

Efectos tóxicos agudos y crónicos de los hidrocarburos sobre crustáceos de las familias palaemonidae y hyalellidae: revisión sistemática

Acute and chronic toxic effects of hydrocarbons on crustaceans of the families palaemonidae and hyalellidae: systematic review

Recibido: mayo 01 de 2024 | Revisado: mayo 15 de 2024 | Aceptado: mayo 30 de 2024

J. VALERIA YON LEIVA¹
ADAN MARINA¹
ALESSANDRA LAURENTE¹
JIMENA RUBY ROJAS PALACIOS¹
KIARA MAURTUA¹
ALESSANDRA LAURENTE¹
MARÍA GRACIELA ÁLVAREZ¹
PIERO ZEVALLOS¹
JOSÉ IANNAcone^{1,2}

RESUMEN

La contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) en ecosistemas de agua dulce representa un grave problema ambiental. Ingresan al agua por derrames de petróleo o descargas industriales, se adhieren a partículas suspendidas y sedimentos ocasionando que sean absorbidos por organismos acuáticos, como lo son los decápodos y anfípodos. Para evaluar los efectos de los PAH en *Macrobrachium borelli* y *Hyalella azteca*, se recopiló bibliografía sobre la toxicidad de hidrocarburos y mecanismos de adaptación. Los resultados para decápodos indican alta toxicidad para la fracción hidrosoluble con diesel, pero no se afecta la eclosión de huevos; también se observan cambios en proteínas, grasas y enzimas, probablemente debido a mecanismos adaptativos. Para los anfípodos se obtuvo que, de acuerdo a su mortalidad, es una especie más sensible que otros organismos, como los quironómidos. Además, los efectos subletales debido a la exposición de los PAH varían en la afectación en el tamaño y comportamiento del organismo, así como daños en el ADN. Por último, los mecanismos de adaptación que poseen no son considerados efectivos para la supervivencia de la especie.

Palabras clave: Efectos tóxicos, hidrocarburos, *Hyalella azteca*, *Macrobrachium*, *Palaemonidae*, petróleo

ABSTRACT

Contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in freshwater ecosystems represents a serious environmental problem. When they enter the water, either by oil spills or industrial discharges, they adhere to suspended particles, accumulating in sediments and causing them to be absorbed by aquatic organisms, such as decapods and amphipods. Therefore, to evaluate the effects of PAHs on *Macrobrachium borelli* and *Hyalella azteca*, a bibliographic compilation was made considering the axes of hydrocarbon toxicity and adaptation mechanisms for these pollutants. The results for decapods indicate a high toxicity for the water-soluble fraction with diesel, although this does not prevent normal hatching of eggs. For amphipods, it was found that, according to their mortality, it is a more sensitive species than other organisms, such as chironomids. In addition, the sublethal effects due to PAH exposure vary in the affectation in the size and behavior of the organism, as well as DNA damage. Finally, the adaptive mechanisms it possesses are not considered effective for the survival of the species.

Keywords: *Hyalella azteca*, hydrocarbons, *Macrobrachium*, oil, *Palaemonidae*, Toxic effects

- 1 Universidad Científica del Sur, Villa El Salvador, Lima, Perú
- 2 Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú

Autor de correspondencia:
joseiannacone@gmail.com

© Los autores. Este artículo es publicado por la Revista Campus de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad de San Martín de Porres. Este artículo se distribuye en los términos de la Licencia Creative Commons Atribución No-Comercial – Compartir-Igual 4.0 Internacional (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio siempre que la obra original sea debidamente citada. Para uso comercial contactar a: revistacampus@usmp.pe.

Introducción

La contaminación por hidrocarburos en cuerpos de agua continentales es un grave problema porque es la responsable de efectos tóxicos y cancerígenos sobre la biota acuática (Neff et al., 2000). Además, este tipo de contaminante tiene gran afinidad con los lípidos de la membrana, por lo que puede alterar las propiedades fisicoquímicas y fisiológicas de las membranas (Reid & MacFarlane, 2003). Asimismo, la acumulación de hidrocarburos puede afectar la función de los orgánulos de diversos organismos acuáticos (Lavarías et al., 2006).

En los derrames de petróleo la parte más visible es el “mousse” que se forma en la superficie; sin embargo, la fracción responsable de los efectos tóxicos es la fracción hidrosoluble de los hidrocarburos (WSF) (Lavarías et al., 2004). La toxicidad de la fracción hidrosoluble del petróleo se deriva de los procesos de esparcimiento, deriva, evaporación, disolución, fotólisis, biodegradación del petróleo y su conversión en metabolitos (Mackay & McAuliffe, 1988; Daling et al., 1990). La composición de la WSF es muy similar a la de los hidrocarburos aromáticos que componen el diesel (Ackman et al., 1997), específicamente contiene hidrocarburos aromáticos, compuestos fenólicos y heterocíclicos con elementos de nitrógeno y azufre (Saeed & Al-Mutairi, 1999), la mayoría de ellos potencialmente cancerígenos (Woo et al., 2006). Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH, en inglés) como el pireno, el criseno, el benzo(b)fluoranteno, el benzo(a)pireno (conocidos como

PAH cancerígenos) son ampliamente reconocidos como genotóxicos (Lemos et al., 2007; Weber et al., 2013).

Los PAH son contaminantes omnipresentes en el ambiente que presentan una solubilidad en agua de moderada a baja, lo que favorece su adsorción a las partículas, y su posterior acumulación en los sedimentos (McGrath et al., 2019). Las fuentes principales en las que los PAH llegan al medio son mediante incendios forestales y fuentes antropogénicas, ya sean la producción de coque, la calefacción, la generación de electricidad y las emisiones de combustión interna de los motores utilizados en el transporte (Eisler, 2000). Se considera, además, que los PAH llegan al medio acuático por el uso industrial del petróleo, el vertido de efluentes de aguas residuales, los desbordamientos de alcantarillado combinado y la escorrentía de las carreteras. Asimismo, las industrias que producían o utilizaban alquitranes de hulla, subproducto de la producción de coque, al haber estado situadas cerca de los cursos de agua, han generado que este contaminante llegue a los cuerpos de agua dulce y los sedimentos (Hawthorne et al., 2017; Stoudt et al., 2004). Sus efectos tóxicos han sido ampliamente informados en organismos acuáticos después de derrames de petróleo (Perez-Cadahia et al., 2004; Akaishi et al., 2004). Las altas tasas de absorción de los componentes WSF determinan efectos tóxicos inmediatos en los organismos acuáticos y también pueden bioacumularse en algunos de ellos, en un proceso que repercute negativamente a lo largo de la cadena trófica (Collier et al., 1996).

Los crustáceos de agua dulce son uno de los grupos comúnmente empleados para monitorear la contaminación ambiental debido a características como: constituyen un componente mayor de la mayoría de ecosistemas acuáticos, sus poblaciones normalmente son numerosas y son fáciles de cultivar en laboratorio (Gerhardt et al., 2002; Fossi et al., 2000). Los decápodos constituyen un orden bastante diverso de los crustáceos y pueden ser encontrados en muchos hábitats como, aguas continentales, profundidades marinas e incluso las cavidades corporales de otros organismos (Martin & Davis, 2001; Macedo et al., 2012). Las características del hábitat y la depredación fomentan una gran especificidad en la selección del hábitat e incluso se consideran impulsores de relaciones simbióticas, entre las familias más conocidas por establecer asociaciones con otra especie se encuentra a la familia Palaemonidae, Alpheidae y Porcellanidae (Baeza, 2007). Una de las especies más usadas para evaluaciones ecotoxicológicas de hidrocarburos es el camarón de río (*Macrobrachium borelli*), que puede asimilar hidrocarburos directamente de la columna de agua o del agua intersticial en los sedimentos (Bhattacharyya et al. 2003) y fue usado en estudios de bioacumulación de WSF.

Otra de las especies más usadas como bioindicador de contaminación ambiental es la *Hyalella azteca*, perteneciente a la orden Amphipoda, esta especie ha demostrado ser un valioso indicador para evaluar la calidad del agua y el estado de los ecosistemas acuáticos, ya que su sensibilidad a los contaminantes ambientales y su capacidad para acumular diferentes sustancias químicas la convierten en un organismo altamente sensible a las alteraciones en su entorno

acuático (Islas et al., 2019). Además, su amplia distribución geográfica y su presencia en diversos hábitats acuáticos hacen de esta especie un bioindicador versátil y confiable para monitorear la salud ambiental (Duan et al., 2000).

Bajo este contexto, el propósito de este artículo fue recopilar bibliografía sobre los efectos que presentan especies de la familia Palaemonidae (Decápodos) y Hyalellidae (Anfípodos) bajo la exposición de hidrocarburos con la finalidad de considerar su posible aplicación para evaluaciones ecotoxicológicas de hidrocarburos en agua dulce.

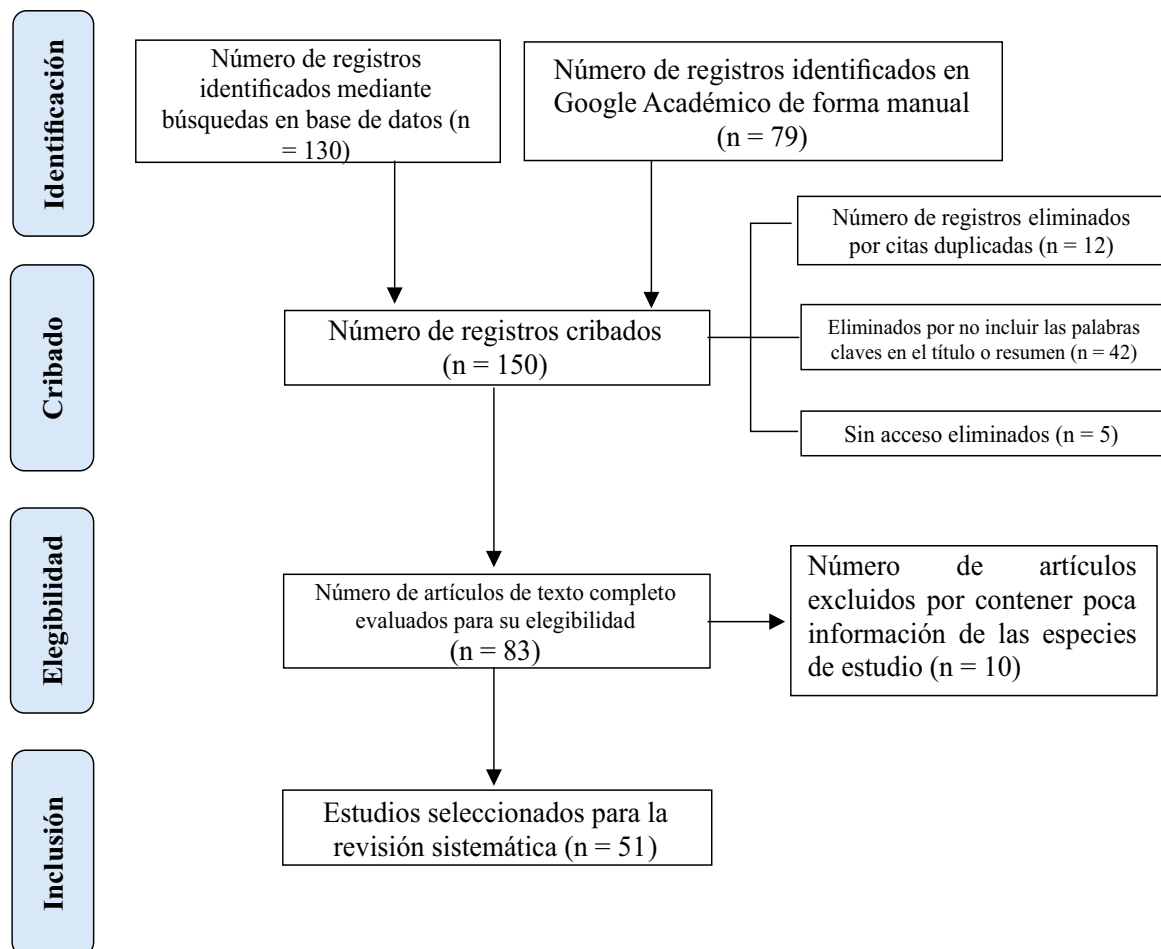
Método

La búsqueda de información se hizo a través de diferentes bases de datos, como: ScienceDirect, Redalyc, Scopus y Google Académico, usando las palabras y combinaciones en inglés de “toxic effects”, “oil”, “hydrocarbons”, “*Macrobrachium*” o “Palaemonidae”, además, la búsqueda incluyó el nombre completo de la especie “*Hyalella azteca*”; todas fueron acompañadas del operador booleano AND.

Para la selección de los artículos, se tuvo los siguientes criterios de inclusión: a) Artículos originales, b) El título o resumen debe contener las palabras claves mencionadas o estar relacionado a ello, y c) Objetivo principal sea estudiar los efectos tóxicos sobre la familia Palaemonidae o sobre la especie *H. azteca*. Mientras que los criterios de exclusión fueron: a) Artículos de fuentes secundarias, b) Que el título no se relacione con la investigación y c) Los que no tienen relación con el objetivo principal.

Figura 1

Diagrama de flujo PRISMA en cuatro niveles



Resultados

Aspectos generales

Palaemonidae

Resultados por países para Palaemonidae

Se realizó un mapa para resaltar a los países que hayan realizado una mayor cantidad de estudios sobre temas relacionados a nuestro tema de investigación enfocado a Palaemonidae. Los países con más coincidencias fueron Argentina y Nigeria con un total de nueve y siete artículos respectivamente; mientras que, los otros países resaltados

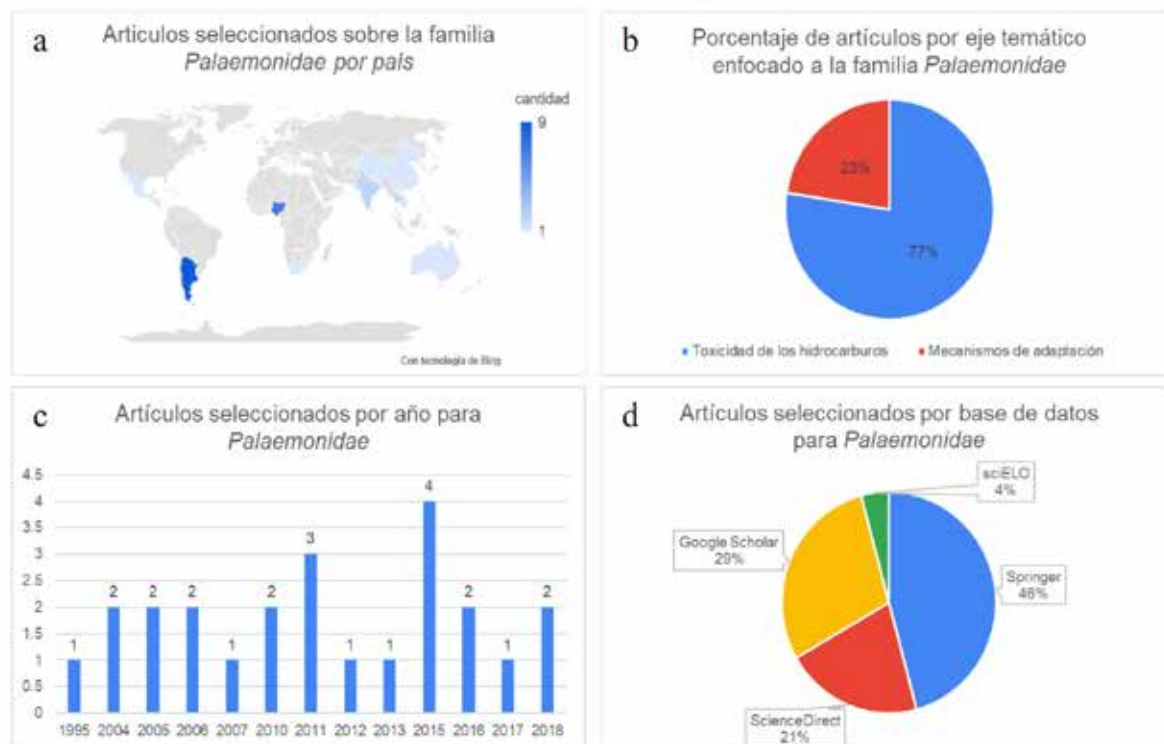
como México, India, Tailandia, Australia, China y South África poseen una menor cantidad de artículos publicados relacionados, entre 1 - 2 (Figura 2a).

Resultados por eje temático para Palaemonidae

Se realizó un gráfico de pastel para resaltar el porcentaje de los artículos seleccionados que contienen los ejes temáticos utilizados. De los 24 artículos seleccionados sobre Palaemonidae el 77% contenían el eje temático de toxicidad de los hidrocarburos; mientras que, el 23% de artículos contenían el otro eje temático sobre los mecanismos de adaptación. (Figura 2b).

Figura 2

Aspectos generales de los artículos seleccionados sobre la familia Palaemonidae



Resultados por año para *Palaemonidae*

De los 24 artículos seleccionados sobre *Palaemonidae*, cuatro artículos son del año 2015; mientras que, los demás fueron artículos entre los años 1995 - 2018, que contenían información usada para esta revisión (Figura 2c).

Resultados por búsqueda en base de datos para *Palaemonidae*

Se utilizaron las bases de datos de ScienceDirect, SciELO, Springer y Google Scholar. De los cuales el 46% de los 24 artículos seleccionados para la familia *Palaemonidae* resultaron ser de la base de Springer; mientras que, el 4% fue de la base de datos de SciELO (Figura 2d).

Hyaellidae

Resultados por países para *Hyaellidae*

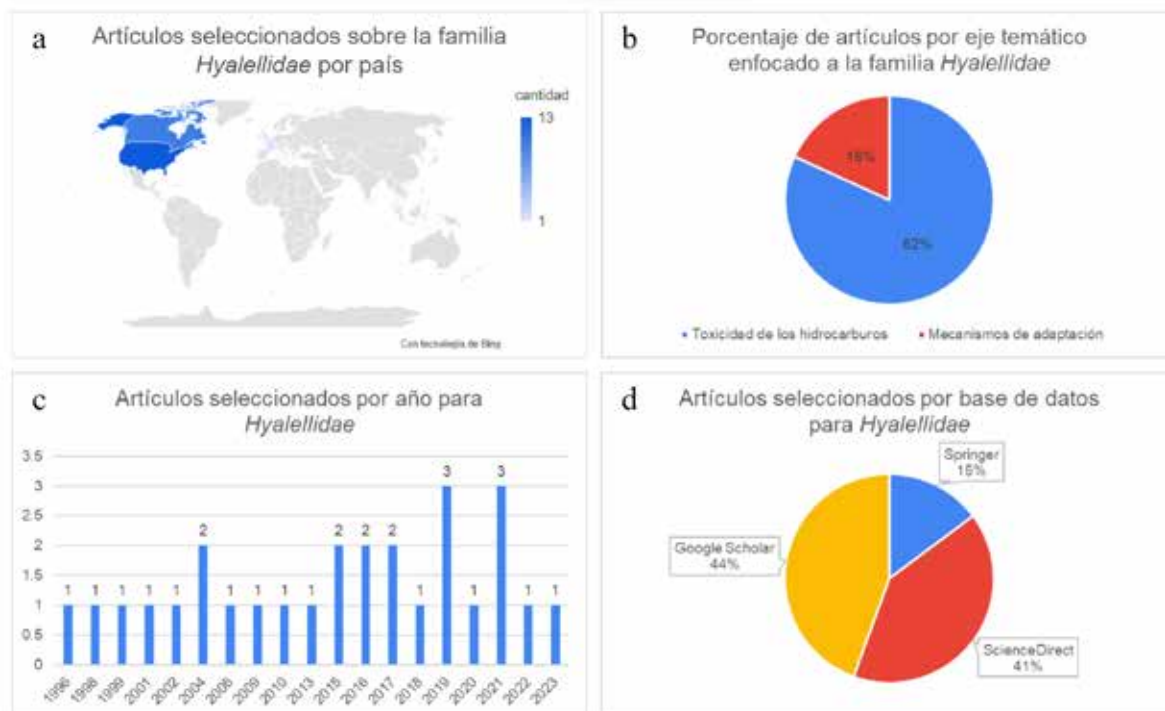
Se realizó un mapa sobre los países que han realizado estudios con nuestro tema de investigación relacionado con la familia *Hyaellidae*. Los países con más cantidad de estudios fueron Canadá y Estados Unidos con un total de 10 y 13 artículos respectivamente; mientras que, los otros países con menores resultados; es decir, entre uno y dos artículos fueron Corea, Francia y Taiwán (Figura 3a).

Resultados por eje temático para *Hyaellidae*

Se realizó un gráfico de pastel para resaltar el porcentaje de los artículos seleccionados que contienen los ejes temáticos utilizados. De los 27 artículos seleccionados sobre *Hyaellidae* el 82% contenían el eje temático de toxicidad de los hidrocarburos; mientras que, el 18% de artículos contenían el otro eje temático sobre los mecanismos de adaptación (Figura 3b).

Figura 3

Aspectos generales de los artículos seleccionados sobre la familia Hyalellidae



Resultados por año para *Hyalellidae*

De los 27 artículos seleccionados sobre *Hyalellidae*, seis artículos son del año 2019 y 2021; mientras que, los demás fueron artículos entre los años 1996 - 2023, que contenían información usada para esta revisión (Figura 3c).

Resultados por búsqueda en base de datos para *Hyalellidae*

Se utilizaron las bases de datos de ScienceDirect, Springer y Google Scholar. De los cuales el 44% y 46% de los 27 artículos seleccionados para la familia *Hyalellidae* resultaron ser de la base de datos de ScienceDirect y Google Scholar respectivamente; mientras que, el 15% fue de la base de datos de Springer (Figura 3d).

Discusión

Efecto de hidrocarburos en crustáceos Decápodos, familia *Palaemonidae*

Efecto toxicológico en la eclosión de huevos

Gorcharenwat et al. (2015) analizó el efecto de concentraciones de 50 y 100% de WSF de biodiesel a diferentes temperaturas sobre los huevos de *Macrobrachium rosenbergii* y observó que el tratamiento de biodiesel a 100% presentó menor porcentaje de eclosión que el tratamiento de diesel a 100% en todas las temperaturas. Esto ocurre porque el biodiesel forma una emulsión con el agua, que coagula los poros del huevo y reduce el suministro de oxígeno. Sin embargo, al analizar la supervivencia

de las larvas eclosionadas, los autores encontraron que el tratamiento de biodiesel presentó un mayor porcentaje de supervivencia que el tratamiento de diesel, aunque se observó que la toxicidad del primero aumentaba considerablemente a temperaturas superiores a 31°C, mientras que la toxicidad del diesel a 50% disminuye al aumentar la temperatura. Este efecto se da debido a que el diesel es un hidrocarburo más aromático que el biodiesel y según lo explica Rice et al. (1977), los hidrocarburos aromáticos retienen la toxicidad por más tiempo en agua fría que en agua tibia.

Asimismo, Lavarias et al. (2004) experimentó con huevos de *M. borelli* expuestos a 2,7 mg.mL de WFS de crudo ligero desde la oviposición hasta la eclosión, se evidenció una reducción significativa de la supervivencia de los embriones, pasando de 77,3%, en el control, a 46,3%.

Efectos de hidrocarburo (WFS diesel y biodiesel) en diferentes etapas larvarias

Gorcharoenwat et al. (2015) analizó el efecto que tiene la fracción soluble (WSF) de biodiesel y diesel a diferentes concentraciones y temperaturas en las larvas de *M. rosenbergii*, y observó que la mortalidad en el tratamiento con WSF-biodiesel no presentaba diferencias significativas con el control. No obstante, en el tratamiento de diesel se encontró una elevada mortalidad larval, que dependía inversamente de la temperatura, siendo la CL_{50} a una exposición de 96h de 1,3%, 5,0%, 2,15, 15%, 36,05% para 25°C, 28°C, 31°C, 34°C respectivamente. Esto podría deberse a la volatilidad de la WSF-diesel a altas temperaturas (Benjumea et al., 2008).

Asimismo, el estudio de Gorcharoenwat et al. (2016) al analizar la exposición de los diferentes estados larvarios (8, 12 y 22 días) del mismo camarón con WSF de biodiesel y diesel a diferentes concentraciones y temperaturas, encontró que a los 8 días de nacidas las larvas presentaban una alta mortalidad, pero especialmente la mortalidad del WSF - diesel a las 96h en todas las temperaturas aumentó en casi un 50% con respecto al control, sin embargo a los 28, 31 y 34°C la tasa de mortalidad de las larvas que fueron expuestas a WSF- diesel fue significativamente mayor que las de WSF-biodiesel y el control. Esto podría indicar que, con respecto al WSF-diesel, el WSF-biodiesel se vuelve menos tóxico a medida que aumenta la temperatura. Con respecto a las larvas de 13 días, es importante resaltar que su mortalidad fue ligeramente menor que las de ocho días, y que no se encontraron diferencias significativas con la temperatura excepto a 31°C, donde la tasa de mortalidad de las larvas expuestas a WSF-diesel y biodiesel fue mayor que las expuestas al control, por lo que no se encontró un efecto obvio de la temperatura sobre la toxicidad del diesel o biodiesel.

Finalmente, a los 22 días de nacidas o post larvales se observó que del WSF-biodiesel fue mayor que la del WSF-diesel y el control, algo que puede ser resultado de que en etapas juveniles los camarones suelen nadar hasta la superficie para recibir más oxígeno y el WSF-biodiesel al ser menos soluble que el WSF-diésel forma una lámina delgada y turbia que se encuentra en esta parte (Yassine et al., 2012). Sin embargo, la tasa de mortalidad acumulada fue menor al 20%, esto podría deberse a que los órganos y apéndices del camarón se encuentran

mejor desarrollados y son más efectivos para eliminar los contaminantes (Khan et al., 2007).

Toxicidad de hidrocarburos en adultos

Al estudiar la fracción hidrosoluble del petróleo se encontró que los cambios patológicos y de mortalidad se encontraban fuerte y directamente asociados a la concentración del tóxico y al tiempo de exposición. Ekanem et al. (2011) realizaron una investigación en los adultos de *Macrobrachium vollehovenii* e identificó que estos eran más sensibles que el *M. macrobrachion*, ya que tenían un CL_{50} de 4 mg/L en comparación con el 5 mg/L del *M. macrobrachion* luego de 96 h de exposición; sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas.

Por otro lado, Lavarías et al. (2004) identificaron que las larvas de *M. borelli* fueron más sensibles que los adultos, siendo sus CL_{50} a 96 h de 1,41 y 1,56 mg/mL respectivamente, aunque sus diferencias no fueron estadísticamente significativas. Similarmente, Ndimele (2011) realizó el bioensayo de toxicidad aguda del petróleo crudo en *Desmocarís trispinosa* (Crustacea, Palaemonidae), y obtuvo como resultado que el CL_{50} a las 24h y 48h de exposición fue de 0 mg/L, mientras que para las 72 h y 96 h horas fue de 281.84 mg/L y 120.23 mg/L respectivamente.

Asimismo, Ruiz et al. (2018), usó al *Macrobrachium tenellum* para analizar el nivel de toxicidad del diésel por medio del cálculo de la CL_{50} y encontró que después de 6h de exposición la CL_{50} de los organismos se daba a una concentración de 16 mg/L. Estos resultados demuestran que la toxicidad aguda en los organismos

acuáticos experimenta variaciones que pueden depender de varios factores entre los que se encuentran la variedad de especies, el hábitat, la edad, la duración de la exposición, el tiempo de bioensayo y de crudo utilizado, así como el método analítico aplicado (Akbari et al 2004).

Por otra parte, dos artículos estudian la toxicidad de mezclas compuestas principalmente por hidrocarburos. Amaeze et al. (2015) utilizaron al *Palaemonetes africanus* para evaluar el efecto toxicológico de un efluente de oleoducto en desuso; obteniendo como resultado un CL_{50} de 53,91% después de 96 h de exposición. Se observó que la mortalidad fue significativamente dependiente de la dosis y del tiempo, aunque al tratarse de una mezcla de varios compuestos su toxicidad es más compleja de entender. Asimismo, Atuanyan et al. (2015) utilizaron un organismo de agua dulce (*Desmocarís trispinosa*) y agua salobre (*P. africanus*) para evaluar la toxicidad del lodo oleoso de refinería de petróleo; se observó que los organismos de agua dulce presentaban una mortalidad promedio mayor que los de agua salobre, obteniendo un CL_{50} para 10 días de exposición de 1097,38 mg/kg y 1590,38 mg/kg, para el *D. trispinosa* y *P. africanus* respectivamente. La diferencia de las respuestas de los camarones de agua dulce y agua salobre puede deberse a la demanda osmoregulatoria de los distintos ambientes.

Efecto subletal en la producción de lípidos

Lavarías et al. (2005) analizó la exposición de *M. borelli* a WSF y observó que en el hepatopáncreas hubo una reducción de los fosfolípidos (PL) y la

fosfatidilcolina (PC), la cual disminuyó de 62% a 53%. Asimismo, hubo una reducción del 11% de los triacilgliceroles (TAG), que es el lípido dominante en los huevos. Estos cambios en el contenido y composición de lípidos, se debe principalmente a los daños que ocasiona el WSF en la membrana. También se evidenció una disminución del antioxidante potente *astaxanthin* en el hepatopáncreas debido a que fue consumido por el organismo para prevenir daño oxidativo ya que este antioxidante es el encargado de la detoxificación de xenobióticos. Además, la disminución de la ratio PL/TAG por el aumento de TAG en el hepatopáncreas puede definirse como un mecanismo para incrementar la síntesis de TAG o disminuir su movilización a las reservas de fosfolípidos, disminuyendo la biodisponibilidad del WSF por dilución. Este mismo efecto de la reducción de los lípidos se observó en el artículo de Lavarías et al. (2007), quienes determinaron que la exposición de *M. borelli* a 0,6 mg/L de la fracción hidrosoluble de hidrocarburos (WSF) afectó las vías de síntesis de lípidos y las vías metabólicas del organismo.

Otros estudios también explican el comportamiento de los lípidos, como el de Lavarías et al. (2006), quienes analizaron el papel del ACS ante la exposición de WSF y se evidenció un incremento simultánea de la ACS y de la oxidación, esto se debe porque los ácidos grasos activados por la ACS mitocondrial son usados para la producción de energía. Resultados similares se evidenciaron en el artículo de González-Baró et al. (2000), donde se incrementa la actividad del TAG-lipasa para satisfacer la mayor demanda de energía que se requiere para manejar el estrés generado por los hidrocarburos; específicamente en los huevos de etapa

5, ya que durante ese estado de la embriogénesis se presenta la actividad más alta de rutas anabólicas y catabólicas de lípidos para suplir la energía y los lípidos necesarios para la organogénesis. Por otro lado, Lavarías et al. (2004) mencionan que, durante los estados avanzados de embriogénesis, como es la etapa 4 y 5, no fue afectado el sistema de oxidación de ácidos grasos. Esto se debe a que la cáscara de huevo incrementa su impermeabilidad en estados más avanzados, y que la exposición crónica de huevos a WSF afecta solo los que están a punto de eclosionar.

Por lo tanto, los artículos revisados evidencian que el incremento de TAG-lipasa tiene correlación positiva con la actividad de la ACS mitocondrial y la oxidación de ácidos grasos, indicando un aumento de este último para la producción de energía. Asimismo, los camarones de agua dulce evidencian un incremento del flujo de metabolitos por medio de la ruta catabólica de lípidos, a causa de la activación de enzimas disponibles.

Efecto subletal en la producción de proteínas

Yamuna et al. (1995) evaluaron la exposición de *Macrobrachium lamerrei* a dos concentraciones subletales de hidrocarburos aromáticos policíclicos (0.75% y 3.75%) durante 28 días y evidenció una disminución en el contenido de proteínas totales en la hemolinfa y el hepatopáncreas, debido a que el langostino utiliza las proteínas como fuente de energía para contrarrestar el estrés inducido por el tóxico. También, se observó una reducción de una glicoproteína de alto peso molecular (106 - 90 kD) de la hemolinfa, debido

a la posible inhibición de la síntesis de vitelogenina por el efluente.

Otros estudios también demuestran el efecto de WSF sobre las proteínas, como el de Lavarías et al. (2006) que evaluó la exposición de *M. borelli* a este contaminante y observó que la oncoproteína Nm23, el aldehído graso deshidrogenasa, la arginina metil transferasa y la glutatión S-transferasa se redujeron mientras que el gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa y una caroteno proteína similar a la lipocalina aumentaron. Esto se debe porque las proteínas que se encargan de realizar funciones relacionadas con el metabolismo de aminoácidos y carbohidratos, como la gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa, cataliza la síntesis de un intermediario de alta energía utilizado en la síntesis de ATP, de modo que la exposición a WSF provoca un incremento de la producción de energía al aumentar el consumo de ácidos grasos y la beta oxidación. Con respecto a la caroteno proteína, que es responsable de la coloración del exoesqueleto de los crustáceos, se encontraron resultados similares en el artículo de Di Giulio et al. (1995), quienes encontraron que esta se encontraba sobreexpresada después de la exposición subletal a WSF. Sin embargo, aún no se tiene claro cuáles son las razones por la que este compuesto altera el mecanismo regulador de la CTC en *M. borelli*. Además, también se evidenció una disminución de la GST, enzima de desintoxicación de fase II, que es la reguladora de la expresión genética o unión de proteínas.

Respuesta de biomarcadores

Webb (2011) expuso a los camarones *P. australis* a diferentes concentraciones

(0.01, 0.1, 1 ppm) del PAH benzo[a]pyrene (B[a]P) con el objetivo de evaluar una selección de marcadores bioquímicos, que consisten en la actividad de las enzimas Etoxicumarina-O-deetilasa (ECOD) y Sorbitol deshidrogenasa (SDH), y la concentración de bases de nucleósidos de ADN (recuento de 8-hydroxy-2-deoxyguanosine). Con respecto a la actividad de la ECOD, se observó un aumento de esta a mayor concentración de B[a]P, siendo los tratamientos 0,01, 0,1 y 1 mayores en un 220%, 460% y 1100% respectivamente en relación al control. Resultados similares se evidencian en el estudio de Oberdorster et al. (2000), quienes demostraron que los PAHs incrementan significativamente la actividad de la proteína similar a CYP1A (P450) en *P. pugio* según lo medido por ECOD en extractos hepatopancreáticos.

Con respecto a la actividad del SDH, no se encontraron diferencias significativas entre ningún tratamiento. Esto podría representar un factor de confusión al interpretar la actividad del ECOD, ya que Battison (2006) explica que el incremento de la actividad de SDH, representa un indicador que la integridad celular del hepatopáncreas se ha visto comprometida, por lo que el hepatopáncreas sería menos capaz de desintoxicar y eliminar contaminantes. Con respecto a la concentración de bases de nucleósidos de ADN, se observó que la concentración en los tres tratamientos era un 66% menor a las concentraciones en el control. La concentración de 8-oxo-dG indica daño en el ADN por radicales hidroxilo (Gagnon & Rawson, 2017).

Por otro lado, García y Heras (2012) midieron el potencial del uso

de la vitelogenina y lipovitelina en las diferentes etapas de maduración ovárica en la *M. borelli* como biomarcador de contaminación de 0.6 ppm de WSF, y observaron que las hembras con índices gonadosomáticos por encima de siete evidencian un incremento significativo de vitelogenina y lipovitelina, siendo mayor al control en un 52-180% y 14-40% respectivamente.

Mecanismos de adaptación

Lavarías et al. (2011) realizaron un estudio que tuvo como objetivo evaluar los efectos de la WSF sobre el estado antioxidante del camarón de agua dulce *M. borelli*, dio como resultados que la actividad de la enzima antioxidante superóxido dismutasa (SOD) después de la exposición no se alteró en las branquias, pero en el hepatopáncreas, se evidenció un aumento en el 43% de la actividad después de siete días de exposición. Con respecto a la catalasa (CAT), otra enzima antioxidante, su actividad aumentó significativamente en el hepatopáncreas de los individuos a los cuatro a siete días de exposición con respecto a los controles, en las branquias se observó un incremento significativo después de una exposición de siete días. Otra de estas enzimas, el peróxido de glutatión (GPx), no mostró diferencias significativas en su actividad entre los organismos tratados y los controles, tampoco se encontraron diferencias entre los tejidos.

Con respecto a la glutatión S-transferasa (GST), se evidenció una reducción de su actividad en el hepatopáncreas de los camarones que fueron expuestos a WSE durante siete días en comparación con los expuestos durante cuatro días, la reducción de esta enzima es algo que

también se vio en el estudio del efecto de los hidrocarburos de petróleo crudo sobre la expresión proteica de Pasquevich et al. (2013). Estos análisis se realizan en el hepatopáncreas debido a que es el sitio principal para la captación de sustancias tóxicas y enzimas de biotransformación generadoras de radicales oxi (Saravana & Geraldine, 2001), tendencias similares a las encontradas en este estudio con respecto a la SOD y CAT se han visto en camarones del mismo género como el *Macrobrachium malcolmsonii* y *M. lamarrei*; sin embargo el GPx Y GST experimentaron actividades altas en el hepatopáncreas y las branquias (Arun & Subramanian, 1998).

Asimismo, Lavarías et al. (2005) cuando expuso *M. borelli* a WSF obtuvo que los tejidos con una ratio TAG/fosfolípido menor fueron más afectados; asimismo especies moleculares de fosfatidilcolina (PC) que contienen ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) tuvieron una disminución significativa, probablemente debido a la susceptibilidad de los PUFA a la lipoperoxidación inducida por la detoxificación de hidrocarburos aromáticos. Los ácidos grasos saturados producen fosfolípidos menos fluidos debido al largo mayor de sus cadenas, pero PUFA hacen las membranas sólo ligeramente más fluidas que los ácidos grasos monoinsaturados. Por ello, la disminución en las especies que contienen PUFA puede ser compensada por el incremento de especies que contienen 18:1 di-monoinsaturados. Por lo que la remodelación y reestructuración de las especies moleculares puede ser un factor importante de adaptación de la membrana lipídica, minimizando las alteraciones causadas por el WSF (Lavarías et al., 2005).

Efecto de hidrocarburos en crustáceos Anfípodos, familia *Hyaletellidae*

Toxicidad de hidrocarburos en adultos

En el artículo de Hatch y Burton (1999), se evaluó la supervivencia y el comportamiento de los organismos *H. azteca* y *Chironomus tentans* en diferentes sustratos a una exposición de 10 días, siendo las concentraciones de sedimentos con Antraceno y Fluoranteno de 0, 100, 500, 1000, 2500 y 5000 mg/kg. Los resultados observados para supervivencia arrojan que la *H. azteca* parece ser más resistente a los efectos tóxicos del sedimento que *C. tentans*. Por otro lado, en las exposiciones sólo en agua, los valores CL_{50} de *C. tentans* fueron más altos que los de *H. azteca*, para Antraceno fue de 6,0 µg/L (3,9-7,7) a 5,6 µg/L (4,3-6,7), y para Fluoranteno de 12,6 µg/L (8,5-15,8) a 7,3 µg/L (5,5-8,7), respectivamente.

De igual manera, en el estudio de Bartlett et al. (2017), se tuvo como objetivo evaluar la toxicidad de los NAFC (componentes de la fracción de ácido nafténico) derivados de OSPW (aguas afectadas por el proceso de las arenas bituminosas) fresco y envejecido, así como de mezclas comerciales de ácido nafténico (NA). La supervivencia de *H. azteca* se vio afectada a los siete días en concentraciones similares de ensayo en los cuatro extractos de NAFC, con CL_{50} de 16,7 mg/L para el extracto 2009 Industry A Fresh, 25,0 mg/L para 2011 Industry A Fresh, 27,4 mg/L para 2011 Industry B Fresh, y 18,4 mg/L para 2011 Industry A Aged. Respecto a las mezclas comerciales: Acros, Aldrich y Merichem, cuyas concentraciones varían entre 0,1 a 10 mg/L de NA, y las CL_{50} fueron de 1,27 mg/L, 0,882 mg/L y 1,63 mg/L,

respectivamente, siendo de 10 a 30 veces más tóxicas. Es así que, se influye que los extractos de NAFC al ser más antiguos (Aged), tenían más toxicidad que los frescos (Fresh); asimismo, las mezclas de NA comerciales, son significativamente más tóxicas al tener un comportamiento sinérgico que afecta más a los organismos de la *H. azteca*.

Asimismo, en la investigación de Indiketi et al. (2023), se buscó evaluar la toxicidad del sedimento natural contaminado con dilbit (es un betún diluido con uno o más productos derivados del petróleo más ligeros, normalmente condensados de gas natural como la nafta), sobre dos especies bentónicas de agua dulce, *H. azteca* y la *Chironomus riparius*. De esta manera, los organismos bentónicos fueron expuestos a dos concentraciones (164 mg/kg y 832 mg/kg) y a una concentración intermedia (416 mg/kg) de dos dilbit (DB1 y DB2) y un aceite pesado convencional (CO), teniendo como resultado que los anfípodos fueron mucho más sensibles al aceite que los quironómidos. Los valores de CL_{50} -14d para *H. azteca* fueron de 199 mg/kg C10-C50 para DB1, 299 mg/kg para DB2 y 8,42 mg/kg para CO en comparación con los valores de CL_{50} -7d para *C. riparius* de 492 mg/kg para DB1, 563 mg/kg para DB2 y 514 mg/kg para CO. Por último, Gauthier et al. (2015) buscaron evaluar el riesgo ecológico basada en mezclas binarias de metales (Cd, Cu, Ni y V) y dos PAHs, fenantreno (PHE) y fenantrenoquinona (PHQ), para la *H. azteca* mediante experimentos de toxicidad de mezclas binarias de 48 h en agua sola para determinar la naturaleza tóxica aditiva de las mezclas utilizando este anfípodo acuático. Se observó una letalidad más que aditiva

observada para todas las mezclas Cu-PHE, Cu-PHQ, Cd-PHE y Cd-PHQ en las concentraciones de las Directrices Canadienses de Calidad del Agua que ocasionan una mortalidad del 7,5%, 3,7%, 4,4% y 1,4%, respectivamente. Por lo cual se tiene que, los metales causan efectos significativos tóxicos en la *H. azteca*; sin embargo, al ser mezclados con PAHs, ocasionan una letalidad mucho más aditiva para el organismo.

Efectos subletales de los hidrocarburos en *Hyalella azteca*: tamaño, daño al ADN comportamiento, reproducción y supervivencia de las crías

En cuanto a los efectos subletales, uno de los indicadores más utilizados en la literatura es el tamaño del individuo, sin embargo, se encontraron artículos que involucran el daño al ADN y el comportamiento de los individuos en un medio contaminante. Tres artículos que presentaron los efectos subletales de la mejor manera fueron Indiketi et al. (2022), Indiketi et al. (2023) y Hatch & Burton (1999), los tres trabajaron con hidrocarburos del petróleo, y dos de ellos con un tipo de petróleo no convencional muy presente en Canadá.

En el primer estudio, Indiketi et al. (2022) evaluó el efecto de la fracción que contiene hidrocarburos solubles (WAF, por sus siglas en inglés) utilizando sedimento natural y artificial en el anfípodo de agua dulce *H. azteca*, encontrando como resultado que el tamaño del individuo depende de diversos factores y no solo de la contaminación presente, entre ellos el tipo de sedimento del cual se alimentan, ya que son organismos detritívoros, además de la cantidad de comida disponible; debido a que en el estudio se comparó dos

tipos de sedimentos, se logró observar que los organismos sobrevivientes expuestos a los sedimentos artificiales eran de menor tamaño comparados con los que podían alimentarse de sedimentos orgánicos, en parte por la falta de materia orgánica en el escenario artificial.

Además, se explica la razón de que los individuos sobrevivientes en las tasas de mortalidad más altas hayan sido ligeramente más grandes que los individuos que se encontraban en tasas de mortalidad menores, esto se debe a que, al sobrevivir a la mayor mortalidad, tenían una mayor cantidad de comida disponible, y caso contrario ocurría en tasas de menor mortalidad. En el estudio, se concluyó que el tamaño de los organismos sobrevivientes no fue impactado del todo por la exposición a los WAF's.

En cuanto al segundo artículo, Indiketi et al. (2023) evaluaron los efectos crónicos, intermedios y agudos del "dilbit", que es petróleo diluido, en dos organismos bentónicos: larvas de *Chironomus riparius* y *H. azteca* (anfípodo). El estudio demostró que el anfípodo tuvo una sensibilidad mayor al petróleo comparado con *C. riparius*, hecho que podría deberse a que la *H. azteca* cuenta con dos vías de exposición, a través del agua y de los sedimentos (ingesta). Sin embargo, dentro de los resultados se encontró que frente a la exposición a los contaminantes ambas especies redujeron su tamaño comparado con los controles. No obstante, los autores recalcan que independientemente de los efectos tóxicos evidenciados en el tamaño, existe la posibilidad de que los organismos sobrevivientes hayan sido biológicamente más fuertes que los que fallecieron, hecho que se vería explicado nuevamente con

su teoría de que los sobrevivientes de las tasas con mayor mortalidad, al final recibieron mucha más comida de la regular (y viceversa), lo cual pudo haber tenido un claro efecto en el tamaño final que presentaron, logrando que al final del estudio se presenten menos efectos subletales en los individuos sobrevivientes de acuarios con más mortalidad.

Por otro lado, en esta investigación también se reporta que los daños promedio del ADN en *H. azteca* fueron del 21%, sin embargo, estos no fueron significativos en ninguna de las exposiciones a contaminantes en comparación con el control. Asimismo, es importante resaltar que no se pudo evaluar efectos en la reproducción debido a la alta mortalidad en las concentraciones propuestas. Aun así, se pudo observar en el mismo estudio que los hidrocarburos son capaces de cambiar las propiedades de los sedimentos, de forma que se disminuye la cantidad de oxígeno disponible, lo cual se refleja en la asfixia de los organismos bentónicos. Everitt et al. (2020), indicaron que las partículas de sedimentos oleaginosos se veían involucradas en la inhibición del movimiento de los apéndices o bloqueo del movimiento de los pleópodos, encargados de la respiración de *H. azteca*, quien a su vez se veía afectada por la adhesión de partículas a las branquias.

Por último, en el tercer artículo, Hatch y Burton (1999) basaron su estudio en la combinación de la radiación ultravioleta (UV) y los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH), mencionando que cuando la luz UV se presenta en una intensidad incrementada o suficiente, esta puede incrementar la toxicidad aguda de algunos PAH en la biota acuática. Es así, que realizan una investigación abarcando

el comportamiento de la *H. azteca* y *Chironomus tentans*, exponiéndolos a dichos contaminantes combinados en cuatro tratamientos, donde se observó que en el tratamiento sin sustrato los individuos de *H. azteca* tendieron a agruparse, al igual que en el tratamiento solo con hojas, todos los individuos expuestos se encontraban bajo las hojas, mientras que en los tratamientos de sedimentos o arena no se evidenciaron respuestas conductuales significativas. Además, recabaron que el comportamiento posiblemente tenga un efecto sobre la supervivencia, ya que la *H. azteca* fue capaz de modificar su comportamiento al ser expuesta a los PAH fototóxicos junto con la luz UV.

Además, otro indicador de los efectos subletales fue en la reproducción y la supervivencia de las crías de *H. azteca* expuesta a diferentes tipos de hidrocarburos principalmente los PAH. Se encontraron tres artículos que describieron el efecto de la exposición a hidrocarburos en la tasa reproductiva de esta especie que son Long (2006), Satbhai et al. (2017) y Ingersoll et al. (1998) que trabajaron la reacción en la reproducción de la *H. azteca* contaminada con sedimentos de hidrocarburos PAH), fenantreno, DBT. Por otro lado, se encontró un artículo de Hu et al. (2021) que describieron la supervivencia de las crías de *H. azteca* en Pireno.

En primer lugar, Long (2006), expone a esta especie a sedimentos de hidrocarburos y se evidenció que hubo una alteración en su comportamiento afectando directamente su reproducción, donde la tasa disminuyó hasta un 40%. Por otro lado, Satbhai et al. (2017) estudiaron más a fondo este efecto, pero usaron Fenantreno y DBT (4,68 µg/L

por 24 h), arrojando que se retrasa la iniciación del apareamiento de la especie y el tiempo de apareamiento se extiende más de lo común, haciendo que la tasa reproductiva disminuye en más 50%. Además, Ingersoll et al. (1998) estudiaron el efecto en la producción de crías, donde se evidencia una gran diferencia significativa entre el control (8,3 crías/hembra) y el tratamiento (0,8 crías/hembra). De lo expuesto, se concluye que la tasa reproductiva de la *H. azteca* es sensible a la exposición de hidrocarburos, afectando principalmente en la producción de las crías y el tiempo de reproducción.

Por otro lado, en un estudio se evaluó el efecto del Pireno en las crías de la *H. azteca*. Hu et al. (2021) expuso crías de a este contaminante (10.11 µg/L por 24 h), donde el control tuvo una supervivencia del 80% y el tratamiento tuvo una tasa de supervivencia del 0%, es decir que ninguna cría sobrevivió; además, se evaluaron la tasa de crecimiento y eclosión donde ambas se vieron afectada negativamente. En el crecimiento, el rango estuvo entre 3-6 mm, muy por debajo del control que se mantenía entre 6 - 12 mm. De lo discutido, se puede afirmar que los hidrocarburos tienen efectos negativos en la supervivencia y el crecimiento en la cría de la *H. azteca*; sin embargo, faltan más estudios que puedan profundizar este efecto subletal.

Mecanismos de adaptación

En el estudio de Ha et al. (2019) mencionan que en las *H. azteca*, los PAH son sustancias químicas narcóticas que se acumulan en la bicapa lipídica de las células, ya que como indica Franks y Lieb (1990), los efectos narcóticos se producen

como resultado de interacciones no covalentes que implican la interrupción de la interacción Van der Waals entre los componentes lipídicos y/o proteicos de las membranas celulares. De esta manera, en el ensayo de Landrum et al. (2004), se observa un aumento en el contenido de lípidos, al evaluar la exposición de la *H. azteca* por 28 días, al contaminante Pentaclorobenceno. El contenido en lípidos de los organismos en el experimento al día 0 fue de $4,5 \pm 1,1\%$ ($n = 10$) del peso seco a las 0 h, al día 10 de $6,7 \pm 1,7\%$ ($n = 26$), y para el día 28 de $7,7 \pm 2,4\%$ ($n = 18$), teniendo un incremento en el contenido de lípidos a lo largo del estudio, sin observarse diferencias estadísticamente significativas en el contenido de lípidos entre el control y los tratamientos.

Esto lo interpreta Schuler et al. (2009) como la “supervivencia del organismo más relleno”, ya que como mencionan Lee et al. (2002), la *H. azteca* tiene la capacidad de metabolizar los PAH. En el estudio de Indiketi et al. (2022) se puede explicar esto, ya que al someter a este organismo a los hidrocarburos aromáticos policíclicos, se demostró que la actividad GST (glutación S-transferasa) apareció saturada al 75% WAF (23,05-89,66 µg/L TPACs, 789,3-3509 µg/L VOCs), lo cual conduce a un aumento de la peroxidación lipídica, presumiblemente porque una acumulación de metabolitos PAH conduciría a una saturación de las defensas contra el estrés oxidativo (Berube et al., 2021). Teniendo así que el aumento en el contenido de lípidos en la *H. azteca* es una respuesta del organismo al ser un mecanismo de defensa contra los PAH.

Las enzimas oxidativas y enzimas detoxificantes, son propuestas como un

mecanismo de defensa por Indiketi et al. (2022) e Indiketi et al. (2023). En el primer artículo, los autores evaluaron las variaciones dadas en la actividad de dichas enzimas, ya que ello puede dar indicios de la presencia de un contaminante y del estrés oxidativo. Como se mencionó anteriormente, estas enzimas son estudiadas cuando se busca información acerca de los mecanismos de defensa de ciertos organismos, como la *H. azteca*, frente a la exposición de xenobióticos o especies reactivas de oxígeno (ROS); las más comunes y las evaluadas en este artículo fueron la superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y catalasa (CAT), a su vez, estas fueron utilizadas como biomarcadores en el estudio, sin embargo, se midió una cantidad limitada de efectos en ellas, debido a que luego de siete o catorce días de exposición (la cantidad de días utilizados en el estudio) los sistemas de detoxificación de los individuos ya habrían retornado a su nivel basal en respuesta a la poca persistencia de los hidrocarburos en el agua o en los sedimentos. Por otro lado, Indiketi et al. (2023), en su estudio evaluó la actividad de las tres enzimas mencionadas anteriormente sumadas a la glutatión-S-transferasa (GST), que es una enzima fundamental en los procesos de metabolización de los contaminantes, relacionando la importancia de las enzimas detoxificantes y de la metabolización como mecanismo de adaptación y defensa, mencionado en párrafos anteriores.

Conclusiones

Con respecto al Orden Decápoda, la información sobre el efecto de hidrocarburos en diferentes géneros de la familia Palaemonidae es limitada, se ha visto que existe mayor investigación con

respecto al efecto de otros contaminantes. Sin embargo, al realizar las revisiones bibliográficas se ha identificado que los embriones durante la oviposición hasta la eclosión son resistentes a la exposición crónica a WSE, debido a que la membrana del huevo restringe la entrada del contaminante hasta etapas posteriores. Asimismo, se evidenció que los hidrocarburos presentaban altos niveles de mortalidad y disminuían la diversidad de especies en varios organismos adultos de la familia Palaemonidae, pero existían variaciones que iban de acuerdo a factores como la variedad de especie, la duración de la exposición, temperatura, el crudo utilizado, la edad de los individuos y el método analítico aplicado. Se ha observado, que esta especie puede ser idónea para la evaluación ecotoxicológica de hidrocarburos debido al gran número de posibles biomarcadores que posee y se encuentran evidenciados en los efectos subletales y mecanismos de adaptación, como lo son las proteínas, enzimas, y lípidos que se reducen o sobreexpresan después de la exposición.

En cuanto a los anfípodos, encontramos que la información sobre el efecto de hidrocarburos en el invertebrado *H. azteca* es limitada, existe mayor investigación con respecto al efecto de otros contaminantes. Sin embargo, podemos concluir que esta especie es ampliamente usada para evaluación ecotoxicológica debido a sus métodos de evaluación estandarizados y a que es un individuo que posee dos vías de exposición, a través del agua y de los sedimentos (ingesta). Además, la especie es considerada como un gran biomarcador de contaminación en agua dulce, ya que actúa como indicador de la calidad del agua y de la salud del ecosistema por su importancia en la cadena alimenticia,

que le permite encontrarse en grandes cantidades en el medio. En cuanto a su mortalidad, se evidenció que, frente a la exposición de ciertos hidrocarburos, esta es más sensible que otros organismos, como los quironómidos. También se presentaron efectos subletales acarreados por los hidrocarburos, estos pueden afectar su tamaño y comportamiento, pero no de manera significativa, ello podría deberse incluso a otras causas. Estos contaminantes pueden generar

un daño en el ADN del organismo y perjudicar su tasa de reproducción, reduciendo la etapa de apareamiento y afectando la tasa de crecimiento de los embriones, asimismo, podría acortar el espectro de vida de los embriones. Por último, se evaluaron sus mecanismos de adaptación, junto con los de defensa y se visualizó que estos no son muy efectivos en cuanto a la posterior supervivencia de la especie.

Referencias

- Amaeze, N. H., Adetoro, F. A., & Adegboro, O. A. (2015). Toxicity evaluation of effluent from the de-oiling works of a decommissioned Nigerian crude oil pipeline using *Palaemonetes africanus*. *African Journal of Aquatic Science*, 40, 57-61.
- Atuanyan, E., & Tudararo-Aherobo, L. (2015). Ecotoxicological effects of discharge of Nigerian petroleum refinery oily sludge on biological sentinels. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 9, 95-103.
- Arun, S., & Subramanian, P. (1998). Antioxidant enzymes activity in subcellular fraction of freshwater prawns *M. malcolmsonii* and *M. lamarrei lamarrei*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 75, 187-192.
- Akaishi, F. M., Silva de Assis, H. C., Jakobi, S. C. G., Eiras-Stofella, D. R., St-Jean, S. D., Courtenay, S. C., ... & Oliveira Ribeiro, C. A. (2004). Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Astyanax* sp.) after waterborne and acute exposure to water soluble fraction (WSF) of crude oil. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 46, 244-253.
- Akbari, S., Law, A., & Shariff, M. (2004). Toxicity of water soluble fractions of crude oil to fish, *Lutjanus argentimaculatus* and shrimp, *Penaeus monodon*. *The Iranian Journal of Science*, 28, 169-175.
- Bartlett, A., Frank, R., Gillis, P., Parrott, J., Marentette, J., Brown, L., & Hewitt, L. (2017). Toxicity of naphthenic acids to invertebrates: Extracts from oil sands process-affected water versus commercial mixtures. *Environmental Pollution*, 227, 271-279. doi:10.1016/j.envpol.2017.04.056
- Battison, A. (2006). Tissue distribution and hemolymph activity of six enzymes in the American lobster (*Homarus americanus*): potential markers of tissue injury. *Journal of Shellfish Research*, 25(2), 553-560.

- Benjumea, P., Agudelo, J., & Agudelo, A. (2008). Basic properties of palm oil biodiesel-diesel blends. *Fuel*, 87(10-11), 2069- 2075. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2007.11.004>
- Berube, R., Gauthier, C., Bourdin, T., Bouffard, M., Triffault-Bouchet, G., Langlois, V., & Couture, P. (2021). Lethal and sublethal effects of diluted bitumen and conventional oil on fathead minnow (*Pimephales promelas*) larvae exposed during their early development. *Aquatic Toxicology*, 237, 105884. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105884>
- Collier, T. K., Krone, C. A., Krahm, M. M., Stein, J. E., Chan, S. L., & Varanasi, U. S. H. A. (1996). Petroleum exposure and associated biochemical effects in subtidal fish after the Exxon Valdez oil spill. *American Fisheries Society Symposium*, 18, 671-683.
- Daling, P. S., Brandvik, P. J., Mackay, D., & Johansen, O. (1990). Characterization of crude oils for environmental purposes. *Oil and Chemical Pollution*, 7(3), 199-224.
- Di Giulio, R., Benson, W., Sanders, B., & Van Veld, P. (1995). Biochemical mechanisms: metabolism, adaptation, and toxicity. In: Rand, G.M. (Ed.), *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment*. Taylor & Francis, Bristol, USA, pp. 523-561.
- Duan, Y., Guttman, S-, Oris, J., & Bailer, A (2000). Genetic structure and relationships among populations of *Hyalella azteca* and *H. montezuma* (Crustacea: Amphipoda). *Journal of the North American Benthological Society*, 19 (2), 308-320.
- Ekanem, A., Asuquo, F., & Ndick, E. (2011). Toxicity of crude oil to freshwater shrimp, *Macrobrachium macrobrachion* and *Macrobrachium vollenhovenii* from Nigerian coastal water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86(4), 394-397. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0229-8>
- Fossi, M. C., Casini, S., Savelli, C., Corbelli, C., Franchi, E., Mattei, N., ... & Depledge, M. H. (2000). Biomarker responses at different levels of biological organisation in crabs (*Carcinus aestuarii*) experimentally exposed to benzo (α) pyrene. *Chemosphere*, 40(8), 861-874.
- Franks, N., & Lieb, W. (1990). Mechanisms of general anesthesia. *Environmental Health Perspectives*, 87, 199.
- Gagnon, M. M., & Rawson, C. A. (2017). Bioindicator species for EROD activity measurements: A review with Australian fish as a case study. *Ecological Indicators*, 73, 166-180.
- García, C. E., & Heras, H. (2012). Vitellogenin and Lipovitellin from the prawn *Macrobrachium borellii* as hydrocarbon pollution biomarker. *Marine pollution bulletin*, 64(8), 1631-1636.
- Gauthier, P., Norwood, W., Prepas, E., & Pyle, G. (2015). Metal-Polycyclic aromatic hydrocarbon mixture toxicity in *Hyalella azteca*. 1. response surfaces and isoboles to measure non-additive mixture toxicity and

- ecological risk. *Environmental science & technology*, 49, 11772–11779. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03231>
- Gerhardt, A., De Bisthoven, L. J., Mo, Z., Wang, C., Yang, M., & Wang, Z. (2002). Short-term responses of *Oryzias latipes* (Pisces: Adrianichthyidae) and *Macrobrachium nipponense* (Crustacea: Palaemonidae) to municipal and pharmaceutical waste water in Beijing, China: survival, behaviour, biochemical biomarkers. *Chemosphere*, 47(1), 35-47.
- González-Baró, M., Heras, H., & Pollero, R. (2000). Enzyme activities involved in lipid metabolism during embryonic development of *Macrobrachium borellii*. *Journal of Experimental Zoology*, 286, 231–237.
- Gorcharenwat, P., Piyatiratitivorakul, P., & Pengprecha, S. (2015). Effects of temperature and water soluble fraction of palm biodiesel and diesel fuel on hatchability and survival of first stage larvae of *Macrobrachium rosenbergii*. *EnvironmentAsia*, 8(1), 61-67. <http://www.tshe.org/ea/pdf/vol8no1-08.pdf>
- Gorcharenwat, P., Piyatiratitivorakul, S., Puanglarp, N., & Pengprecha, S. (2016). Effect of Water Soluble Fractions of Diesel and Biodiesel on Larvae of the Giant Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, under different thermal conditions. *Walailak Journal of Science and Technology*, 14(11), 837-848. <https://wjst.wu.ac.th/index.php/wjst/article/view/2199>
- Ha, H., Park, K., Kang, G., & Lee, S. (2019). QSAR study using acute toxicity of *Daphnia magna* and *Hyalella azteca* through exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Ecotoxicology*, 28(3), 333-342. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02025-1>
- Hatch, A. C., & Burton Jr, G. A. (1999). Photo-induced toxicity of PAHs to *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans*: effects of mixtures and behavior. *Environmental Pollution*, 106(2), 157-167. [https://sci-hub.mkksa.top/10.1016/s0269-7491\(99\)00079-2](https://sci-hub.mkksa.top/10.1016/s0269-7491(99)00079-2)
- Hu, S., Hsieh, C., Dahms, H., Tseng, Y., Chen, J., Wu, M., & Liu, C. (2021). Toxic effects of heavy metals and organic polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment Porewater on the amphipod *Hyalella azteca* and Zebrafish *Brachydanio rerio* embryos from different rivers in Taiwan. *Applied Sciences*, 11 (17), 8021. <https://doi.org/10.3390/app11178021>
- Indiketi, N., Grenon, M. C., Groleau, P. É., Veilleux, É., Triffault-Bouchet, G., & Couture, P. (2022). The effects of dissolved petroleum hydrocarbons on benthic organisms: Chironomids and amphipods. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 237, 113554. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113554>
- Indiketi, N., Lhoste, E., Grenon, M. C., Gagnon, M., Veilleux, É., Triffault-Bouchet, G., & Couture, P. (2023). Toxicity and risk management of oil-spiked sediments by diluted

- bitumen for two freshwater benthic invertebrates. *Environmental Pollution*, 327, 121497. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121497>
- Ingersoll, C., Brunson, E., Dwyer, F., Hardesty, D., & Kemble, N. (1998). Use of sublethal endpoints in sediment toxicity tests with the amphipod *Hyalella azteca*. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 17(8), 1508-1523. <https://doi.org/10.1002/etc.5620170811>
- Islas, L., Novoa, K., Islas, H., San Juan, N., & Gómez, L. (2019). Evaluación de la Toxicidad de Efluentes Municipales de una Localidad del Estado de México Utilizando *Hyalella azteca* como Bioindicador. *Contaminación de Cuerpos de Agua en América Latina: Impacto de Contaminantes sobre Especies de Interés Ecológico*, pp. 97-111.
- Khan, N., Warith, M., & Luk, G. (2007). A comparison of acute toxicity of biodiesel, biodiesel blends, and diesel on aquatic organisms. <https://doi.org/10.1080/10473289.2007.10465333>
- Landrum, P., Steevens, J., Gossiaux, D., McElroy, M., Robinson, S., Begnoche, L. & Hickey, J. (2004). Time-dependent lethal body residues for the toxicity of pentachlorobenzene to *Hyalella azteca*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(5), 1335. <https://doi.org/10.1897/03-164>
- Lavarías, S., Heras, H., Pedrini, N., Tournier, H., & Ansaldo, M. (2011). Antioxidant response and oxidative stress levels in *Macrobrachium borellii* (Crustacea: Palaemonidae) exposed to the water-soluble fraction of petroleum. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 153(4), 415-421. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2011.02.002>
- Lavarías, S., Dreon, M., Pollero, R. J., & Heras, H. (2005). Changes in phosphatidylcholine molecular species in the shrimp *Macrobrachium borellii* in response to a water-soluble fraction of petroleum. <https://doi.org/10.1007/s11745-005-1408-y>
- Lavarías, S., Heras, H., & Pollero, R. (2004). Toxicity, uptake, and release of the water-soluble fraction of crude oil in different developing stages of the prawn *Macrobrachium borellii*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47, 215-222. <https://doi.org/10.1007/s00244-004-3025-1>
- Lavarías, S., Heras, H., & Pollero, R. (2006). Activation of lipid catabolism by the water-soluble fraction of petroleum in the crustacean *Macrobrachium borellii*. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.12.002>
- Lavarías, S., García, F., Pollero, R., & Heras, H. (2007). Effect of the water-soluble fraction of petroleum on microsomal lipid metabolism of *Macrobrachium borellii* (Arthropoda: Crustacea). *Aquatic Toxicology* 82, pp 265-271. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.02.017>
- Lee, J.-H., Landrum, P. F., & Koh, C.H. (2002). Toxicokinetics and

- time-dependent PAH toxicity in the Amphipod *Hyalella azteca*. *Environmental Science & Technology*, 36(14), 3124–3130. <https://doi.org/10.1021/es011201l>
- Lemos, C. T., Rödel, P. M., Terra, N. R., de Oliveira, N. C. D. A., & Erdtmann, B. (2007). River water genotoxicity evaluation using micronucleus assay in fish erythrocytes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66(3), 391–401.
- Long, E. R. (2006). Calculation and uses of mean sediment quality guideline quotients: a critical review. *Environmental science & technology*, 40(6), 1726–1736. <https://doi.org/10.1021/es058012d>
- Mackay, D., & McAuliffe, C. D. (1989). Fate of hydrocarbons discharged at sea. *Oil and Chemical Pollution*, 5(1), 1–20.
- Martin, J. W., & Davis, G. E. (2001). *An updated classification of the recent Crustacea*. (Vol. 39, p. 129). Natural History Museum of Los Angeles County.
- Neff, J. M., Ostazeski, S., Gardiner, W., & Stejskal, I. (2000). Effects of weathering on the toxicity of three offshore Australian crude oils and a diesel fuel to marine animals. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 19(7), 1809–1821
- Ndimele, P. (2011). Acute toxicity of Nigerian crude oil (Bonny Light) to *Desmocariss trispinosa* (Crustacea, Palaemonidae). *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation International Journal of the Bioflux Society*, 4, 606–610.
- Oberdörster, E., Brouwer, M., Hoexum-Brouwer, T., Manning, S., & McLachlan, J. A. (2000). Long-term pyrene exposure of grass shrimp, *Palaemonetes pugio*, affects molting and reproduction of exposed males and offspring of exposed females. *Environmental Health Perspectives*, 108(7), 641–646.
- Pasquevich, M., Dreon, M., Gutierrez, J., Vázquez, C., & Heras, H. (2013). Effect of crude oil petroleum hydrocarbons on protein expression of the prawn *Macrobrachium borellii*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 157(4), 390–396. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2013.03.006>
- Pérez-Cadahía, B., Laffon, B., Pásaro, E., & Méndez, J. (2004). Evaluation of PAH bioaccumulation and DNA damage in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) exposed to spilled Prestige crude oil. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 138(4), 453–460.
- Reid, D. J., & MacFarlane, G. R. (2003). Potential biomarkers of crude oil exposure in the gastropod mollusc, *Austrocochlea porcata*: laboratory and manipulative field studies. *Environmental pollution*, 126(2), 147–155.
- Rice, S. D., Short, J. W., & Karinen, J. F. (1977). Comparative oil toxicity

- and comparative animal sensitivity. In: Douglas A. Wolfe (ed.). *Fate and effects of petroleum hydrocarbons in marine ecosystems and organisms*, pp. 78-94. Elsevier.
- Ruiz, L., Guerrero, S., Nieves, K., Mejía, A., & Vega, F. (2018). Assessment of median lethal concentration (CL50) of pollutants on *Macrobrachium tenellum* juveniles. *Latin american journal of aquatic research*, 46(3), 589-592. <http://dx.doi.org/10.3856/vol46-issue3-fulltext-12>
- Satbhai, K., Louka, F., & Klerks, P. (2017). Individual and combined effects of petroleum hydrocarbons phenanthrene and dibenzothiophene on reproductive behavior in the amphipod *Hyaella Azteca*. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228, 91. <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3276-x>
- Saeed, T., & Al-Mutairi, M. (1999). Chemical composition of the water-soluble fraction of the leaded gasolines in seawater. *Environment international*, 25(1), 117-129.
- Saravana, P., & Geraldine, P. (2001). Biochemical stress responses in tissues of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* on exposure to endosulfan. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 70, 27-41. <https://doi.org/10.1006/pest.2001.2531>
- Schuler, L., Landrum, P., Harwood, A., Tripp, E., & Lydy, M. (2009). Joint toxicity of fluoranthene and pentachlorobenzene to *Hyaella azteca* and *Chironomus dilutus*. *Chemosphere*, 77(3), 399-403. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.07>
- Webb, D. (2011). Freshwater shrimp (*Palaemonetes australis*) as a potential bioindicator of crustacean health. *Environmental monitoring and assessment*, 178, 537-544.
- Weber, L., Carvalho, L., Sá, N., Silva, V., Beraldi, N., Souza, V., & Conceição, M. (2013). Genotoxic effects of the water-soluble fraction of heavy oil in the brackish/freshwater amphipod *Quadrivisio aff. lutzi* (Gammaridea) as assessed using the comet assay. *Ecotoxicology*, 22, 642-655.
- Woo, S., Kim, S., Yum, S., Yim, U. H., & Lee, T. K. (2006). Comet assay for the detection of genotoxicity in blood cells of flounder (*Paralichthys olivaceus*) exposed to sediments and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Marine pollution bulletin*, 52(12), 1768-1775.
- Yamuna, A., Kabila, V., & Geraldine, P. (1995). Biochemical and histological alterations in the prawn *Macrobrachium lamerrei* following exposure to automobile discharge. *GeoJournal* 40, 233-237.
- Yassine, M., Wu, S., Suidan, M., & Venosa, A. (2012). Partitioning behavior of Petrodiesel/Biodiesel blends in water. *Environmental Science & Technology*, 46, 7487-7494. <https://doi.org/10.1021/es3009979>