciones de anfibios sea que se deba a los efectos de estos químicos (Egea-Serrano et al., 2012). En particular, muchos de los efectos adversos del uso de herbicidas basados en GLY (GBH) se han observado en anfibios (Berger y col., 2018). Ciertamente, los renacuajos de anfibios, que son un grupo emblemático dentro de los vertebrados, se han utilizado ampliamente para estudiar los efectos de los GBH (p. Ej., Mann y Bidwell, 1999; Relyea y Jones, 2009; Howe et al., 2004; Lajmanovich et al., 2003, 2011; Wagner et al., 2013; Bach y col., 2016; Mikó et al., 2017; Riaño et al., 2020; Herek y col., 2021, entre otros). Los resultados de estas investigaciones han mostrado varios efectos adversos de los GBH, que incluyen daño en la morfología de las branquias, pérdida de estabilidad osmótica o mortalidad, efectos teratogénicos e histológicos, inhibición de B-esterasas y desintoxicación. enzimas catiónicas, alteraciones nucleares de los eritrocitos, daño del ADN y alteraciones de la hormona tiroidea. Las larvas de anfibios también se han utilizado para investigar los efectos de los herbicidas a base de GA (GABH), que también incluyen la inhibición de B-esterasas, anomalías nucleares de eritrocitos, embriotoxicidad y alteración de la tiroides (Peltzer et al., 2013;

Lajmanovich et al., 2014; Babalola et al., 2020a, 2020b). Los microplásticos (MP), es decir, partículas de plástico con diámetros inferiores a 5 mm, amenazan la biodiversidad y la salud ambiental mundial en todo el mundo (Akdogan y Guven, 2019). Debido a su pequeño tamaño y baja biodegradación, los PM pueden ser ingeridos por organismos silvestres y, por lo tanto, pueden incorporarse a la cadena alimentaria y acumularse en las matrices del suelo y el agua durante mucho tiempo (Cole et al., 2013; Brodhagen et al., 2017). En los agroecosistemas, estos compuestos ingresan por fabricación primaria (por ejemplo, aplicaciones médicas, pinturas a base de agua, productos electrónicos, adhesivos, revestimientos) o como MP secundarios generados por la descomposición de desechos plásticos más grandes (Ng et al., 2018). Uno de los polímeros de hidrocarburos de diferentes grados de plástico más fabricados en masa es el polietileno (PE); así, el PE se puede encontrar en grandes cantidades tanto en sistemas acuáticos como terrestres (Hüffer et al., 2019). Además, el mantillo de plástico se usa comúnmente para aumentar el rendimiento de los cultivos; sin embargo, produce grandes cantidades de desechos de PE microplásticos (PEMP), que contaminan los suelos agrícolas y los ecosistemas acuáticos circundantes (Bandopadhyay et al., 2018). Esto contribuye a la contaminación plástica masiva en todo el mundo y plantea una seria preocupación ambiental que sigue sin estar clara (Zhang et al., 2020; Serrano-Ruiz et al., 2021). Además, en los últimos años, el uso de bolsas de silos (plástico PE extruido laminado grueso sobre

230-235 μm de espesor) para el almacenamiento de granos (trigo, soja, maíz y flower) ha sido adoptado con éxito en varios países de América Latina (Casini et al., 2014). En Argentina, los sacos de silos son ampliamente utilizados y han llevado a un aumento en el almacenamiento de granos de 5 millones de toneladas en 2000 a 40 millones de toneladas en 2008 (Bartosik, 2012).

A pesar del declive global de anfibios, los riesgos potenciales de los MP para estos organismos aún son prácticamente desconocidos (Boyer et al., 2020). Hu y col. (2018) MP reconocidos en el tracto digestivo de varias especies de anuros (*Pelophylax nigromaculatus*, *Rana limnochari*, *Microhyla ornata*, y *Bufo gargarizans*), demostrando que los anfibios pueden ingerir MP de sus hábitats (sedimentos y agua). También, Hu y col. (2016) encontraron PEMP en el tracto digestivo y branquias de *Xenopus tropicalis* renacuajos después de 1 h de exposición, y Araujo y Malafaia (2020) toxicidad conductual reportada en *Physalaemus cuvieri* renacuajos después de una corta exposición a PEMP. A pesar de los numerosos estudios experimentales (Bhagat y col., 2021) centrada en las interacciones de los PM con hidrocarburos aromáticos policíclicos, metales pesados, organohalógenos, productos farmacéuticos, pesticidas y otros contaminantes emergentes, solo unos pocos han investigado cómo los PM alteran la toxicidad general de otros contaminantes comunes como los herbicidas en la fauna silvestre. Nematdoost Haghi y Banaee (2017), por ejemplo, investigó los efectos potenciales del herbicida paraquat y los MP sobre los biomarcadores bioquímicos de la sangre en la carpa común (*Cyprinus carpio*), y Zocchi y Sommaruga (2019) informó que los MP modifican la toxicidad de GLY en *Daphnia magna*. Sin embargo, se desconoce si los MP pueden alterar la toxicidad de los herbicidas en los renacuajos de anfibios.

El riesgo ambiental de las diferentes especies químicas que se encuentran en el suelo o el agua y su potencial interacción requieren un estudio profundo. Por tanto, es importante determinar la afinidad de los PM hacia los plaguicidas, que podrían estar vinculados a los grupos funcionales de la superficie plástica (es decir, residuos de carboxilo) (Bergbreiter, 1994; Bao et al., 2011; Chua et al., 2014). Además, los PM juegan un papel como vectores de plaguicidas ya que se ha demostrado que los PM transportan plaguicidas a través de largas distancias en humedales o después de aplicaciones de plaguicidas seguidas de lluvias (Seidensticker et al., 2018; Hüffer et al., 2019; Rodríguez-Seijo et al., 2019; Wanner, 2021). El afiLa unión entre dos o más especies químicas y su interacción molecular físico-química se puede determinar mediante la técnica de química computacional denominada Teoría funcional de la densidad (DFT) (Lener et al., 2016). Esta técnica permite la evaluación de aspectos termodinámicos, como la energía de enlace, la densidad y estructura electrónica, de este tipo en la interacción. Stathi y col. (2006), por ejemplo, estudió la afinidad y propiedades adsorbtivas de plaguicidas de tiuramdisulfato en la superficie de arcilla de Al-montmorillonita, Belzunces et al. (2019) determinó la interacción entre pesticidas y fungicidas en interfaces Camontmorillonita, y Ahmed y col. (2018) exploró la interacción entre el grupo funcional de GLY y superficies de goethita.

Los objetivos del presente estudio fueron evaluar la toxicidad de un GBH, aGABH y PEMP, ya sea solo o en combinación, en biomarcadores bioquímicos de la rana arborícola de hocico rayado (*Scinax squirostris*) renacuajos. Además, se simuló modelos de química computacional para obtener las energías de enlace y la estructura electrónica de las interacciones entre los herbicidas y los PEMP. Se esperaba que la mortalidad de los renacuajos y las actividades enzimáticas fueran mayores en presencia combinada de herbicidas y PEMP debido a la formación de nuevas estructuras químicas y compuestos que pueden aumentar su toxicidad.

2. Materiales y métodos

2.1. Ensayos de toxicidad

2.1.1. Sustancias de prueba

Para los experimentos con GLY y GA, utilizamos formulaciones comerciales (basadas en ambos principios activos), ya que esta es la forma en que se introducen al medio ambiente (Relyea y Jones, 2009). Las formulaciones comerciales elegidas fueron: GBH Mifos®, Chemotecnica Co., Argentina (48% de ingrediente activo [ai] GLY, NORTE-

fosfometilglicina) y GABH Liberty®, Basf Co., Argentina (20% ai GA, amonio-dl-homoalanin-4-il (metil) fosfinato). Se sabe poco acerca de otros compuestos que integran formulaciones además de ai (definido como "coformulantes"), ya que la composición química de las formulaciones se considera confidencial comercial diferencial. Por esta razón, la clase de seguridad de formulaciones es definido por su ía a pesar de que los coformulantes pueden aumentar o modificar la toxicidad de la ía (Milesi y col., 2021). Los datos técnicos disponibles de ambos herbicidas se resumen en la Tabla 1 del anexo. Los PEMP se compraron a Sigma-Aldrich (número CAS 9002-88-4, 40-48 µm tamaño de partícula, densidad 0.9215-0.9255 g / ml; pureza > 99%).

2.1.2. Organismos

Los organismos de prueba modelo fueron *Scinax squalestris* (Anura: Hylidae) renacuajos. Esta rana tiene una distribución extensa en regiones neotropicales, incluyendo el medio oeste, sur y sureste de Brasil, además del sur de Uruguay, Paraguay, noreste de Argentina y este de Bolivia, y está catalogada como "no amenazado" en la categorización de anfibios de Argentina (Vaira et al., 2012). Esta especie se encuentra en bosques, pastizales y ecosistemas agrícolas, y utiliza estanques rodeados de soja y otros cultivos (Peltzer y col., 2006). Renacuajos premetamórficos (estadios de Gosner 26-30; Gosner, 1960)

fueron recolectados de un sitio no contaminado sin actividades agrícolas, situado en un entorno natural fillanura del río Paraná (31° 36' 50,6" S, 60° 35' 52,9"W), Santa Fe, Argentina, con permiso de recaudación del Ministerio del Ambiente de la Provincia de Santa Fe (EXP. N° 02101-0018518-1). Los renacuajos se aclimataron en condiciones de laboratorio durante 48 h en un ciclo de luz / oscuridad de 12 h enflpregunta con agua del grifo sin cloro (DTW) (pH: 7,4 ± 0,05; conductividad: 175 ± 20 µmhos cm⁻¹; concentración de oxígeno disuelto: 6,5 ± 1,5 mg L⁻¹; dureza: 55,5 mg L⁻¹ de CaCO₃), a 24 ± 2 ° C. La lechuga hervida se administró ad libitum como alimento. La longitud total media de los renacuajos al comienzo del experimento fue de 9,66 ± 0,24 mm, mientras que su peso fue de 0,09 ± 0,02 g. Los renacuajos utilizados en los bioensayos fueron tratados de conformidad con el procedimiento de laboratorio experimental estandarizado del *Sociedad Estadounidense de Ictiólogos y Herpetólogos* (2004) y *ASTM* (2007), con ajustes mínimos para especies silvestres, como se describió anteriormente (Attademo et al., 2016). Los renacuajos fueron sacrificados siguiendo la Guía de Eutanasia Animal propuesta por el Comité de Bioética y el Comité Institucional de Cuidado y Uso Animal de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina (Res. CD N: 388/06).

2.1.3. Diseño experimental

Para examinar el efecto combinado entre las dos formulaciones de herbicidas y los PEMP, se realizó un ensayo de toxicidad aguda a corto plazo. Las concentraciones nominales de GBH y GABH utilizadas para probar toxicidades individuales fueron: 1,56, 3,12, 6,25, 12,5, 25, 50 y 100 mg L⁻¹ para la comparación ecotoxicológica, como se indicó anteriormente en Lajmanovich y col. (2011, 2014). Estas concentraciones se prepararon con DTW, y con y sin 60 mg L⁻¹ de PEMP. Un tratamiento con PEMP solo (60 mg L⁻¹) también fue probado. La concentración elegida de PEMP se ha indicado como una condición de contaminación realista para los renacuajos de anfibios (Araújo et al., 2020; Anbumani y Kakkar, 2018). También se añadió un tratamiento de control negativo con DTW.

Tanto las concentraciones de control como las de prueba se evaluaron por triplicado. Vidriofl Se utilizaron preguntas (13,5 cm de alto; 12,5 cm de diámetro) que contenían 1 L de solución de prueba y diez renacuajos por ensayo (N = 30 renacuajos por tratamiento). Las pruebas se realizaron a 24 ° C ± 2 ° C y bajo un ciclo de luz / oscuridad de 12 h. Se controló la mortalidad de los renacuajos y se recuperaron los animales muertos. movido cada 24 h. Concentración letal media (LC₅₀) y las concentraciones sin efecto observado y las más bajas (NOEC y LOEC, respectivamente) fueron calculados. Tanto las soluciones de control como las de prueba se hicieron por triplicado. Las tasas de mortalidad acumulada para cada tratamiento se calcularon a las 24 y 48 h de exposición. Para obtener una distribución homogénea de las PEMP durante el bioensayo, la solución en cada vasoflpreguntar fue continuamente

aireado para mantener la dispersión de las partículas en agua y evitar la agregación de PEMP (Yifeng et al., 2016).

Al final del ensayo (48 h), siete renacuajos de los tratamientos control y PEMP, así como de los tratamientos con las tres concentraciones más bajas de ambos herbicidas con y sin PEMP, que presentaron tasas de supervivencia superiores al 85% (Lajmanovich et al., 2010; Attademo et al., 2021), se utilizaron para la determinación bioquímica de las actividades de acetilcolinesterasa (AChE), carboxilesterasa (CbE) y glutatión-estransferasa (GST).

2.2. Actividades enzimáticas

Los renacuajos (n = 7 por tratamiento) se pesaron (g) y luego se homogeneizaron (1:10, p / v) en sacarosa 25 mM enfriada con hielo y tampón Tris-HCl 20 mM (pH 7,4) que contenía EDTA 1 mM, utilizando un molinillo de tejido Polytron. Los homogeneizados se centrifugaron a 10.000gramo durante 15 min a 4 ± 1 ° C, y almacenado a -80 ° C hasta la medición. La concentración de proteína total se determinó mediante el método de Biuret (Kingsley, 1942) para calcular los niveles de actividad enzimática.

Las actividades enzimáticas se midieron a 25 ° C, utilizando un espectrofotómetro JENWAY 6405 UV-VIS, siguiendo las especificaciones de los métodos para medir AChE, CbE y GST en anfibios, utilizados habitualmente en nuestro laboratorio (Attademo et al., 2021; Lajmanovich et al., 2019; Peltzer et al., 2019).

La actividad de AChE se determinó colorimétricamente siguiendo Ellman y col. (1961) y expresado como nmolmin⁻¹mg⁻¹ proteína (coef de extinción molarficiente (MEC) = 13,6 × 10³ METRO⁻¹ cm⁻¹).

La actividad CbE se midió mediante el método de Bunyan y Jennings (1968), utilizando α acetato de naftiloα-NA (1.04 mg mL⁻¹ en acetona) como sustrato. Hidrólisis deα-NA se expresó como nmol de sustrato hidrolizado min⁻¹ mg⁻¹ proteína (MEC = 3.225 × 10³ M⁻¹ cm⁻¹).

La actividad de GST se midió espectrofotométricamente de acuerdo con Habig y col. (1974) and modificaciones de Habdous y col. (2002) para la actividad de la GST en suero de mamífero. La actividad de GST total se expresó como nmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína (MEC = 9,61 × 10³ METRO⁻¹ cm⁻¹).

2.3. Determinación química de herbicidas

Para estafarfirm las concentraciones de exposición de las formulaciones comerciales utilizadas, las concentraciones de GLY más su metabolito ácido aminometilfosfónico (AMPA) y GA se determinaron según lo descrito por Demonte y col. (2018). Las concentraciones de los dos herbicidas mostraron variaciones bajas en comparación con las concentraciones nominales previstas (Cuadro 2 del Anexo).

2.4. Química cuántica computacional de la interacción entre los herbicidas y el PE

Las interacciones entre los dos herbicidas y los PEMP se caracterizaron computacionalmente considerando los ingredientes activos del herbicida (GLY y GA) y la molécula de PE. Es importante señalar que simular la interacción de todos los componentes de un sistema real es tan complejo como no factible, ya que hay muchas sustancias no informadas (surfactantes, micelas, metales, etc.) de formulaciones herbicidas comerciales que se encuentran bajo secreto industrial. Además, dado que el estado de la técnica de la formulación de plaguicidas es dinámica (Jibrin y col., 2001; Liu y col., 2021), la asignación de combinación química requeriría una caracterización completa para cada formulación, lo cual está prohibido por las leyes de patentes.

La aproximación de gradiente generalizada en el Perdew-Burke-Versión Ernzerhof (Perdew y col., 1996) se utilizó para realizar los cálculos de DFT y proporcionar información sobre las propiedades termoquímicas y de la estructura electrónica, según lo implementado en el código SIESTA (Soler et al., 2002). De hecho, el Troullier-Pseudopotenciales conservadores de normas de Martins (Troullier y Martins, 1991) se utilizaron para representar el núcleo y los electrones centrales de las especies consideradas. El conjunto de bases

utilizado para la expansión del Kohn-Shameigenstates se compone de un conjunto de orbitales atómicos numéricos que incluyen orbitales de polarización. Se eligió un cambio de energía de 50 meV como un compromiso entre la precisión y el efecto computacional. Se usó un corte de energía de 200 Ry y un conjunto de base orbital de polarización doble f más. Usamos el punto k de 6 6 6 y el punto k de 6 1 6 para la zona de Brillouin para volumen y losa respectivamente. Las coordenadas se optimizaron mediante gradientes conjugados, y todas las geometrías se optimizaron utilizando el método de gradiente conjugado hasta que la fuerza en cada átomo fue inferior a 0,01 eV / Å. En entornos reales, la EP se ha observado como fibra como consecuencia de la biodegradación (Cole et al., 2016; Lambert y Wagner, 2016; Song et al., 2019). Aquí, los marcos de PE se modelaron como 1D fibra, construido a partir del monómero de etileno. Además, como consecuencia de la degradación natural de la superficie y los residuos que quedan después de su síntesis química, los plásticos tienen grupos funcionales en su superficie (Bergbreiter, 1994; Hakkarainen y Albertsson, 2004). Para describir estas propiedades superficiales y evaluar la interacción de los grupos funcionales PE con moléculas GLY y GA, el grupo carboxilo

(EDUCACIÓN FÍSICA_{COOH}) fue propuesto como material adsorbente de moléculas GLY y GA.

Para estudiar la interacción herbicidas-PE, los cálculos se realizaron de la siguiente manera: mínimos.

Primero, cada estructura de herbicida y PE fiber se optimizaron como fotogramas aislados. Luego, se estudiaron las interfaces herbicidas-PE colocando pesticidas en las losas de PE frente a los grupos funcionales, seguido de la dinámica cuántica usando un termostato a 300 K para 1 ps. Finalmente, las geometrías obtenidas se optimizaron mediante relajación mediante el algoritmo de gradiente conjugado.

Se obtuvieron las energías de adsorción de las interacciones herbicidas-PE. contenido por la siguiente ecuación termodinámica:

$$E_{ads} = E_{herbicida+PE} - E_{herbicida} - E_{PE}$$

donde E_{ads} es la energía de adsorción del sistema herbicida-PE, $E_{herbicida+PE}$ es la energía de la losa de PE, y $E_{herbicida}$ es la energía de la molécula de plaguicida aislada.

La diferencia de densidad de pseudocarga Δn era definida de la siguiente manera (Lener et al., 2016):

$$\Delta n = \frac{q_{PE+herbicida} - q_{PE} - q_{herbicida}}{V_{PE+herbicida} - V_{PE} - V_{herbicida}}$$

dónde Δn es la densidad de pseudocarga del sistema, $\Delta n_{PE+herbicida}$ es la densidad de pseudo-carga del sistema final de PE / herbicida, Δn_{PE} es la densidad de pseudo-carga de la losa de PE, y $\Delta n_{herbicida}$ es la densidad de pseudocarga del pesticida. Los gráficos moleculares fueron creados con el paquete XCRYSDEN (Kokalj, 2003).

2.5. Análisis de datos de toxicidad

El LC₅₀ valores y su respectivo 95% confi intervalos de diferencia se calcularon mediante el método Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton y col., 1977). Significancia de diferencias de cantopag ≤ 0.05 entre LC₅₀ Los valores fueron determinados por el criterio de no superposición del 95% confi intervalos de dencia (APHA, 1989; Wheeler y col., 2006). Los datos de los parámetros bioquímicos (actividad enzimática) se expresaron como media \pm error estándar (EE). La prueba de Kolmogorov-Smirnov y la prueba de Levene se utilizaron para estafar. finormalidad

tabla 1

Comparación de la concentración letal mediana (LC₅₀ (95% de estafaintervalos de dependencia)), la concentración mínima de efecto observado (LOEC) y los valores de concentración sin efecto observado (NOEC) (mg L⁻¹) en Scinax squilirostris renacuajos expuestos a un herbicida a base de glifosato (GBH) y un herbicida a base de glufosinato de amonio (GABH) con y sin polietileno microplásticos (PEMP).

	24 h			48 h		
	LC ₅₀	LOEC	NOEC	LC ₅₀	LOEC	NOEC
GBH	61,56 (55,66-73,36)	50	25	43,53 (35,61-53,21)	50	25
GBH + PEMP	47,54 (35,77-63,17)	50	25	38,56 (30,08-49,41)	25	12,5
GABH	10,15 (8,52-12,01)	12,5	6,25	7,69 (6,45-9,17)	6,25	3,12
GABH + PEMP	6,25 (5,02-7,68)	6,25	3,12	6,25 (5,02-7,68)	6,25	3,12

Los valores en negrita indican LC₅₀ significativamente diferente entre GABH y GABH + PEMP (sin superposición de 95% confi intervalos de dencia).

y homogeneidad de varianzas, respectivamente. Las diferencias en la actividad enzimática de los renacuajos del control y los tratamientos se analizaron con ANOVA de una vía y la prueba de Dunnett para comparaciones post-hoc. Los resultados se analizaron estadísticamente utilizando GraphPad InStat ©. Los valores se consideraron significativos cuando $p < 0,05$. Dado que no se encontraron diferencias de canto entre las réplicas ($p > 0,05$), se agruparon las réplicas de cada tratamiento.

3. Resultados

3.1. Toxicidad

Los resultados del bioensayo de toxicidad aguda para LC₅₀, LOEC y NOEC se resumen en tabla 1. Se observó mortalidad en el control o PEMP tratamiento (60 mg L⁻¹). A las 48 h, el LC₅₀ los valores para GBH variaron de 43,53 (35,61-53,21) mg L⁻¹ para el herbicida solo a 38,56 (30,08-49,41) mg L⁻¹ para el herbicida en mezcla con PEMP (Tratamiento GBH + PEMP), mientras que el LC₅₀ Los valores de GABH fueron 7,69 (6,45-9,17) mg L⁻¹ para el herbicida solo y 6,25 (5,02-7,68) mg L⁻¹ para el herbicida en mezcla con PEMP (tratamiento GABH + PEMP). Diferencias entre GABH y GABH + PEMP LC₅₀ fueron estadísticamente significativas hasta las 24 h. Los valores de LOEC y NOEC fueron los mismos a las 24 y 48 h para tratamientos GBH y GABH + PEMP (50-25 y 6,25-3,12, respectivamente). Para los tratamientos GBH + PEMP y GABH, los valores de LOEC y NOEC a las 24 h (50-25 y 12,5-6,25 mg L⁻¹ respectivamente para cada tratamiento) disminuyeron en un 50% a las 48 h (25-12,5 y 6,25-3,12 mg L⁻¹).

3.2. Biomarcadores enzimáticos

Al final del ensayo (48 h), el valor medio de la actividad de AChE en los renacuajos de control fue 43,97 \pm 6,77 nmol min⁻¹ mg⁻¹, mientras que en los renacuajos tratados fue significativamente alterado ligeramente ($F = 16,889$, $p < 0,05$; Figura 1). Las tres concentraciones de GBH disminuyeron en gran medida la actividad de AChE (en un 45% y un 36,5% a 1,65 y 6,25 mg L⁻¹, respectivamente), mientras que 6,25 mg L⁻¹ GBH + PEMP lo redujo en un 25%. La concentración más alta de GABH (6,25 mg L⁻¹) también significativamente disminuyó la actividad de AChE (en un 45%), mientras que el tratamiento con GABH + PEMP la redujo de 24,45 a 50%.

La actividad de AChE, que en los renacuajos control fue de 2,34 \pm 0,35 nmol min⁻¹ mg⁻¹, fue significativamente reducida en un 33% en los renacuajos tratados con PEMP y en los tratados con 6,24 mg L⁻¹ GABH + PEMP ($F = 4,92$, $p < 0,05$; Figura 2).

Con respecto a la actividad de GST, los renacuajos de control registraron una media de 106,74 \pm 30,47 min⁻¹ mg⁻¹, mientras que los renacuajos tratados con PEMP mostraron una significativamente menor actividad (en un 40%; $F = 21,546$; $p < 0,05$; Fig. 3). La actividad de GST también aumentó a la concentración más alta de GBH (6,25 mg L⁻¹) con y sin PEMP (en un 110% y 64%, respectivamente), a 6,25 mg L⁻¹ GABH (96%) y a 1,56 mg L⁻¹ GABH + PEMP (37%).

3.3. Química cuántica computacional de la interacción entre los herbicidas y el PE

Las geometrías optimizadas, así como la densidad, para el herbicida-PE_{COOH} interacción se muestran en Figura 4. En ambos casos, la energía de enlace fue exotérmica (-67,6 kJ mol⁻¹ y

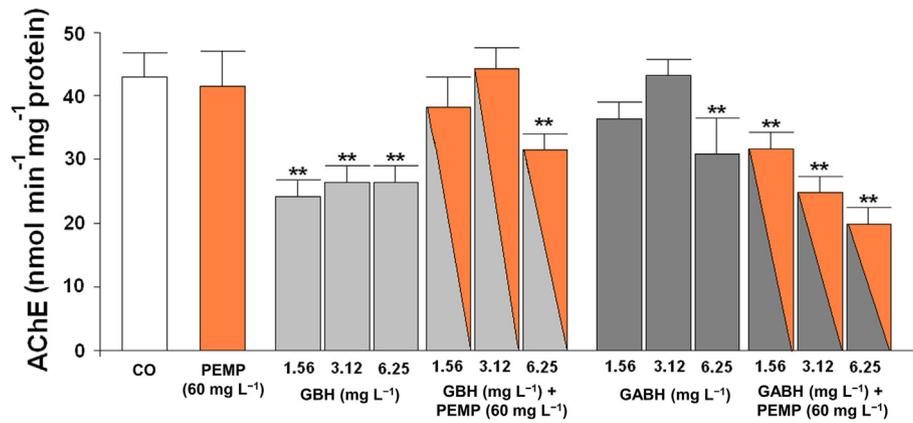


Figura 1. Actividad de AChE (nmol min⁻¹ mg⁻¹ de proteína) en *Scinax squalirostris* renacuajos expuestos a un herbicida a base de glifosato (GBH) y un herbicida a base de glufosinato de amonio (GABH) con y sin microplásticos de polietileno (PEMP). Los datos se expresan como media ± SE. Signifiligeramente diferente del control (CO): * p < 0,05, ** p < 0,01; Prueba de Dunnett).

-100,6 kJ mol⁻¹ para GLY y GA, respectivamente), siendo más fuerte en GA que en GLY. La densidad electrónica diferencial (Figura 4) mostró un rojo lóbulo en las interfaces herbicida-PE, específicamente entre el PECO_{OH} marco y los grupos fosfónicos de ambos herbicidas.

4. Discusión

El mercado de herbicidas ha crecido a nivel mundial, siendo responsable de un incremento del 50% en el consumo total de pesticidas, alcanzando una tasa anual del 17% durante 1990 y 2005 (Zhang y col., 2011). En

Argentina, los dos herbicidas aquí evaluados (GLY y GA) aumentaron aproximadamente un 250% entre 2000 y 2015 (Scursoni et al., 2019). En cuanto a los MP, Blettler y col. (2017) realizaron estudios pioneros sobre contaminación por macro, meso y MPs en ecosistemas de agua dulce de la llanura aluvial del río Paraná y encontraron un promedio de 4654 MP fragmentos / m² (que van desde 131 a 12,687 MPs / m² en sedimentos de los humedales de su orilla (Blettler et al., 2019). De la misma forma, mediante el uso de espectrometría, Mitchell y col. (2021) verified la naturaleza plástica de los MP presentes en estos ecosistemas, que presentaban características de PEMP. Estos humedales son una de las regiones de Argentina con el

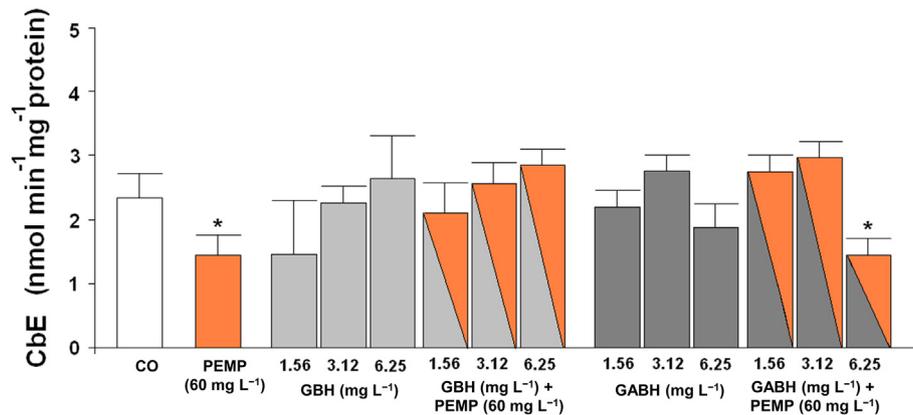


Figura 2. Actividad CbE (nmol min⁻¹ mg⁻¹ de proteína) en *Scinax squalirostris* renacuajos expuestos a un herbicida a base de glifosato (GBH) y un herbicida a base de glufosinato de amonio (GABH) con y sin microplásticos de polietileno (PEMP). Los datos se expresan como media ± SE. Signifiligeramente diferente del control (CO): * p < 0,05 prueba de Dunnett).

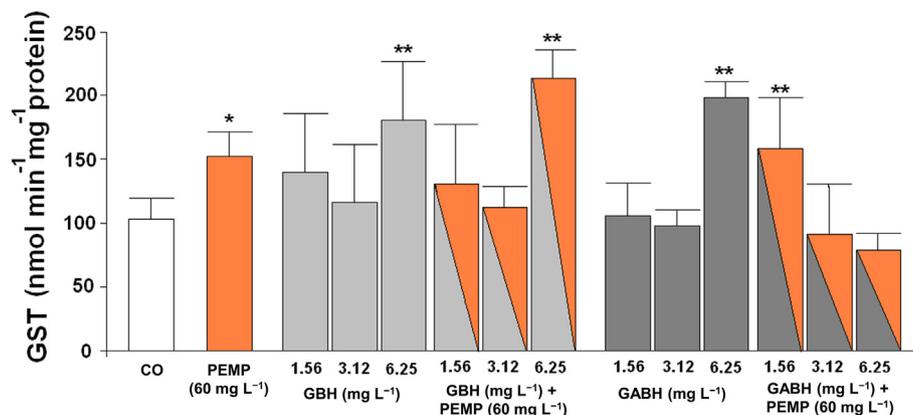


Fig. 3. Actividad de GST (nmol min⁻¹ mg⁻¹ de proteína) en *Scinax squalirostris* renacuajos expuestos a un herbicida a base de glifosato (GBH) y un herbicida a base de glufosinato de amonio (GABH) con y sin microplásticos de polietileno (PEMP). Los datos se expresan como media ± SE. Signifiligeramente diferente del control (CO): * p < 0,05, ** p < 0,01; Prueba de Dunnett).

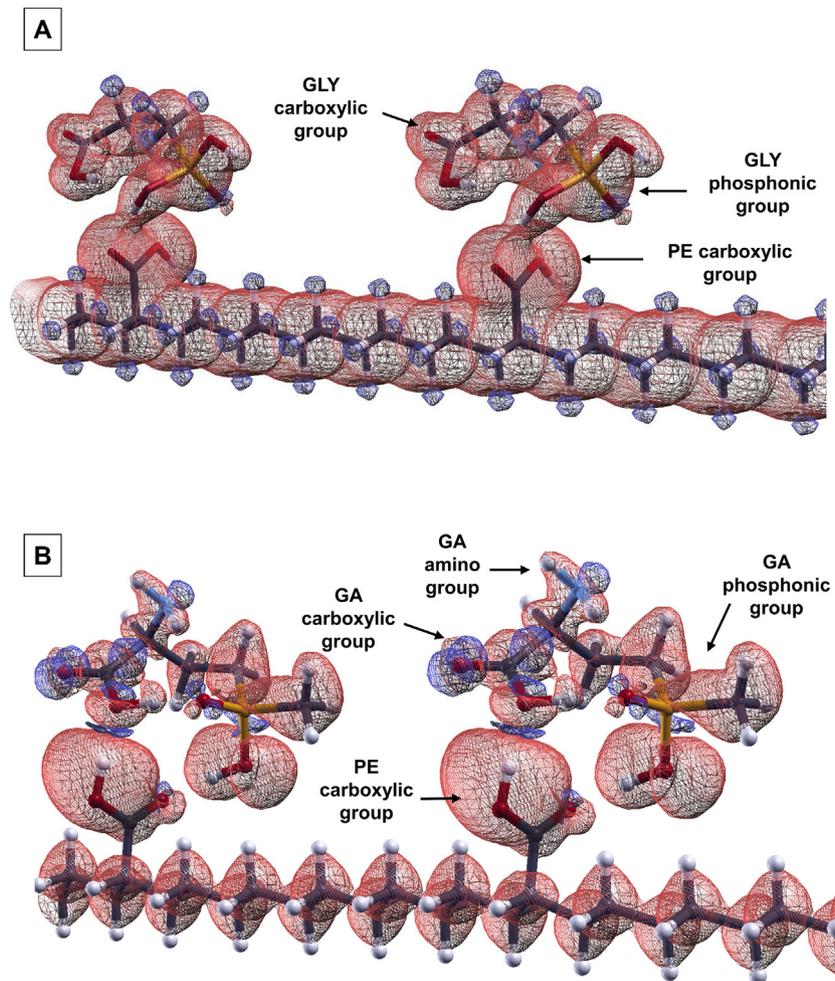


Figura 4. Geometrías optimizadas y densidad pseudoelectrónica diferencial para (A) la interacción glifosato (GLY) y (B) glufosinato de amonio (GA) con polietileno (PE). Los lóbulos rojos indican acumulación de densidad electrónica; los lóbulos azules indican el agotamiento de la densidad electrónica. Densidad de carga en la isosuperficie 1.10⁻⁴ e / Bohr³. (Para la interpretación de las referencias a color en esto fileyenda de la figura, se remite al lector a la versión web de este artículo).

la mayor biodiversidad de anfibios donde habitan los renacuajos (Peltzer y Lajmanovich, 2007).

Los anfibios anuros a menudo se reproducen en cuerpos de agua adyacentes al cultivo. ficamposBishop y otros, 1999; Peltzer y col., 2006). Por esta razón, laboratorio yfi Investigaciones de campo han resaltado la fuerte relación entre herbicidas y exposición a anfibios, reforzando el riesgo ecotoxicológico de los pesticidas para estos vertebrados (EFSA, 2018). El GLYfiLas concentraciones de campo que pueden ser particularmente relevantes para los renacuajos de anfibios no son solo las observadas en el medio ambiente, sino también las directamente relacionadas con los hábitats de los anfibios (pequeños estanques temporales). Mann y Bidwell (1999) midió el peor de los casos para los renacuajos silvestres después de la pulverización directa con GBH en un pequeño superficuerpo de agua cial (5-10 cm de profundidad) a la tasa de aplicación máxima autorizada y valores registrados de ≈21 mg L⁻¹ de GBH. Además, considerando que GBH y GABH se aplican a tasas similares (aproximadamente 600-980 g ae ha⁻¹; Costa et al., 2018) y que tienen un potencial similar para contaminar las aguas superficiales (0.031 y 0.064% del ingrediente activo aplicado, respectivamente;

Screpanti y Accinelli, 2005), los rangos de exposición en el peor de los casos en estanques temporales para renacuajos serían similares.

El presente estudio es el fiPrimero, examinar simultáneamente los efectos de la exposición a GBH y GABH y su interacción con los PEMP en renacuajos phibian. Los resultados basados en LC₅₀ mostrar que GABH es ficino veces más tóxico que GBH. losfiPrimera investigación sobre la toxicidad de GBH realizada por Mann y Bidwell en 1999 en varias especies de renacuajos de anfibios informaron una amplia gama de LC₅₀ valores entre 8.1 y 48.7 mg L⁻¹ por

el GBH Roundup® y hasta 911 mg L⁻¹ para el resumen de GBH Bioactive®. Al respecto, se ha informado que la LC₅₀ El valor de GBH para los renacuajos depende fundamentalmente de la estructura química de los tensioactivos utilizados en cada marca comercial, que pueden tener una toxicidad intrínseca (Mann y col., 2009; Vincent y Davidson, 2015). En el presente estudio, el LC₅₀ valor obtenido para el GBH utilizado (Mifos®) en tratamiento S. squalirostris renacuajos a las 48 h fue 43.53 mg L⁻¹, similar a la anterior encontrado por nosotros para el GBH Roundup Ultra-Max® en tratamiento Rhinella arenarum renacuajos en las mismas etapas de desarrollo (45.95 mg L⁻¹) (Lajmanovich et al., 2019). Por el contrario, con respecto a GABH, hay pocos datos disponibles sobre su toxicidad aguda en anfibios. En el presente estudio, el LC₅₀ obtenido para el GABH utilizado (Liberty®) en tratamiento S. squalirostris renacuajos fue de 7.69 mg L⁻¹ a las 48 h, que es similar a los valores reportados en otras especies de renacuajos expuestas al mismo herbicida. Dinehart y col. (2010), por ejemplo, determinado LC₅₀ valores para GABH Ignite® (Bayer Crop Science) de 3.55 y 5.55 mg L⁻¹ para tratar Spea bombifrons y S. multiplicata renacuajos, respectivamente, a las 48 h. Sin embargo, en la rana hylid simpátricaBoana pulchella, también expuesto a la GABH Liberty®, el LC₅₀ encontrado fue considerablemente mayor (21.47 mg L⁻¹ a las 48 h) (Peltzer et al., 2013). Un valor similar (LC₅₀ = 24.9 mg L⁻¹ a las 96 h) fue informado por Babalola y van Wyk (2018) por Xenopus laevis renacuajos expuestos al GABH Basta® (Bayer Crop Science). El intra o interespecificofic La variabilidad tóxica de los herbicidas es un fenómeno bien conocido que se observa en los anfibios (p. ej., Holcombe y col., 1987; Howe et al., 2004; Jones y col., 2009; Lajmanovich et al., 2010).

Las sinergias entre los PM y los plaguicidas representan una amenaza asombrosa para los organismos acuáticos en todo el mundo, porque pueden exacerbar potencialmente la toxicidad de varios contaminantes en las aguas superficiales (Zocchi y Sommaruga, 2019). Agathokleous et al. (2021) destacó que el estudio de las interacciones contaminantes puede contribuir a una mejor comprensión y predicción de los efectos de los PM, teniendo en cuenta que los organismos están expuestos a múltiples factores estresantes en el medio ambiente. Los parlamentarios podrían interactuar con otros factores ambientales estresantes (pesticidas, metales pesados y varios elementos tóxicos) y exacerbar el declive de los anfibios (Boyero et al., 2020). Es importante señalar que la concentración de PEMP probada en el presente estudio (60 mg L⁻¹) no es letal para *Scinax acuminatus* renacuajos después de una corta exposición (48 h). Araújo y Malafaia (2020) también usó una concentración de PEMP de 60 mg L⁻¹ para simular una condición de contaminación realista para renacuajos de anfibios neotropicales (*Physalaemus cuvieri*) a los 7 días de ensayo experimental, e informó que, al final de la exposición a PEMP, los renacuajos tratados mostraron alteraciones de la locomoción, comportamientos similares a la ansiedad y respuesta anti-depredadora deficitarias. En nuestro caso, basado en nuestro LC₅₀ Resultados, ambas formulaciones de herbicidas en mezcla con PEMP fueron más ecotóxicas que individualmente y más tóxicas a los 24 años que a los 48 h. De hecho, a las 24 h, el LC₅₀ Los valores de la mezcla GABH + PEMP fueron estadísticamente significativos si no puedo respetar a los del tratamiento GABH. Para esta mezcla, LOEC y NOEC disminuyeron al 50% a las 24 h en comparación con el tratamiento con GABH. Varios autores han informado que los MP, especialmente las partículas de PE, aumentan la toxicidad de los plaguicidas (p. Ej., Garrido et al., 2019; Bellas y Gil, 2020), lo que puede explicar la LC inferior a los valores obtenidos en este estudio para las mezclas. Es más, Zocchi y Sommaruga (2019) reveló que los MP modifican la toxicidad de GLY, aumentando la mortalidad de *Daphnia magna* expuestos a la formulación Roundup® y dos MP diferentes (microperlas y tereftalato de PE o poliamida fibras). Según estos autores, la toxicidad de GBH causada por MP puede estar relacionada con las diferentes propiedades de sorción de las formulaciones químicas basadas en GLY.

En cuanto a los efectos subletales, es importante evaluar la respuesta del organismo a bajas concentraciones de plaguicidas, ya que pueden inducir efectos deletéreos en individuos. fitness y alterar la supervivencia de los renacuajos de anfibios y adultos (Svartz et al., 2016). A pesar de las diferencias en toxicidad basada en LC₅₀, los efectos subletales basados en actividades enzimáticas fueron bastante similares en los tratamientos con los herbicidas individuales. Los dos herbicidas redujeron la actividad de AChE de los renacuajos, siendo pronunciada en todas las concentraciones de GBH y solo en la concentración más alta de GABH, lo que indica una mayor respuesta al efecto de GBH. Tanto la exposición a GBH como a GABH aumentaron la actividad de GST solo en las concentraciones más altas evaluadas. De acuerdo, varias investigaciones han informado resultados similares en larvas de anuros y otros organismos expuestos a los mismos herbicidas (p. Ej., Lajmanovich et al., 2011, 2019; Takano y Dayan, 2020). En términos puramente químicos, GLY y GA son herbicidas organofosforados que contienen carbono y fósforo, lo que indica que podrían inhibir las colinesterasas. En base a esto, en 2011, tanto nuestro grupo (Lajmanovich et al., 2011) y el de Ruamthum y col. (2011) fueron los primeros para documentar los efectos de GBH sobre la actividad de AChE en renacuajos de anfibios. Además, informamos que las concentraciones subletales de GABH inhibieron la actividad de AChE en *B. pulchella* renacuajos (Peltzer et al., 2013). Dicha inhibición de la actividad de AChE por exposición a GBH y GABH refuerza la toxicidad potencial de dichos herbicidas para las poblaciones de anfibios y otras comunidades de estanques que rodean los cultivos donde estos herbicidas se usan masivamente (Lajmanovich et al., 2014). En general, nuestros resultados actuales mostraron que la mezcla de GABH + PEMP disminuyó las actividades de AChE y CbE en comparación con los tratamientos con el herbicida solo. Dado que se sabe que CbE y otras varias hidrolasas degradan los polímeros sintéticos (por ejemplo, PE, polipropileno, poliestireno, cloruro de polivinilo y otros) (Kawai et al., 2019), esto probablemente explica la evidente disminución de la actividad CbE en el tratamiento con PEMP (60 mg L⁻¹). Sin embargo, la actividad de CbE se inhibió solo a la concentración más alta de GABH, mientras que la actividad de AChE fue significativa. Reducido en todas las concentraciones de mezcla de GABH + PEMP. En estudios previos en pacientes tratados con GBHR. arenarum renacuajos, encontramos que las actividades de AChE y CbE estaban inhibidas

respeto a los controles (Lajmanovich et al., 2011). Hasta donde sabemos, no hay datos que respalden estos resultados y expliquen cómo estas enzimas desintoxican ambos herbicidas. En este sentido, los niveles de actividad de CbE medidos pueden explicarse en términos de resultados falsos positivos ya que no existen datos que aseguren que los herbicidas o MPs sean potentes inhibidores de CbE. Se necesitan más investigaciones para demostrar la forma en que CbE contribuye a la desintoxicación de GLY y GA individualmente o en mezcla con MP, teniendo en cuenta su interacción química.

Con respecto a la actividad de GST, GST es una enzima importante de la fase II de biotransformación, un proceso que protege a las células de los xenobióticos (p. Ej., Pesticidas) al catalizar la conjugación de una amplia variedad de sustratos electrofílicos (van der Oost y col., 2003). En el presente estudio, la actividad de GST aumentó tanto por la exposición a GBH como a GABH, pero solo a la concentración más alta evaluada. Por tanto, el aumento de la actividad de GST indica una buena defensa de los renacuajos contra los efectos tóxicos de los dos herbicidas (Lajmanovich et al., 2011; Cuzzio-Bocconi et al., 2021). La inducción de la actividad GST en el tratamiento PEMP mostró una respuesta precisa del proceso de biotransformación. Esto representa un punto clave en la fitness de los renacuajos de anfibios en su entorno natural debido al papel crucial de GST en la desintoxicación de procesos catiónicos de xenobióticos y protección contra el estrés oxidativo (p. ej. Freitas et al., 2017; Pal et al., 2018; Carvalho et al., 2020). Nuestros resultados muestran que el efecto sobre la actividad de GST se incrementó con la exposición a la mezcla de GBH + PEMP, ya que fue mayor a la concentración máxima de la mezcla que a la misma concentración de GBH solo. Estos resultados sugieren que los MP interactúan con GBH, aumentando el sistema antioxidante de los renacuajos. En general, la exposición a pesticidas y otras mezclas contaminantes aumenta la actividad de GST en condiciones de estrés oxidativo (Güngördü et al., 2016). Por ejemplo, en la almeja *Scrobicularia plana*, la actividad de GST aumenta después de la exposición a PEMP con varios contaminantes químicos adsorbidos (O'Donovan et al., 2018). Por el contrario, a las concentraciones más bajas aquí estudiadas, la mezcla de GBH + PEMP disminuyó ligeramente el efecto de GBH solo, con respecto a las actividades de GST y AChE. Esto podría indicar que la interacción de ambos compuestos a bajas concentraciones altera los procesos en los que están involucradas ambas enzimas y afecta su adecuada respuesta.

Los resultados de nuestro bioensayo demostraron una respuesta ecotoxicológica diferencial de *S. squalirostris* renacuajos a los dos herbicidas evaluados (GLY y GA) cuando se mezclaron con PEMP, lo que sugiere una gran interacción entre estos compuestos. El análisis de química computacional confirmó la interacción de los principios activos de los herbicidas con el PE. Según el análisis DFT, la alta solubilidad de la combinación herbicidas-PE puede conducir a un efecto de interacción sobre el mecanismo de toxicidad que indica una posible interacción. Asimismo, se ha informado que los PM pueden absorber y concentrar diferentes contaminantes (p. Ej., Plaguicidas) presentes en el medio ambiente (Antunes et al., 2013) y, por lo tanto, aumentan su toxicidad (por ejemplo, en un escenario de agroecosistema). Bellas y Gil (2020), por ejemplo, descubrió que los PEMP aumentaban la toxicidad del pesticida clorpirifos en los copépodos. El hecho de que las dos mezclas estudiadas en el presente trabajo tengan energía de enlace exotérmica muestra una interacción electrónica favorecida entre las interfaces, lo que posibilitó la generación de un nuevo compuesto químico. Más lejos - más, la interacción más fuerte obtenida para GA-PECOOH respecto a la moderado para GLY-PECOOH puede estar relacionado con lo estadísticamente significativo si no se puede detectar un aumento de la toxicidad a las 24 h para GABH + PEMP. Para nuestro conocimiento, este es el primer enfoque para analizar las interacciones herbicida-MP. Es importante señalar que, en nuestro estudio, usamos el término "Interacción" porque no hicimos una evaluación cuantitativa. En consecuencia, se necesitan más estudios para dilucidar la forma en que estos compuestos interactúan (sinergismo, antagonismo, otros).

Finalmente, el análisis de densidad electrónica diferencial para ambas mezclas evaluadas evidenció la acumulación de densidad electrónica entre el PECOOH marco y los grupos fosfónicos de plaguicidas. Estos resultados indican la formación de un enlace químico en la interfaz y sugieren que los sistemas de PE pueden adsorber estos herbicidas, generando puntos calientes de concentración de pesticidas que podrían ingresar a un organismo como

un nuevo contaminante. Además, las mayores energías de desorción observadas para GA-PE con respecto a GLY-PE indican que, una vez formada, es más difícil para frenar el vínculo PE con GA que con GLY. Así, la formación de un nuevo contaminante a partir de las interacciones entre plaguicidas y plásticos, que parece potenciar los efectos toxicológicos individuales, representa un gran y nuevo riesgo medioambiental, especialmente en el caso de la AG.

5. Conclusión

En general, el aumento de la ecotoxicidad y las alteraciones de los parámetros bioquímicos en *S. squalirostris* Los renacuajos expuestos a GBH y GABH en mezcla con PEMP reforzaron nuestra expectativa de que la co-ocurrencia de MP y herbicidas en cuerpos de agua representa un riesgo ecotoxicológico para los renacuajos de anfibios. Los cálculos de DFT hicieron evidente que la principal tendencia de GA a unirse al PE, lo que permite que la concentración de pesticida ingrese al organismo, aumenta drásticamente la toxicidad, como se observó en los experimentos de la mezcla GABH + PEMP. Por tanto, los PM presentes en estanques agrícolas y masas de agua contaminadas pueden aumentar la toxicidad y biodisponibilidad de los plaguicidas. Nuestros resultados demostraron la mayor afinidad y toxicidad de GA-PE en comparación con los de GLY-PE. Debido al aumento exponencial de la evidencia de los efectos negativos en la vida silvestre de herbicidas como GLY y GA, que se utilizan con frecuencia en cultivos transgénicos, y los modelos agrícolas de ecocidio que se dispersan en todo el mundo, es imperativo aplicar requisitos reglamentarios y principios de precaución más estrictos en el uso de GBH y GABH. También recomendamos la disminución urgente en el uso de materiales plásticos en la agricultura (por ejemplo, bolsas de silos) y la implementación de más sistemas de reciclaje estrictos y obligatorios para la mitigación de estos productos (fuente potencial de contaminación por MP) mediante el uso de políticas innovadoras y estrategias de concienciación ambiental entre los agricultores. Finalmente, destacamos la importancia de abordar un cambio en el modelo productivo a través de la compensación socioeconómica. Urge transformar el actual modelo agroindustrial basado en el uso de herbicidas como GLY y GA para cultivos transgénicos, que genera miles de toneladas de granos que se acumulan debido a especulación financiera en silo-sacos plásticos, en un modelo agroecológico que salvaguarde la salud de los ecosistemas.

Declaración de contribución de autoría de CREDIT

Rafael C. Lajmanovich: Metodología, Investigación, Análisis formales, Redacción - borrador original. Andrés M. Attademo: Análisis formal, investigación, redacción: revisión y edición. Alemán Lener: Metodología, Análisis formal, Redacción. Ana P. Cuzziol Boccioni: Investigación, Análisis formales, Redacción - borrador original. Paola M. Peltzer: Análisis formal, investigación, redacción: revisión y edición. Candela S. Martinuzzi: Metodología. Luisina D. Demonte: Análisis químicos. María R. Repetti: Análisis y redacción de productos químicos: revisión y edición.

Declaración de intereses en competencia

Los autores declaran que no tienen conocimiento de competidores ni intereses económicos o relaciones personales que podrían haber influido en el trabajo informado en este documento.

Agradecimientos

Este estudio fue apoyado en parte por la Agencia Nacional para la Promoción de la Ciencia y la Tecnología (ANPCyT FONCYT PICT, 2018 No. 3293; y 1069), y el Curso de Acción para la Investigación y Promoción de la Ciencia (CAI + D-UNL, PIC No. 50620190100036LI), Argentina. Este trabajo utilizó el Clúster Eulogia de CCAD-UNC, que es parte de SNCADMINcyT, Argentina. Agradecemos especialmente a Carlos Gálvez por brindarnos desinteresadamente las formulaciones comerciales de herbicidas utilizados en este estudio. También agradecemos a María Victoria González Eusevi (Scientific

English Service) para la revisión del manuscrito y la corrección de errores gramaticales y ortográficos.

Apéndice A. Datos complementarios

Se pueden encontrar datos complementarios a este artículo en línea en <https://doi.org/10.1016/j.jsctotenv.2021.150177>.

Referencias

- Agathokleous, E., Iavicoli, I., Barceló, D., Calabrese, E.J., 2021. Efectos de micro / nanoplasticos en organismos: una revisión centrada en "dosis". *J. Hazard. Mater.* 12, 6084. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126084>.
- Ahmed, A.A., Leinweber, P., Kühn, O., 2018. Desentrañar la naturaleza de la unión del glifosato para superficies de goetita mediante: simulaciones de dinámica ab initio molecular. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 20 de diciembre de 1531-1539. <https://doi.org/10.1039/c7cp06245a>.
- Akdogan, Z., Guven, B., 2019. Microplásticos en el medio ambiente: una revisión crítica de la alquiler entendimiento e identificación de futuras necesidades de investigación. *Reinar. Pollut.* 254, 113011. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113011>.
- Almeida, VES, Friedrich, K., Tygel, AF, Melgarejo, L., Carneiro, FF, 2017. Uso de genéticamente modificados y plaguicidas en Brasil: peligros crecientes. *Cien. Saude Colet.* 22 (10), 3333-3339. <https://doi.org/10.1590/1413-812320172210.17112017>.
- Anbumani, S., Kakkar, P., 2018. Efectos ecotoxicológicos de los microplásticos en la biota: una revisión. *Reinar. Sci. Pollut. Res. En t.* 25 (15), 14373-14396. <https://doi.org/10.1007/s11356018-1999-x>.
- Antunes, J.C., Frias, J.G.L., Micaelo, A.C., Sobral, P., 2013. Pellets de resina de playas del Costa portuguesa y contaminantes orgánicos persistentes adsorbidos. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 130, 62e69. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2013.06.016>.
- APHA, 1989. Métodos estándar para el análisis de agua y aguas residuales. 17ª ed. Asociación Estadounidense de Salud Pública, Washington DC.
- Araújo, APDC, Malafaia, G., 2020. Puede acortar la exposición a microplásticos de polietileno cambiar el comportamiento de los renacuajos? Estudio realizado con especies neotropicales de renacuajos pertenecientes al orden anura (*Physalaemus cuvieri*). *J. Hazard. Mater.* 391, 122214. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122214>.
- Araújo, APDC, de Melo, NFS, de Oliveira Jr., AG, Rodrigues, FP, Fernandes, T., de Andrade-Vieira, JE, Rocha, TL, Malafaia, G., 2020. ¿Cuánto son los microplásticos dañinos para la salud de los anfibios? Un estudio con microplásticos de polietileno prístino y *Physalaemus cuvieri*. *J. Hazard. Mater.* 382, 121066. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121066>.
- ArgenBio ©, 2021. Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología. Cultivos transgénicos aprobados en Argentina. Disponible en <http://www.argenbio.org/cultivos-transgenicos> (Consultado el 3 de marzo de 2021).
- ASIH, 2004. Sociedad Estadounidense de Ictiólogos y Herpetólogos. Directrices para el uso de Anfibios y reptiles vivos en investigación de campo y laboratorio. segunda ed. Comité de Uso y Cuidado de Animales Herpetológicos (HACC) de la Sociedad Estadounidense de Ictiólogos y Herpetólogos, Washington DC
- ASTM, 2007. Guía estándar para la realización de pruebas de toxicidad aguda con fiella es, macroinvertebrates y anfibios. Efectos biológicos y destino ambiental, ASTM E, Pensilvania.
- Attademo, AM, Lajmanovich, RC, Peltzer, PM, Junges, CM, 2016. Toxicidad aguda de met-aldehído en el orujo de caracol de arroz invasor *ancaliculata* y efectos subletales en renacuajos de una especie no objetivo (*Rhinella arenarum*). *Contaminación del suelo del aire del agua.* 227 (11), 400. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3083-9>.
- Attademo, AM, Lajmanovich, RC, Peltzer, P., Cuzziol Boccioni, AP, Martinuzzi, C., Simonio, F., Repetti, MR, 2021. Efectos del emulsifil herbicida capaz Dicamba en renacuajos de anfibios: ¿un riesgo de toxicidad subestimado? *Reinar. Sci. Pollut. Res.* <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13000-x>.
- Áy, Z., Mihály, R., Cserhádi, M., Kótai, É., Pauk, J., 2012. El efecto de altas concentraciones de glufosinato de amonio en los componentes del rendimiento del trigo de primavera transgénico (*Triticum aestivum* L.) que expresan constitutivamente el gen bar. *Sci. Mundo J.* 657945. <https://doi.org/10.1100/2012/657945> (2012).
- Ayala, F., Fedrigo, G.V., Burachik, M., Miranda, P.V., 2019. Equivalencia composicional de evento IND-00412-7 al trigo no transgénico. *Res. Transgénica* 28 (2), 165-176. <https://doi.org/10.1007/s11248-019-00111-y>.
- Babalola, O.O., van Wyk, J.H., 2018. Toxicidad comparativa en etapas tempranas de la vida de las garras africanas frog, *X. laevis* tras la exposición a formulaciones herbicidas seleccionadas aplicadas para erradicar plantas exóticas en Sudáfrica. *Arco. Reinar. Contam. Toxicol.* 75 (2015), 8-diciésis. <https://doi.org/10.1007/s00244-017-0463-0>.
- Babalola, O.O., Truter, J.C., Van Wyk, J.H., 2020a. Impactos letales y teratogénicos de formulaciones de herbicidas de imazapyr, dibromuro de diquat y glufosinato de amonio utilizando el ensayo de teratogénesis de embrión de rana-xenopus (*FETAX*). *Arco. Reinar. Contam. Toxicol.* 80 (4), 708-716. <https://doi.org/10.1007/s00244-020-00756-5>.
- Babalola, O.O., Truter, J.C., Archer, E., van Wyk, J.H., 2020b. Impactos de exposición del medio ambiente concentraciones mentalmente relevantes de una formulación de herbicida de glufosinato de amonio sobre el desarrollo larvario y la histología tiroidea de *Xenopus laevis*. *Arco. Reinar. Contam. Toxicol.* <https://doi.org/10.1007/s00244-020-00758-3>.
- Bach, N.C., Natale, G.S., Somoza, G.M., Ronco, A.E., 2016. Efecto sobre el crecimiento y desarrollo mento e inducción de anomalías por una formulación comercial de glifosato y su ingrediente activo durante dos etapas de desarrollo de la rana criolla sudamericana, *Leptodactylus latrans*. *Reinar. Sci. Pollut. Res. En t.* 23, 23959-23971. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7631-z>.

- Bandopadhyay, S., Martín-Closas, L., Pelacho, AM, DeBruyn, JM, 2018. Biodegradable mantillo de plástico films: impactos sobre las comunidades microbianas del suelo y las funciones de los ecosistemas. *Parte delantera. Microbiol.* 9, 819. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00819>.
- Bao, LJ, You, J., Zeng, EY, 2011. Sorción de PBDE en polietileno de baja densidad film: aplicaciones para la biodisponibilidad de BDE-209. *Reinar. Toxicol. Chem.* 30 de diciembre de 1731-1738. <https://doi.org/10.1002/etc.564>.
- Bartosik, R., 2012. Una mirada al interior del sistema silo-bag. En: Navarro, S., Banks, HJ, Jayas, DS, Bell, CH, Noyes, RT, Ferizli, AG, Emekci, M., Isikber, AA, Alagusundaram, K. (Eds.), *Proc 9th. En t. Conf. sobre atmósfera controlada y fumigación en productos almacenados, Antalya, Turquía, págs.117-128.*
- Bellas, J., Gil, I., 2020. Los microplásticos de polietileno aumentan la toxicidad del clorpirifos para el copépodo marino *Acartia tonsa*. *Reinar. Pollut.* 260, 114059. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114059>.
- Belzunces, B., Hoyau, S., Bessac, F., 2019. Interacción de metamitron y fenhexamid con Ca 2-superficies de arcilla de montmorillonita: un estudio de la dinámica molecular de la teoría funcional de la densidad. *J. Comput. Chem.* 40, 1449-1462. <https://doi.org/10.1002/jcc.25799>.
- Bergbreiter, DE, 1994. Química de superficies de polietileno. *Prog. Polym. Sci.* 19, 529-560. [https://doi.org/10.1016/0079-6700\(94\)90004-3](https://doi.org/10.1016/0079-6700(94)90004-3).
- Berger, G., Graef, F., Pallut, B., Hoffmann, J., Brühl, CA, Wagner, N., 2018. ¿Cómo cambia el uso de pesticidas a lo largo del tiempo afecta a los anfibios migratorios: un estudio de caso sobre el uso de herbicidas a base de glifosato en la agricultura alemana durante 20 años. *Parte delantera. Reinar. Sci.* 6, 6.
- Bhagat, J., Nishimura, N., Shimada, Y., 2021. Interacciones toxicológicas de los microplásticos / nanoplasticos y contaminantes ambientales: conocimientos actuales y perspectivas de futuro. *J. Hazard. Mater.* 5 (405), 123913. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123913>.
- Bishop, CA, Mahony, NA, Struger, J., Ng, P., Pettit, KE, 1999. Desarrollo anuro, densidad y diversidad en relación con la actividad agrícola en la cuenca del río Holland, Ontario, Canadá (1990-1992). *Reinar. Monit. Evaluar.* 57, 21-43.
- Blettler, MCM, Ulla, MA, Rabuffetti, AP, Garello, N., 2017. Contaminación plástica en agua dulce ecosistemas: desechos macro, meso y microplásticos en un filago oodplain. *Reinar. Monit. Evaluar.* 189 (11), 581. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6305-8>.
- Blettler, MCM, Garello, N., Ginon, L., Abrial, E., Espinola, LA, Wantzen, KM, 2019. Mas-contaminación plástica siva en un mega-río de un país en desarrollo: deposición e ingestión de sedimentos por fish (*Prochilodus lineatus*). *Reinar. Pollut.* 255 (Parte 3), 113348. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113348>.
- Boyer, L., López-Rojo, N., Bosch, J., Alonso, A., Correa-Araneda, F., Pérez, J., 2020. Los microplásticos perjudican la supervivencia, la condición corporal y la función de los anfibios. *Quimiosfera* 244, 125500. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125500>.
- Brodhagen, M., Goldberger, JR, Hayes, DG, Inglis, DA, Marsh, TL, Miles, C., 2017. Política Consideraciones para limitar el plástico residual no intencionado en suelos agrícolas. *Reinar. Sci. Pol.* 69, 81-84. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2016.12.014>.
- Bunyan, PJ, Jennings, DM, 1968. *Intoxicación con organofosforados; algunas propiedades del avion esterasa. J. Agric. Food Chem.* 16, 326-331.
- Carvalho, CDS, Moraes-Utsunomiya, HS, Pasquato-Stigliani, T., Costa, MJ, Fernandes, MN, 2020. Biomarcadores del estrés oxidativo y neurotoxicidad en tejidos de la rana toro, *Lithobates catesbeianus* para evaluar la exposición a metales. *Ecotoxicol. Reinar. Saf.* 2020 (196), 110560. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110560>.
- Casini, C., Santa Juliana, M., Audicio, S., 2014. Estudio del almacenamiento de granos en bolsas plásticas Para pequeños agricultores. en: *almacenamiento de granos en silo bolsa. Resultados Investig.* 2009-2013, 329-340.
- Chua, EM, Shimeta, J., Nugegoda, D., Morrison, PD, Clarke, BO, 2014. Asimilación de éteres de difenilo polibromados de microplásticos por el anfípodo marino, *allorchestescorpressa*. *Reinar. Sci. Technol.* 48, 8127-8134. <https://doi.org/10.1021/acs.405717z>.
- Cole, M., Lindeque, P., Fileman, E., Halsband, C., Goodhead, R., Moger, J., Galloway, TS, 2013. Ingestión de microplásticos por zooplancton. *Reinar. Sci. Technol.* 47, 6646-6655.
- Cole, M., Lindeque, PK, Fileman, E., Clark, J., Lewis, C., Halsband, C., Galloway, TS, 2016. Microplásticos Altera las propiedades y la velocidad de hundimiento de los gránulos fecales de zooplancton. *Reinar. Sci. Technol.* 50, 3239-3246. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05905>.
- Costa, FR, Rech, R., Duke, SO, Carvalho, LB, 2018. Falta de efectos del glifosato y glufosinato sobre el crecimiento, contenido mineral y rendimiento de maíz resistente al glifosato y glufosinato. *Alimentos para cultivos transgénicos* 9 (4), 189-198. <https://doi.org/10.1080/21645698.2018.1511204>.
- Cuzzoli-Boccioni, AP, Lajmanovich, RC, Peltzer, PM, Attademo, AM, Martinuzzi, CS, 2021. Evaluación de la toxicidad en diferentes escenarios experimentales con glifosato, clorpirifos y antibióticos en renacuajos de *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae). *Chemosphere* 273, 128475. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128475>.
- Demonte, LD, Michlig, N., Gaggiotti, M., Adam, CG, Beldoménico, HR, Repetti, MR, 2018. Determinación de glifosato, AMPA y glufosinato en agua de granja lechera de Argentina mediante un simplified método UHPLC-MS / MS. *Sci. Entorno total.* 645, 34-43. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.340>.
- Dinehart, SK, Smith, LM, McMurry, ST, Smith, PN, Anderson, TA, Haukos, DA, 2010. La toxicidad aguda y crónica del roundup weather max y enciende 280 SL a las larvas *Spea multiplicata* y *S. bombifrons* del sur de High Plains de EE. UU. *Reinar. Pollut.* 158, 2610-2617. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.05.006>.
- Efsa, 2018. Scientific dictamen sobre el estado de la ciencia sobre la evaluación del riesgo de plaguicidas para anfibios y reptiles. *EFSA J.* 16, 5125. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5125>.
- Egea-Serrano, A., Relyea, RA, Tejado, M., Torralva, M., 2012. Entender el impacto de productos químicos en anfibios: una revisión metaanalítica. *Ecol. Evol.* 2 (7), 1382-1397.
- Ellman, GL, Courtney, KD, Andres Jr., V., Featherstone, RM, 1961. Una nueva y rápida determinación orimétrica de la actividad acetilcolinesterasa. *Biochem. Pharmacol.* 7 (2), 88-95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).
- Freitas, JS, Felicio, AA, Teresa, FB, Alves de Almeida, E., 2017. Efectos combinados de temperatura peratura y clomazona (Gamit®) sobre las respuestas al estrés oxidativo y la actividad de la B-esterasa de *Physalaemus nattereri* (Leiupeidae) y *Rhinella schneideri* (Bufonidae) renacuajos. *Chemosphere* 185, 548-562. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.061>.
- Garrido, S., Linares, M., Campillo, JA, Albentosa, M., 2019. Efecto de los microplásticos en la toxicidad del clorpirifos para las microalgas *Isochrysis galbana*, clon t-ISO. *Ecotoxicol. Reinar. Saf.* 173, 103-109. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.020>.
- Gosner, KL, 1960. Un simplifitabla para la estadiación de embriones y larvas de anuros con notas sobre identificación. *Herpetologica* 16, 183-190.
- Güngördü, A., Uçkun, M., Yologlu, E., 2016. Evaluación integrada de marcadores bioquímicos en renacuajos premetamórficos de tres especies de anfibios expuestos a pesticidas a base de glifosato y metidatión en formas simples y combinadas. *Chemosphere* 144, 2024-2035. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.125>.
- Haddous, M., Vincent-Viry, M., Visvikis, S., Siest, G., 2002. Espectrofotometría rápida método para la actividad de las glutatión S-transferasas en suero. *Clin. Chim. Acta* 326 (1-2), 131-142. [https://doi.org/10.1016/S0009-8981\(02\)00329-7](https://doi.org/10.1016/S0009-8981(02)00329-7).
- Habig, WH, Pabst, MJ, Jakoby, WB, 1974. El glutatión S-transferasa el fiprimer enzimático paso en la formación de ácido mercaptúrico. *En t. J. Biol. Chem.* 249 (22), 7130-7139.
- Hakkara, M., Albertsson, AC, 2004. Degradación ambiental del polietileno. *Adv. Polym. Sci.* 169, 177-199. <https://doi.org/10.1007/b13523>.
- Hamilton, MA, Russo, RC, Thurston, RV, 1977. Método spearman-karber recortado para Estimación de concentraciones letales medias en bioensayos de toxicidad. *Reinar. Sci. Technol.* 11 (7), 1-719. <https://doi.org/10.1021/es60130a004>.
- Herek, JS, Vargas, L., RinasTrindade, SA, Rutkoski, CF, Macagnan, N., Hartmann, PA, Hartmann, MT, 2021. Efectos genotóxicos del glifosato en renacuajos de *Physalaemus*. *Reinar. Toxicol. Pharmacol.* 81, 103516. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103516>.
- Holcombe, GW, Phipps, GL, Sulaiman, AH, Hoffman, AD, 1987. Múltiples simultáneos pruebas de especies: toxicidad aguda de 13 sustancias químicas para 12 anfibios de agua dulce diversos, fípeces y familias de invertebrados. *Arco. Reinar. Contam. Toxicol.* 16 (6), 697-710. <https://doi.org/10.1007/BF01055420>.
- Howe, CM, Berrill, M., Pauli, BD, Helbing, CC, Werry, K., Veldhoen, N., 2004. Toxicidad de pesticidas a base de glifosato a cuatro especies de ranas de América del Norte. *Reinar. Toxicol. Chem.* 23 (8), 1928-1938. <https://doi.org/10.1897/03-71>.
- Hu, L., Su, L., Xue, Y., Mu, J., Zhu, J., Xu, J., Shi, H., 2016. Captación, acumulación y eliminación de microsferas de poliestireno en renacuajos de *Xenopus tropicalis*. *Quimiosfera* 164, 611-617. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.002>.
- Hu, L., Chernick, M., Hinton, DE, Shi, H., 2018. Microplásticos en pequeños cuerpos de agua y renacuajos del delta del río Yangtze, China. *Reinar. Sci. Technol.* 52 (15), 8885-8893.
- Hüffer, T., Metzelder, F., Sigmund, G., Slawek, S., Schmidt, TC, Hofmann, T., 2019. Polyeth-microplásticos de ylene enfluyen en el transporte de contaminantes orgánicos en el suelo. *Sci. Entorno total.* 657, 242-247. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.047>.
- Jibrin, MO, Liu, Q., Jones, JB, Zhang, S., 2001. Surfactantes en el manejo de enfermedades de las plantas: a breve reseña y estudios de casos. *Plant Pathol.* 70, 495-510. <https://doi.org/10.1111/ppa.13318>.
- Jones, DK, Hammond, JJ, Relyea, RA, 2009. Efectos muy altamente tóxicos del endosulfán en nueve especies de renacuajos: efectos de retraso y sensibilidad a nivel familiar. *Reinar. Toxicol. Chem.* 28 de octubre de 1939-1945. <https://doi.org/10.1897/09-033-1>.
- Kawai, F., Kawabata, T., Oda, M., 2019. Conocimientos actuales sobre la degradación enzimática del PET y su posible aplicación a la gestión de corrientes de residuos y otras finzas. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 103 (11), 4253-4268. <https://doi.org/10.1007/s00253-01909717-y>.
- Kingsley, GR, 1942. El método biuret directo para la determinación de proteínas séricas como aplicado a la colorimetría fotoeléctrica y visual. *J. Lab. Clin. Medicina.* 27, 840-845.
- Kokalj, A., 2003. Gráficos por computadora e interfaces gráficas de usuario como herramientas en simulaciones de materia a escala atómica. *Computación. Mater. Sci.* 28, 155-168. [https://doi.org/10.1016/S0927-0256\(03\)00104-6](https://doi.org/10.1016/S0927-0256(03)00104-6).
- Lajmanovich, RC, Sandoval, MT, Peltzer, PM, 2003. Inducción de mortalidad y malformaciones mación en renacuajos de *Scinax nasicus* expuestos a formulaciones de glifosato. *Toro. Reinar. Contam. Toxicol.* 70 (3), 612-618. <https://doi.org/10.1007/s00128-003-0029-x>.
- Lajmanovich, RC, Peltzer, PM, Junges, CM, Attademo, AM, Sánchez, LC, Basso, A., 2010. Niveles de actividad de B-esterasas en los renacuajos de 11 especies de ranas en el medio río Paraná floodplain: implicación para la evaluación del riesgo ecológico de los cultivos de soja. *Ecotoxicol. Reinar. Saf.* 73, 1517-1524. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.07.047>.
- Lajmanovich, RC, Attademo, AM, Peltzer, PM, Junges, CM, Cabagna, MC, 2011. Toxic-de cuatro formulaciones de herbicidas con glifosato en renacuajos de *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae): b-esterasas e inhibidores de glutatión S-transferasa. *Arco. Reinar. Contam. Toxicol.* 60 (4), 681-689. <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9578-2>.
- Lajmanovich, RC, Cabagna-Zenklusen, MC, Attademo, AM, Junges, CM, Peltzer, PM, Bassó, A., Lorenzatti, E., 2014. Inducción de micronúcleos y anomalías nucleares en renacuajos del sapo común (*Rhinella arenarum*) tratados con los herbicidas Liberty® y glufosinato de amonio. *Mutat. Res. Gineta. Toxicol. Reinar. Mutageno.* 769, 7-12. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.04.009>.
- Lajmanovich, RC, Peltzer, PM, Attademo, AM, Martinuzzi, CS, Simonelli, MF, Colussi, CL, Cuzzoli-Boccioni, AP, Sigris, M., 2019. Primera evaluación de nuevos efectos sinérgicos potenciales de la mezcla de glifosato y arsénico en renacuajos de *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae). *Heliyon* 5 (10), e02601. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019. e02601>.
- Lambert, S., Wagner, M., 2016. Formación de partículas microscópicas durante la degradación de diferentes polímeros. *Quimiosfera* 161, 510-517. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.042>.
- Lener, G., Véliz, P., Leiva, EPM, Moyano, EL, Carbonio, RE, 2016. Adsorción química de fenacil-1,2,3-benzotriazol sobre superficies de esquelita AMO4 (010). estructura y propiedades electrónicas. *Computación. Theor. Chem.* 1090, 120-128. <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2016.06.007>.
- Liu, B., Fan, Y., Zhao, H., Luo, S., Wang, H., Guan, B., Li, Q., Yue, J., Dong, Z., Wang, Y., Jiang, L., 2021. Controlar todo el recorrido de la aplicación de plaguicidas en plantas superhidrofóbicas.

- superficie por coacervación dinámica de tensioactivo trimérico covalente. *Adv. Funct. Mater.* <https://doi.org/10.1002/adfm.202006606> (SI 16.836).
- Mann, MM, Bidwell, JR, 1999. La toxicidad del glifosato y varias fórmulas de glifosato laciones a cuatro especies de ranas australianas del sudoeste. *Arco. Reinar. Contam. Toxicol.* 36 (2), 193-199. <https://doi.org/10.1007/s002449900460>.
- Mann, RM, Hyne, RV, Choung, CB, Wilson, SP, 2009. Anfibios y agrícolas productos químicos: revisión de los riesgos en un entorno complejo. *Reinar. Pollut.* 157, 2903-2927.
- Mikó, Z., Ujszegi, J., Gál, Z., Hettyey, A., 2017. Efectos de un herbicida a base de glifosato y amenaza de depredación en el comportamiento de los ágiles renacuajos de rana. *Ecotoxicol. Reinar. Saf.* 140, 96-102. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.02.032>.
- Milesi, MM, Lorenz, V., Durando, M., Rossetti, MF, Varayoud, J., 2021. Glyphosate herbicid: resultados reproductivos y efectos multigeneracionales. *Parte delantera. Endocrinol. (Lausana)* 12, 672532. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.672532>.
- Mitchell, C., Quaglino, MC, Posner, VM, Arranz, SE, Sciara, AA, 2021. Cuantificación y análisis de la composición de la contaminación plástica en las playas fluviales del bajo río Paraná, Argentina. *Reinar. Sci. Pollut. Res. En t.* 28 (13), 16140-16151. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11686-z>.
- NematdoostHaghi, B., Banaee, M., 2017. Efectos de las partículas de microplástico en la toxina del paraquat. *icidad a la carpa común (Cyprinus carpio): cambios bioquímicos. En t. J. Environ. Sci. Technol.* 14, 521-530. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1171-4>.
- Ng, EL, Huerta Lwanga, E., Eldridge, SM, Johnston, P., Hu, HW, Geissen, V., Chen, D., 2018. Una visión general de la contaminación por microplásticos y nanoplásticos en agroecosistemas. *Sci. Entorno total.* 627, 1377-1388. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.341>.
- O'Donovan, S., Mestre, NC, Abel, S., Fonseca, TG, Carteny, CC, Cormier, B., Keiter, SH, Bebianno, MJ, 2018. Efectos ecotoxicológicos de contaminantes químicos adsorbidos a microplásticos en la almeja *Scrobicularia plana*. *Parte delantera. Mar. Sci.* 5, 143.
- Pal, S., Samanta, P., Kole, D., Mukherjee, AK, Ghosh, AR, 2018. Toxicidad aguda y oxidación tivas respuestas de estrés en renacuajo de rana deslizando, *euphytiscyanophlyctis* (Schneider, 1799) al sodio flExposición a fluoruros. *Toro. Reinar. Contam. Toxicol.* 100 (2), 202-207. <https://doi.org/10.1007/s00128-017-2264-6>.
- Peltzer, PM, Lajmanovich, RC, 2007. Anfibios. En: *Iriondo, MH, Paggi, JC, Parma, MJ* (Eds.), *El río Paraná medio: Limnología de un humedal subtropical*. Springer, Berlín Heidelberg Nueva York, págs. 327-340.
- Peltzer, PM, Lajmanovich, RC, Attademo, AM, Beltzer, AH, 2006. Diversidad de anuros a través de estanques agrícolas en Argentina. *Biodiver. Conserv.* 15, 3499-3513. <https://doi.org/10.1007/s10531-004-2940-9>.
- Peltzer, PM, Junges, CM, Attademo, AM, Bassó, A., Grenón, P., Lajmanovich, RC, 2013. Actividades de la colinesterasa y cambios de comportamiento en renacuajos de *Hypsiboas pulchellus* (Anura: Hylidae) expuestos al herbicida glufosinato de amonio. *Ecotoxicología* 22 (7), 1165-1173. <https://doi.org/10.1007/s10646-013-1103-8>.
- Peltzer, P., Lajmanovich, RC, Martinuzzi, CS, Attademo, AM, Curi, L., Sandoval, M., 2019. Biotoxicidad del diclofenaco en dos larvas de anfibios: evaluación del desarrollo, crecimiento, función y ritmo cardíaco, comportamiento y sistema antioxidante. *Sci. Entorno total.* 683, 624-637. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.275>.
- Pengue, WA, 2005. Cultivos transgénicos en Argentina: la deuda ecológica y social. *Toro. Sci. Technol. Soc.* 25, 314-322. <https://doi.org/10.1177/0270467605277290>.
- Perdew, JP, Burke, K., Ernrzerhof, M., 1996. Aproximación de gradiente generalizada realizada sencillo. *Phys. Rev. Lett.* 77, 3865-3868. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.77.3865>.
- Raman, R., 2017. El impacto de genéticamente modificulivos ed (GM) en la agricultura moderna: un revisión. *Alimentos para cultivos transgénicos* 8 (4), 195-208. <https://doi.org/10.1080/21645698.2017.1413522>.
- Relyea, RA, Jones, DK, 2009. La toxicidad del roundup original max para 13 especies de larvas anfibios. *Reinar. Toxicol. Chem.* 28 (9), 2004-2008. <https://doi.org/10.1897/09-021.1>.
- Riño, C., Ortiz-Ruiz, M., Pinto-Sánchez, NR, Gómez-Ramírez, E., 2020. Efecto de glifosato (Roundup Active®) en hígado de renacuajos de la rana endémica colombiana *Dendropsophus molitor* (amphibia: Anura). *Chemosphere* 250, 126287. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126287>.
- Rodríguez-Seijo, A., Santos, B., Ferreira Da Silva, E., Cachada, A., Pereira, R., 2019. Low-microplásticos de polietileno de densidad como fuente y portadores de agroquímicos para el suelo y las lombrices de tierra. *Reinar. Chem.* 16, 8-17. <https://doi.org/10.1071/EN18162>.
- Ruamthum, W., Vetsen, S., Milne, JR, Bullangpoti, V., 2011. Efecto de la base de glifosato herbicida sobre la actividad acetilcolinesterasa en renacuajos, *Hoplobatrachus rugulosus*. *Comun. Agric. Apl. Biol. Sci.* 76 (4), 923-930.
- Sang, Y., Mejuto, JC, Xiao, J., Simal-Gandara, J., 2021. Evaluación del impacto del glifosato en el ecosistema agroalimentario. *Plantas (Basilea, Suiza)* 10 (2), 405. <https://doi.org/10.3390/plantas10020405>.
- Screpanti, C., Accinelli, C., 2005. *Escorrentía de glifosato y glufosinato de amonio de una zona de cultivo de maíz en Italia.* *Agron. Sostener. Dev.* 25, 407-412.
- Scursioni, JA, Vera, ACD, Oreja, FH, Kruk, BC, de la Fuente, EB, 2019. Manejo de malezas prácticas de cultivo en cultivos de Argentina. *Weed Technol.* 33, 459-463. <https://doi.org/10.1017/humedo.2019.26>.
- Seidensticker, S., Grathwohl, P., Lamprecht, J., Zarfl, C., 2018. Un estudio combinado experimental y de modelado para evaluar la sorción dependiente del pH de compuestos polares y no polares en microplásticos de polietileno y poliestireno. *Reinar. Sci. EUR.* 30, 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0155-z>.
- Serrano-Ruiz, H., Martin-Closas, L., Pelacho, AM, 2021. Coberturas plásticas biodegradables: impacto en el medio ambiente agrícola biótico. *Sci. Entorno total.* 750, 141228. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141228>.
- Soler, JM, Artacho, E., Gale, JD, García, A., Junquera, J., Ordejón, P., Sánchez-Portal, D., 2002. El método SIESTA para la simulación ab initio order-Nmaterials. *J. Phys. Condens. Materia* 14, 2745-2779. <https://doi.org/10.1088/0953-8984/14/11/302>.
- Song, Y., Cao, C., Qiu, R., Hu, J., Liu, M., Lu, S., Shi, H., Raley-Susman, KM, He, D., 2019. Arribatoma y los efectos adversos de los microplásticos de tereftalato de polietileno en caracoles terrestres (*Achatina fulica*) después de la exposición al suelo. *Reinar. Pollut.* 250, 447-455. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.066>.
- Stathi, P., Christoforidis, KC, Tsipis, A., Hela, DG, Deligiannakis, Y., 2006. Efectos de la dis-carboxilatos y carbonatos resueltos sobre las propiedades de adsorción de plaguicidas de tiuramidisulfato. *Reinar. Sci. Technol.* 40, 221-227. <https://doi.org/10.1021/es051451s>.
- Svartz, G., Aronson, C., Pérez Coll, C., 2016. Sensibilidad comparativa entre etapas tempranas de la vida del sapo sudamericano al pesticida a base de cipermetrina. *Reinar. Sci. Encuesta. Res. En t.* 23 (3), 2906-2913. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5547-7>.
- Takano, HK, Dayan, FE, 2020. Glufosinato de amonio: una revisión del estado actual de conocimiento. *Pest Manag. Sci.* 76 (12), 3911-3925. <https://doi.org/10.1002/ps.5965>.
- Troullier, N., Martins, JL, 1991. Effipseudopotenciales cientes para cálculos de ondas planas. II. Operadores para una diagonalización iterativa rápida. *Phys. Rev. B* 43, 8861-8869. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.43.8861>.
- Vaira, M., Akmentins, M., Attademo, M., Baldo, D., Barraso, DA, Barrionuevo, S., et al., 2012. *Categorización del estado de conservación de los anfibios de la República Argentina.* *Cuad. Herpetol.* 26, 131-159.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, NP, 2003. Bioacumulación y biomarcadores de peces en evaluación de riesgos ambientales: una revisión. *Reinar. Toxicol. Pharmacol.* 13 (2), 57-149. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6).
- Vincent, K., Davidson, C., 2015. La toxicidad del glifosato solo y el glifosato-surfactante mezclas con renacuajos de sapo occidental (*Anaxyrus boreas*). *Reinar. Toxicol. Chem.* 34 (12), 2791-2795. <https://doi.org/10.1002/etc.3118>.
- Wagner, N., Reichenbecher, W., Teichmann, H., Tappeser, B., Lötters, S., 2013. Preguntas sobre el impacto potencial de los herbicidas a base de glifosato en los anfibios. *Reinar. Toxicol. Chem.* 32 (8), 1688-1700. <https://doi.org/10.1002/etc.2268>.
- Wanner, P., 2021. Plástico en suelos agrícolas. - un riesgo global para los sistemas de aguas subterráneas y suministros de agua potable? - una revisión. *Chemosphere* 264, 128453. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128453>.
- Wheeler, MW, Park, RM, Bailer, AJ, 2006. Comparación de la concentración letal media valores usando confipruebas de superposición de intervalos de densidad o de razón. *Reinar. Toxicol. Chem.* 25 de 1441-1444.
- Yifeng, L., Yan, Z., Yongfeng, D., Wei, J., Yanping, Z., Jinju, G., Lili, D., Hongqiang, R., 2016. Captación y acumulación de microplásticos de poliestireno en zebrafish (*Danio rerio*) y efectos tóxicos en el hígado. *Reinar. Sci. Technol.* 7, 4054-4060. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00183>.
- Zhang, WJ, Jiang, FB, Ou, JF, 2011. Consumo y contaminación mundial de plaguicidas: con China como foco. *Proc. En t. Acad. Ecol. Reinar. Sci.* 1, 125-144.
- Zhang, D., Ng, EL, Hu, W., Wang, H., Galaviz, P., Yang, H., Sun, W., Li, C., Ma, X., Fu, B., Zhao, P., Zhang, F., et al., 2020. La contaminación plástica en las tierras de cultivo amenaza la seguridad alimentaria a largo plazo. *Glob. Chang. Biol.* 26 (6), 3356-3367. <https://doi.org/10.1111/gcb.15043>.
- Zocchi, M., Sommaruga, R., 2019. Los microplásticos modifican la toxicidad del glifosato en *Daphnia magna*. *Sci. Entorno total.* 697, 134194. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134194>.