

Ciencia e Investigación

Primera revista argentina de información científica / Fundada en enero de 1945



**ENCUBRIDORAS POR NATURALEZA:
LAS PLANTAS ACUÁTICAS OCULTAN
LOS SECRETOS DE LA CONTAMINACIÓN**

■ Mirta L. Menone

**LA ECOTOXICOLOGÍA APLICADA A LA
EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN
DE LOS RÍOS: EL CASO DEL RÍO RECONQUISTA**

■ Lucrecia Ferrari

**EL ARSÉNICO: DEL AGUA
A LOS ALIMENTOS**

■ A. Pérez Carrera, A.V. Volpedo
y A. Fernández Cirelli

**CUALES SON LOS APORTES DE LA
ECOTOXICOLOGÍA A LAS
REGULACIONES AMBIENTALES**

■ Estela Planes y Julio Fuchs

**¿REPRESENTAN NUESTROS EFLUENTES
CLOACALES UN RIESGO PARA LOS
ECOSISTEMAS ACUÁTICOS Y LA SALUD?**

■ Pedro Carriquiriborde
y Gustavo Manuel Somoza

**REFLEXIONES ACERCA DE
LA ECOTOXICOLOGÍA QUE VIENE**

■ Alfredo Salibián

**ALGUNAS RESPUESTAS SOBRE LOS IMPACTOS
DEL USO DE PLAGUICIDAS PARA EL CONTROL
DE PLAGAS EN AGROECOSISTEMAS DE LA REGIÓN PAMPEANA**

■ Alicia E. Ronco

COMPROMISO

con el bienestar de todos

HACEMOS
ENERGÍA
NUCLEAR



NUCLEOELÉCTRICA ARGENTINA S.A.

ATUCHA I / ATUCHA II / EMBALSE

Despejá tus dudas sobre la energía nuclear en: www.na-sa.com.ar



Ministerio de
Planificación Federal,
Inversión Pública y Servicios
Presidencia de la Nación

EDITOR RESPONSABLE

Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias (AAPC)

COMITÉ EDITORIAL

Editora

Dra. Nidia Basso

Editores asociados

Dr. Gerardo Castro

Dra. Lidia Herrera

Dr. Roberto Mercader

Dra. Alicia Sarce

Dr. Juan R. de Xammar Oro

Dr. Norberto Zwirner

CIENCIA E INVESTIGACIÓN

Primera Revista Argentina de información científica.

Fundada en Enero de 1945.

Es el órgano oficial de difusión de La Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias.

A partir de 2012 se publica en dos series, Ciencia e Investigación y Ciencia e Investigación Reseñas.

Av. Alvear 1711, 4º piso,
(C1014AAE) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
Teléfono: (+54) (11) 4811-2998
Registro Nacional de la Propiedad Intelectual
Nº 82.657. ISSN-0009-6733.

Lo expresado por los autores o anunciantes, en los artículos o en los avisos publicados es de exclusiva responsabilidad de los mismos.

Ciencia e Investigación se edita on line en la página web de la Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias (AAPC)
www.aargentinapciencias.org

Among the Sierra Nevada, California (1868, óleo sobre tela, 183 x 305 cm)

Albert Bierstadt (Solingen, Alemania, 1830 - New York, EE.UU., 1902)

Smithsonian American Art Museum, Washington DC, EE.UU.

La grandiosidad del paisaje retratado por el artista junto con la intimidad que transmite el ambiente prístino del lago en la montaña. Lo inmenso y lo pequeño interactuando en una armonía perfecta. Así funciona la Naturaleza.



SUMARIO

EDITORIAL

Los toxicos en el ambiente: estudiando la complejidad de lo inabarcable

Gerardo D. Castro 3

ARTÍCULOS

Encubridoras por naturaleza: las plantas acuáticas ocultan los secretos de la contaminación

Mirta L. Menone..... 5

La ecotoxicología aplicada a la evaluación de la contaminación de los ríos: El caso del Río Reconquista

Lucrecia Ferrari 17

El arsénico: del agua a los alimentos

A. Pérez Carrera, A.V. Volpedo y A. Fernández Cirelli..... 37

Cuales son los aportes de la ecotoxicología a las regulaciones ambientales

Estela Planes y Julio Fuchs 45

Algunas respuestas sobre los impactos del uso de plaguicidas para el control de plagas en agroecosistemas de la región pampeana

Alicia E. Ronco 63

¿Representan nuestros efluentes cloacales un riesgo para los ecosistemas acuáticos y la salud?

Pedro Carriquiriborde y Gustavo Manuel Somoza..... 72

Reflexiones acerca de la ecotoxicología que viene

Alfredo Salibián 79

INSTRUCCIONES PARA AUTORES 89

... La revista aspira a ser un vínculo de unión entre los trabajadores científicos que cultivan disciplinas diversas y órgano de expresión de todos aquellos que sientan la inquietud del progreso científico y de su aplicación para el bien.

Bernardo A. Houssay

Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias

COLEGIADO DIRECTIVO

Presidente
Dr. Miguel Ángel Blesa

Vicepresidente
Dr. Eduardo H. Charreau

Secretaria
Dra. Alicia Sarce

Tesorero
Dr. Marcelo Vernengo

Protesorero
Dra. Lidia Herrera

Presidente Anterior
Dra. Nidia Basso

Presidente Honorario
Dr. Horacio H. Camacho

Miembros Titulares
Ing. Juan Carlos Almagro
Dr. Alberto Baldi
Dr. Máximo Barón
Dr. Gerardo D. Castro
Dra. Alicia Fernández Cirelli
Ing. Arturo J. Martínez
Dr. Alberto Pochettino
Dr. Carlos Alberto Rinaldi
Dr. Alberto C. Taquini (h)
Dr. Juan R. de Xammar Oro

Miembros Institucionales
Sociedad Argentina de Cardiología
Sociedad Argentina de Farmacología Experimental
Sociedad Argentina de Hipertensión Arterial
Sociedad Argentina de Investigación Bioquímica
Sociedad Argentina de Investigación Clínica
Unión Matemática Argentina

Miembros Fundadores
Dr. Bernardo A. Houssay – Dr. Juan Bacigalupo – Ing. Enrique Butty
Dr. Horacio Damianovich – Dr. Venancio Deulofeu – Dr. Pedro I. Elizalde
Ing. Lorenzo Parodi – Sr. Carlos A. Silva – Dr. Alfredo Sordelli – Dr. Juan C. Vignaux – Dr.
Adolfo T. Williams – Dr. Enrique V. Zappi

AAPC
Avenida Alvear 1711 – 4º Piso
(C1014AAE) Ciudad Autónoma de Buenos Aires – Argentina
www.aargentinapciencias.org

LOS TOXICOS EN EL AMBIENTE: ESTUDIANDO LA COMPLEJIDAD DE LO INABARCABLE

■ Gerardo D. Castro^{1,2}

1. Centro de Investigaciones Toxicológicas (CEITOX-UNIDEF).
CITEDEF. Juan B. de La Salle 4397, Villa Martelli. E-mail:
gcastro@citedef.gob.ar

2. Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental. Universidad
Nacional de General San Martín. Avenida 25 de Mayo y Francia,
San Martín. E-mail: gcastro@unsam.edu.ar

“When we go down to the low-tide line, we enter a world that is as old as the Earth itself – the primeval meeting place of the elements of earth and water, a place of compromise and conflict and eternal change. For us as living creatures it has special meaning as an area in or near which some entity that could be distinguished as life first drifted in shallow waters – reproducing, evolving, yielding that endless varied stream of living things that has surged through time and space to occupy the Earth.”

Rachel Carson. Prefacio del libro “The Edge of the Sea” (1955).

Siempre me ha fascinado la belleza de algunos seres vivos. La imaginación más delirante del artista no podría haber diseñado obras tan exquisitas como algunas flores, aves, insectos o peces tropicales: un derroche de colores y de formas. Es que el arte imita a la naturaleza, no al revés. Al mismo tiempo, esos organismos se ven tan frágiles, tan delicados. Su existencia depende de un intrincado mecanismo de interacciones de variables biológicas, químicas y físicas que los hacen viables. La Naturaleza, desde lo más pequeño a lo colosal, nos muestra la relevancia de estas interacciones como una garantía para la supervivencia.

El humano es único en cuanto a que tiene (aparentemente) la facultad de alterar esos equilibrios complejos. En busca de una mejor calidad de vida, hemos hecho cambios en este mundo, muchos irreversibles en nuestra escala temporal, que de un modo no siempre bien comprendido han perjudicado nuestro ambiente, aquel en el que existimos junto con otras especies. Hay a quienes estas cuestiones los tienen sin cuidado. ¡Es el progreso! dicen y usan ese argumento para avanzar sin cuidado ni cuestionamientos. Hay otros que, por un principio precautorio, pretenden volver al ambiente primigenio (¿cuál?), desconociendo que en esa situación nuestra vida sería inaceptable para prácticamente cualquier persona con sentido común, algo que nos proveyó la misma Naturaleza. Entre estas posiciones extremas y como tales, irreconciliables, existen posibilidades para la negociación. Aquí entra el juego el concepto de sostenibilidad: esto es, darle a las actividades humanas un marco de acción que no comprometa la viabilidad de nuestra existencia y la de otras especies.

La Toxicología Ambiental y la Ecotoxicología lidian justamente con la comprensión de la complejidad de aquellas situaciones donde los tóxicos entran en los ecosistemas, siguiendo caminos tortuosos, repartíendose

entre compartimentos no siempre entendidos e impactando de modos no fácilmente predecibles. El hombre ha introducido en el ambiente tantas sustancias nuevas que los mecanismos naturales de detoxificación no habían tenido en cuenta. Pero es cierto también que los venenos circulan por la Tierra desde mucho antes que él pusiera sus pies en el suelo. No es fácil comprender las interacciones...

En este número de Ciencia e Investigación el lector podrá interiorizarse en los problemas actuales derivados del uso extensivo de algunos plaguicidas, de la exposición ambiental a metales pesados, del impacto de la urbanización descontrolada sobre los ecosistemas, como también sobre las necesidades urgentes de normatizar las medidas que permitan revelar impacto ecotoxicológico y los desafíos para estas disciplinas en los tiempos que vienen.

Las palabras de Carson la describen bellamente: es la fuerza vital de la Naturaleza, indomable e incansable, que aprovecha cada oportunidad para desarrollarse. La Tierra sobrevivirá a un eventual desastre ecológico provocado por nosotros. La Historia Natural ha dejado evidencias claras que en varias oportunidades la vida se recuperó luego de eventos catastróficos, descomunales en comparación con el poder del hombre. Simplemente, entran en operación los mecanismos aceitados de la evolución y así los más aptos ocupan el nuevo escenario. El problema puede estar en que ese nuevo escenario no nos considere en el reparto de la obra.

Es por esto que la investigación en Toxicología Ambiental y en Ecotoxicología y el esfuerzo de los científicos por entender los alcances del impacto de las sustancias tóxicas en los ecosistemas no deben verse como una cuestión de filantropía o de compasión hacia algún simpático integrante de la vida silvestre. Es una cuestión práctica: estamos todos en el mismo barco.

ENCUBRIDORAS POR NATURALEZA: LAS PLANTAS ACUÁTICAS OCULTAN LOS SECRETOS DE LA CONTAMINACIÓN

Palabras clave: macrófitas acuáticas; biomarcadores; plaguicidas.
Key words: aquatic macrophytes; biomarkers; pesticides.

Las macrófitas son especies clave en los ecosistemas debido a que mantienen la biodiversidad y prestan numerosos servicios ecosistémicos. Las especies acuáticas están expuestas a tóxicos ambientales provenientes de fuentes diversas como descargas industriales, efluentes urbanos y residuos de plaguicidas. Como consecuencia y, a pesar de no ser evidente en su morfología, las plantas acuáticas sufren efectos subletales, que de ser crónicos, pueden generar disminución de la diversidad genética de las poblaciones y desequilibrio ecológico. Los estudios ecotoxicológicos actuales incluyen el análisis de biomarcadores de la contaminación, que son cambios a nivel molecular, fisiológico y bioquímico, entre otros, y que incluyen los sistemas enzimáticos de biotransformación y otros vinculados al efecto de estrés oxidativo. Estos biomarcadores son conocidos también como señales de alarma temprana debido a que al estudiarse en ambientes naturales pueden evidenciar estadios tempranos de contaminación. Las especies dulceacuícolas como *Ceratophyllum demersum* (L.), *Myriophyllum quitense* (Kunth) y *M. aquaticum* (Vell) Verdc, *Bidens laevis* (L.) y estuariales del género *Spartina* (Brongn) se utilizan como organismos biomonitores. Además, algunas de ellas se utilizan en el estudio de biomarcadores bioquímicos y genéticos (frecuencia de aberraciones cromosómicas y fragmentación del ADN), con el fin de conocer mecanismos de toxicidad y en último término aplicar estas respuestas al monitoreo de la contaminación ambiental.



Mirta L. Menone

Laboratorio de Ecotoxicología. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC, CONICET/UNMDP). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata. Funes 3350, 7600 Mar del Plata. Argentina.

E-Mail: mirta.menone@gmail.com

Macrophytes play essential roles in aquatic ecosystems because they maintain biodiversity and supply important ecosystem services. Aquatic species are exposed to environmental toxins that come from different sources like industrial and urban discharges and agricultural activities. Consequently, aquatic macrophytes can suffer sub-lethal effects that can lead ultimately to reduction in the genetic diversity and ecological imbalance. Nowadays, the ecotoxicological studies include biomarkers, which are changes at molecular, physiological or biochemical levels among others, including enzymatic systems of xenobiotic biotransformation as well as oxidative stress indicators. These biomarkers are also known as early warning systems, because they can show early stages of pollution in natural ecosystems. Freshwater species like *Ceratophyllum demersum* (L.), *Myriophyllum quitense* (Kunth) and *M. aquaticum* (Vell) Verdc, *Bidens laevis* (L.) and estuarine species from *Spartina* (Brongn) are used as biomonitors. Biochemical and genetic biomarkers (frequency of chromosomal aberrations and DNA fragmentation) can be studied in the biomonitor species in order to know the mechanisms of toxicity and to apply them in the field.

■ IMPORTANCIA DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS

Encubridoras...¿Y cómo podríamos denominar sino a las plantas acuáticas? si ellas permanecen en su hábitat generando nuestra fuente de vida...el vital oxígeno...mientras su-

fren efectos por exposición a tóxicos ambientales, que no se manifiestan en su morfología general. Son capaces de ocultar efectos subletales que ocurren en estadios tempranos de contaminación pero que, de ser crónicos, pueden generar una disminución de la diversidad genética de las

poblaciones, pérdida del potencial de adaptación y desequilibrio ecológico. Por ejemplo, la contaminación por agroquímicos puede generar cambios en las células de las plantas que indican efectos dañinos no evidentes, pero son el inicio de consecuencias mayores en el ambiente.

Las macrófitas en general, y las acuáticas en particular, son especies clave en los ecosistemas debido a que mantienen la biodiversidad y cumplen roles funcionales. Ellas proveen hábitat a otras especies como algas epífitas y animales, alimento para invertebrados y vertebrados (peces y aves) y sitios de oviposición a invertebrados y peces. Además, mantienen el funcionamiento físico y químico de los ecosistemas dulceacuáticos, incrementando la claridad del agua por la reducción de sedimento en suspensión, absorbiendo nutrientes y compitiendo con las algas por la luz (Maltby y col., 2010). Intervienen en la con-

versión solar de energía, de dióxido de carbono en materia orgánica, la producción de oxígeno, el ciclado y retención de nutrientes y la estabilización de los sedimentos (Wetzel, 2001). La actividad fotosintética entre otros procesos, puede afectar la dinámica de los gases disueltos, los iones hidrógeno (pH) y nutrientes tales como fosfato y nitrógeno (Arts y col., 2010).

■ UTILIZACIÓN DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS EN ESTUDIOS DE CONTAMINACIÓN. UN ENFOQUE ACTUAL.

A pesar de brindar todos los ser-

vicios ecosistémicos enunciados, y de ser depósitos globales de contaminantes debido a su capacidad de acumulación, estos organismos no son empleados tan frecuentemente en el diagnóstico o la predicción de efectos adversos generados como consecuencia de actividades antrópicas.

Algunas especies se han utilizado en el biomonitoreo de la contaminación acuática, mediante el análisis de las concentraciones acumuladas en sus tejidos. Si bien, determinando solamente los niveles de contaminantes no sabremos si se generan efectos adversos o no, es decir, no

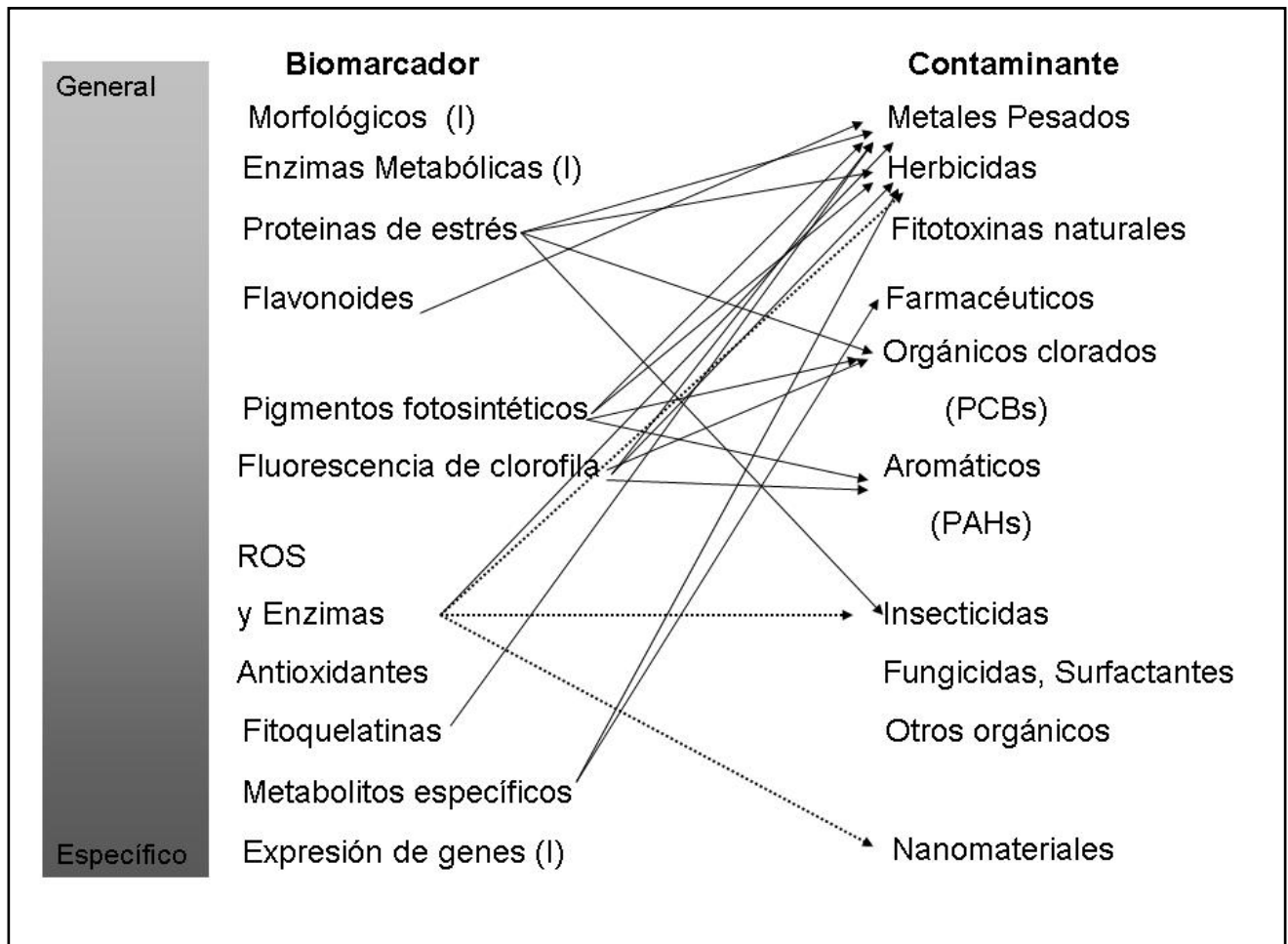


Figura 1: Esquema de los biomarcadores vinculados a diferentes contaminantes. Las líneas enteras indican una asociación fuerte, y las punteadas débiles. Este diagrama no representa todas las aplicaciones de cada biomarcador, sólo muestra los tipos de contaminantes que han sido evaluados con un biomarcador dado. ROS: especies reactivas del oxígeno. (I): el biomarcador es apropiado potencialmente para todos los tipos de contaminantes. Adaptado y modificado de Brain y Cedergreen, 2009.

tendremos información de la significancia toxicológica del contaminante. Cuando un organismo se enfrenta a un contaminante se desencadenan respuestas a nivel celular, dentro de las cuales se destacan los sistemas enzimáticos de detoxificación. En los años setenta un investigador alemán, el Dr. Sandermann, postuló el concepto de "Hígado Verde" considerando que las plantas poseen los mismos sistemas detoxificantes que se encuentran en el hígado de los animales (Sandermann y col., 1977). Este concepto se ha comprobado y se aplica en la evaluación de la contaminación ambiental y en ecotoxicología analizando respuestas bioquímicas, que son previas a cambios observables en las poblaciones o los ecosistemas, y que incluyen enzimas metabólicas de biotransformación. Estos parámetros, así como otros moleculares, fisiológicos, histológicos y genéticos se denominan biomarcadores y se definen como cambios en una respuesta biológica que pueden ser relacionados a la exposición o a los efectos tóxicos de químicos ambientales (Peakall, 1994). Al ser aplicados en estudios de cuerpos de agua naturales pue-

den funcionar potencialmente como sistemas de alarma temprana, anticipando efectos negativos en la biota.

En comparación con los animales, el estudio de biomarcadores en plantas ha sido menos explorado. En la Figura 1 se muestra una compilación de los biomarcadores apropiados para estudiar determinadas clases de contaminantes. Como puede observarse, los metales pesados y los herbicidas han sido evaluados mediante el uso de muchos biomarcadores, mientras que la aplicación de éstos es escasa para otros contaminantes conocidos como emergentes (productos farmacéuticos y nanomateriales). Particularmente las especies reactivas del oxígeno (del inglés: *reactive oxygen species*, ROS) así como las enzimas antioxidantes se han vinculado a agroquímicos generadores de estrés oxidativo, efecto que se ha convertido en materia de estudio tanto en toxicología terrestre como acuática. El estudio del estrés oxidativo y el daño oxidativo a biomoléculas (ADN, proteínas y lípidos) así como de las defensas antioxidantes hoy día constituye un campo de estudio establecido en toxicología

ambiental y ecotoxicología, debido a que numerosos contaminantes de diferente naturaleza son capaces de generar este efecto.

■ EVALUACIÓN DE BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS EN ESPECIES ACUÁTICAS

La generación de estrés oxidativo puede ocurrir naturalmente en macrófitas acuáticas como *Ceratophyllum demersum* (L.) (Fam. Ceratophyllaceae), por ejemplo durante la biotransformación de microcistina-LR, una toxina de cianobacterias comunes en cuerpos de agua dulce (Pflugmacher, 2004). Estas toxinas son producidas y retenidas en las células de las cianobacterias durante el florecimiento o proliferación poblacional, pero pueden liberarse a la columna de agua cuando las células están senescentes por ejemplo; y de esta manera quedar disponibles para ser incorporadas por invertebrados, peces y plantas. Estos organismos son capaces de detoxificar las toxinas, modificando su estructura química pero con el consecuente efecto de estrés oxidativo en las células del animal o planta que las acumulen.

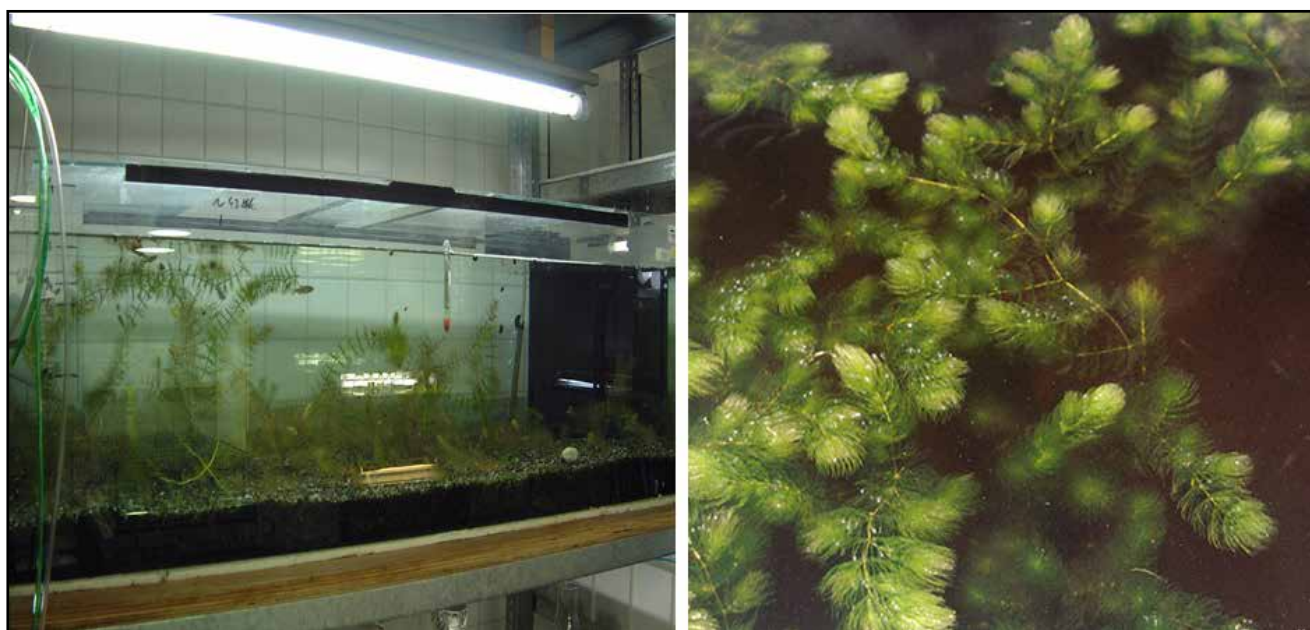


Figura 2: *Ceratophyllum demersum* en laboratorio. Fuente: IGB Berlín-Dr. Stephan Pflugmacher.

Así, la actividad de la enzima detoxificante glutatión-S-transferasa (GST), o de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) entre otras, pueden ser utilizadas como biomarcadores, capaces de caracterizar el mecanismo de toxicidad de las cianotoxinas.

C. demersum es una especie flotante, dulceacuícola y cosmopolita, que habita regiones templadas y tropicales (Figura 2). Este organismo se ha utilizado como biomonitor de metales pesados (Devi y Prasad, 1998) y además, en ensayos de laboratorio para evaluar biomarcadores de contaminantes de origen industrial como los bifenilos policlorados (PCBs) (Menone y Pflugmacher, 2005) y agroquímicos como la cipermetrina (Menone y col., 2005).

Por otra parte, en zonas estuariales, se destacan las especies del género *Spartina* (Familia Poaceae), caracterizadas como potencialmente útiles para biomonitorar ecosistemas costeros debido a su abundancia en el intermareal y a su distribución geográfica amplia en zonas templadas (Padinha y col., 2000). En un estudio llevado a cabo en USA con la especie *S. alterniflora* (Loesel) se observó que la sensibilidad entre plantas e invertebrados no era consistente. De doce sedimentos que afectaron significativamente el crecimiento de las plántulas, diez no fueron tóxicos para los invertebrados; demostrando que las especies vegetales proveen información que puede perderse si sólo se utilizan especies animales en este tipo de estudio (Lewis y col., 2001). *S. densiflora*

(Brongn) es una especie nativa de la costa este de Sudamérica, y hoy día una de las tres especies de mayor distribución a nivel mundial. Un estudio realizado entre el sur de Brasil y la costa norte patagónica argentina mostró que ambas *Spartinas*, conjuntamente con *Sarcocornia perennis* (P. Mill) son las especies que dominan las marismas, es decir, las más representativas de esos ambientes (Isacch y col., 2006). *S. densiflora* es un organismo bioingeniero, tolerante a un amplio espectro de condiciones ambientales, que habita no sólo el sedimento intermareal sino costas arenosas, rocosas e incluso playas de canto rodado (Bortolus, 2006) (Figura 3). Algunos ejemplos de estudios de estrés oxidativo son aquellos donde se evaluaron las actividades de los sistemas antioxidantes en



Figura 3: *Spartina densiflora* en las marismas de la laguna costera Mar Chiquita (provincia de Buenos Aires). Fotografía tomada por la autora en Febrero de 2012.



Figura 4: *Myriophyllum quitense* en laboratorio. **Fuente:** Dras. Débora Pérez y Mirta Menone.

S. densiflora proveniente de las marismas de Odiel, en España, observándose que estuvieron moduladas en base al grado de contaminación de los diferentes sitios muestreados (Martínez-Domínguez y col., 2008). Hemos estudiado a *S. densiflora* proveniente de la laguna costera Mar Chiquita (provincia de Buenos Aires) y sabemos que es una acumuladora eficiente de contaminantes orgánicos (plaguicidas organoclorados y PCBs) (Menone y col., 2000) y que es posible realizar aclimatación de ejemplares en laboratorio y análisis de diferentes biomarcadores bioquímicos en sus tejidos (Lukaszewicz y col., 2010, Menone y col., 2012). En un proyecto reciente entre países del Mercosur, se tomaron muestras de diferentes zonas estuariales pertenecientes a las costas brasileras, chilenas y argentinas. En ellas se comparó la capacidad de *S. densiflora* de acumular contaminantes característicos de cada ambiente. Se observó que la raíz fue el principal órgano de acumulación de metales pesados, por ejemplo mercurio (Hg) en el estuario Lengua de Chile (Díaz Jaramillo y col., 2014). En el mismo sitio también se detectaron las con-

centraciones más elevadas de hidrocarburos poliaromáticos (PAHs), si bien para estos contaminantes la acumulación se observó en las hojas (Costa y col., 2014).

■ BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS VINCULADOS CON AGROQUÍMICOS DE USO ACTUAL EN ARGENTINA

En nuestro grupo de trabajo nos interesamos en conocer qué tan tóxicos podían ser algunos agroquímicos usados masivamente en Argentina, y estudiamos el posible efecto de estrés oxidativo del recientemente prohibido insecticida endosulfán (ES) y del fungicida azoxystrobina (AZX). La planta utilizada fue *Myriophyllum quitense* (Kunth) (Fam. Haloragaceae), una especie de distribución amplia en América del Sur, del Norte y Central (Orchard, 1981). Es una hierba frecuente en lagunas, arroyos y tanques australianos. En cuanto a su hábito de crecimiento es sumergida, con raíces arraigadas al sedimento, pero con hojas flotantes (Figura 4).

En ensayos de laboratorio hemos

observado que las actividades de las enzimas CAT, GST y glutatión reductasa (GR) se incrementaron respecto a las actividades enzimáticas de plantas que no estaban expuestas al endosulfán (plantas control). Asimismo, se evidenció un incremento de los niveles de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), una de las ROS, demostrándose el efecto de estrés oxidativo generado por el insecticida (Menone y col., 2008). Recientemente, también en *M. quitense* analizamos parámetros similares ante la exposición a AZX, un compuesto de uso actual cuyo mecanismo de toxicidad es la inhibición de la respiración mitocondrial en hongos y otros organismos no fúngicos (Sauter y col., 1995). Residuos de este compuesto ya se han detectado en arroyos y otros cuerpos de agua cercanos a campos de agricultura donde se aplica, en concentraciones que oscilan entre 7 y 30 $\mu\text{g/L}$ (Bony y col., 2008; Komárek y col., 2010). Con el fin de simular un pulso de contaminación esperable en la naturaleza, hemos realizado exposiciones de laboratorio con concentraciones de entre 0,1 y 100 $\mu\text{g/L}$ de AZX, con una duración de 24 horas. Los

resultados obtenidos han mostrado la inhibición de algunas enzimas antioxidantes como CAT y guaya-col-peroxidasa (POD), así como un incremento en productos de oxidación de ácidos grasos de membrana, como el malondialdehído (MDA). Así, hemos comprobado que la AZX genera estrés y daño oxidativo a 50 $\mu\text{g/L}$ (Garanzini y Menone, 2015). Si bien esta concentración del fungicida es mayor a los niveles ambientales, podría transformarse en relevante considerando el uso masivo y sostenido en el tiempo del compuesto en la agricultura nacional e internacional. Por otra parte, en *M. quitense* expuesta a 50 y 100 $\mu\text{g/L}$ de AZX también se ha observado daño en ácidos nucleicos, medido mediante un ensayo que cuantifica la fragmentación de ADN (Garanzini y Menone, 2015).

■ EVALUACIÓN DE LA GENOTOXICIDAD EN ESPECIES ACUÁTICAS

Las plantas permiten trabajar fácilmente con meristemas y tejidos reproductivos para analizar efectos asociados a modificaciones en la dinámica del ciclo celular o de la meiosis, respectivamente. También

se pueden detectar alteraciones cromosómicas producto del efecto directo de diferentes agentes sobre el ADN o las proteínas asociadas al mismo (Wulff; Andrioli, 2006). En 1993 se estableció el Programa Internacional de Bioensayos en Plantas, IPPB (International Program on Plant Bioassays) para el monitoreo tanto de la calidad del agua, aire y suelo (Ma, 1998). Este programa incluyó el uso de diferentes bioensayos, tales como aberraciones cromosómicas en meristemas apicales de raíces de *Allium cepa* (n.v.: cebolla) y *Vicia faba* (n.v.: haba), mutaciones en pelos estaminales y micronúcleos en *Tradescantia pallidosa* y mutaciones en embriones de *Arabidopsis thaliana*. Hoy en día se los emplea en la detección de genotoxicidad de sitios contaminados y de emisiones de aguas residuales industriales y urbanas, mediante el biomonitoreo *in situ*. Además, se han protocolizado los ensayos de micronúcleos y aberraciones cromosómicas en otras especies de plantas terrestres como por ejemplo en *Pisum sativum* (n.v.: arveja) (Grant y Owens, 2001) o *Lycopersicon esculentum* (n.v.: tomate) (Grant y Owens, 2002).

Los ensayos *in situ* en ecosiste-

mas acuáticos utilizando plantas terrestres biomonitoras transplantadas sirven para identificar la presencia de agentes genotóxicos, sin embargo, ellas no son capaces de revelar el impacto en las poblaciones acuáticas crónicamente expuestas en su hábitat natural. Este problema puede solucionarse utilizando especies integrantes de la flora natural del lugar de estudio logrando resultados más realísticos. Nuestro grupo de trabajo ha investigado la genotoxicidad potencial de los agroquímicos antes mencionados, mediante la cuantificación de aberraciones cromosómicas en mitosis y fragmentación del ADN en la macrófita *Bidens laevis* (L.) (Familia Asteraceae). Esta especie es herbácea perenne (Figura 5) y posee una amplia distribución en toda América (Lahitte y Hurrell, 1997). En Argentina se la encuentra en pajonales y zonas anegadas de las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe y Entre Ríos (Cabrera y col., 2000) así como en la ribera de lagunas y arroyos pampásicos. Es fácil de propagar en el laboratorio, con un porcentaje de germinación de semillas mayor al 70% posibilitando la obtención de grupos de plántulas para realizar los bioensayos de exposición a contaminantes.



Figura 5: *Bidens laevis* en la ribera de laguna La Brava (provincia de Buenos Aires-Argentina). Fotografías tomadas por la autora en Marzo de 2015.

En cuanto a sus características citológicas, es de destacar que posee un número cromosómico relativamente bajo ($2n = 24$) y alta proliferación celular en el ápice de las raíces, con un índice mitótico de 4-12%. De esta manera, podemos considerar a *B. laevis* como una macrófita óptima para estudiar genotoxicidad a nivel citogenético (Menone y col., 2015). De esta manera, hemos seleccionado a esta especie del medio acuático con el fin de analizar la contaminación acuática, obteniéndose datos más ajustados a la realidad.

Dentro de los biomarcadores más comúnmente utilizados se encuentran las aberraciones cromosómicas en anafase-telofase (ACAT), fácilmente detectables durante la división celular. Hemos detectado un incremento de ACAT, tanto en las raíces de plántulas de dos meses de edad como en las radículas emergentes de semillas expuestas al insecticida endosulfán, a concentraciones de entre 5 y 100 $\mu\text{g/L}$ (Pérez y col., 2011). Además, hemos observado una respuesta dependiente de la concentración, es decir, mayor frecuencia de aberraciones cuanto mayor es la concentración del endosulfán, característica muy importante del biomarcador, debido a que permite determinar la magnitud del efecto genotóxico. Las aberraciones que predominaron fueron cromosomas rezagados y "vagabundos", derivados de la interacción del tóxico

con el huso acromático (Figura 6). Este tipo de anomalías finalmente originan células hijas con un complemento cromosómico incompleto, dando lugar a aneuploidías. Este efecto fue observado en exposiciones de laboratorio tanto al ingrediente activo endosulfán (en proporción isómero alfa/ isómero beta, 7:3) (Pérez y col., 2008, 2011), como al formulado comercial "Endosulfan 35 Nufarm" (Pérez-Lukaszewicz y col., 2014). En estudios preliminares que hemos realizado recientemente, también hemos hallado un incremento de ACAT en raíces de *B. laevis* expuestas a concentraciones de entre 0,1 y 100 $\mu\text{g/L}$ del fungicida AZX (Pérez y col., 2013).

■ GLOSARIO

Aneuploidía: variación del número cromosómico que no es múltiplo exacto del juego cromosómico haploide (un ejemplo común es la monosomía que consiste en la ausencia de uno de los cromosomas integrantes de un par).

Bioensayo: Experimentos donde se miden efectos tóxicos de compuestos específicos o mezclas de ellos, bajo condiciones controladas.

Bioingeniero: organismos capaces de modificar, mantener o crear habitats.

Biomonitoreo: uso de organismos

vivos como "sensores" en la evaluación de la calidad del agua/sedimento para detectar cambios en un cuerpo de agua e indicar si la vida acuática puede estar en peligro.

Biotransformación: Cambios en la estructura o naturaleza de un compuesto mediado por actividad enzimática en animales y plantas. El metabolismo de contaminantes se divide en tres fases, una primera de funcionalización, una segunda de conjugación con compuestos endógenos como glucosa o glutatión, y una tercera de excreción de metabolitos generalmente más polares que el compuesto original.

Cianobacterias: (= cianofitas) Grupo de bacterias, es decir células procariontas, que obtienen su energía mediante la fotosíntesis. Antigamente llamadas algas azul-verdes.

Estrés oxidativo: desbalance entre la generación y la neutralización, mediada por mecanismos antioxidantes, de especies reactivas del oxígeno en las células de un organismo.

Genotoxicidad: capacidad para causar daño al material genético por parte de agentes físicos, químicos o biológicos

Índice mitótico: porcentaje de células en estadios de mitosis (profase + metafase + anafase + telofase) sobre un total de 1000 células observadas.

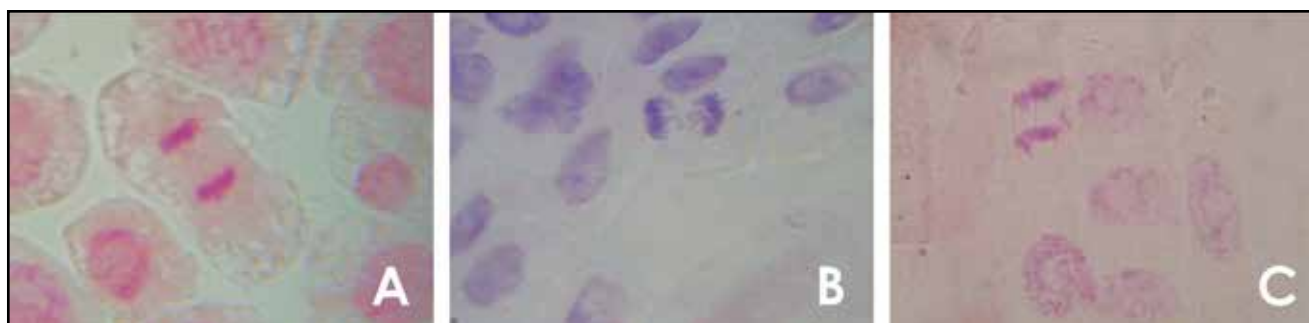


Figura 6: Aberraciones cromosómicas en raíces de *Bidens laevis*. A: anafase normal, B: cromosomas rezagados y C: puente anafásico. Fuente: Dr. Germán Lukaszewicz.

Meristema: tejido vegetal responsable del crecimiento, constituido por células con capacidad de sufrir división

Micronúcleo: corpúsculo pequeño de cromatina que permanece en el citoplasma, independiente del núcleo celular. Se origina por fragmentación cromosómica o como consecuencia de la disfunción del huso acromático durante la división celular (en mitosis o meiosis).

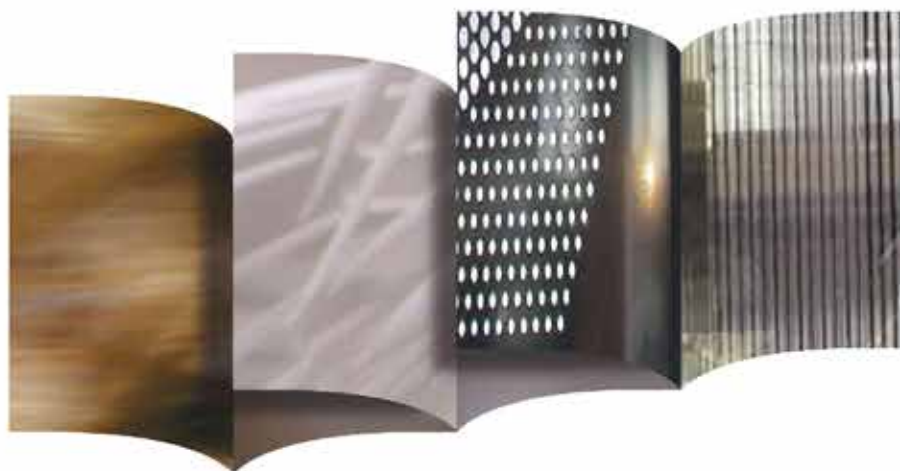
■ AGRADECIMIENTOS:

Gracias a los integrantes del grupo de investigación Ecotoxicología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales por su esfuerzo permanente en el trabajo y a la Dra. E. Camadro por su apoyo permanente en el desarrollo de la línea de investigación de genotoxicidad en plantas acuáticas. Agradezco también a la Lic. S. Bachmann por la lectura crítica del manuscrito y al CONICET, UNMDP y FONCYT por los subsidios que nos han otorgado en los últimos años para financiar nuestras investigaciones.

■ BIBLIOGRAFÍA

- Arts G, Davies J, Dobbs M, Ebke P, Hanson M, Hommen U, Knauer K, Loutseti S, Maltby L, Mohr S, Poovey A, Poulsen V. (2010). AMEG: the new SETAC advisory group on aquatic macrophyte ecotoxicology. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 17: 820-823.
- Bony S, Gillet C, Bouchez A, Margoum C, Devaux A. (2008). Genotoxic pressure of vineyard pesticides in fish: Field and mesocosm surveys. *Aquat. Toxicol.* 89: 197-203.
- Bortolus A. (2006). The austral cordgrass *Spartina densiflora* Brong.: its taxonomy, biogeography and natural history. *J. Biogeogr.* 33: 158-168.
- Brain RA, Cedergreen N. (2009). Biomarkers in aquatic plants: selection and utility. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 198: 49-109.
- Cabrera AL, Crisci JV, Deluchi G, Freire SE, Giuliano DA, Iharlegui L, Katinas L, Sáenz AA, Sancho G, Urtubey E. (2000). Catálogo Ilustrado de las Compuestas (=Asteráceae) de la Provincia de Buenos Aires, Argentina: Sistemática, Ecología y Usos. Zavaro, CA, Buenos Aires. pp 136.
- Costa P, Lupi L, Mitton F, Diaz Jaramillo M, Garanzini DS, Jara S, Lukaszewicz G, González M, Miglioranza KSB, Fillmann G, Barra R, Menone ML. (2014). Hidrocarburos poliaromáticos (PAHs) en sedimentos y *Spartina densiflora* de estuarios sudamericanos. V Congreso SETAC Argentina. Neuquén. 22- 25 Octubre.
- Devi SR, Prasad MNV. (1998). Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L (Coontail), a free floating macrophyte: response of antioxidant enzymes and antioxidants. *Plant Sci.* 138: 157-165.
- Diaz Jaramillo M, Garanzini DS, Jara S, Lukaszewicz G, González M, Mitton F, Lupi L, Costa P, Miglioranza KSB, Fillmann G, Barra R, Menone ML. (2014). Uso de la macrófita estuarial *Spartina densiflora* para el biomonitoreo de metales pesados en ecosistemas estuariales sudamericanos. V Congreso SETAC Argentina. Neuquén. 22- 25 Octubre.
- Grant WF, Owens E. (2001). Chromosome aberration assays in *Pisum* for the study of environmental mutagens. *Mutat. Res.* 488: 93-118.
- Grant WF, Owens E. (2002). *Lycopersicon* assays of chemical/radiation genotoxicity for the study of environmental mutagens. *Mutat. Res.* 511: 207-237.
- Isacch JP, Costa CSB, Rodríguez-Gallego L, Conde D, Escapa M, Gagliardini DA, Iribarne OO. (2006). Distribution of saltmarsh plant communities associated with environmental factors along a latitudinal gradient on the south-west Atlantic coast. *J. Biogeogr.* 33: 888-900.
- Komárek M, Čadková E, Chrástný V, Bordas F, Bollinger JC. (2010). Contamination of vineyard soils with fungicides: A review of environmental and toxicological aspects. *Environ. Int.* 36: 138-151.
- Lahitte HB, Hurrell JA. (1997). Plantas de la costa. Literature of Latin America (L.O.L.A). Publishers, Bs. As., 200 pp.
- Lewis MA, Weber DE, Stanley RS, Moore JC. (2001). The relevance of rooted vascular plants as indicators of estuarine sediment quality. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 40: 25- 34.
- Lukaszewicz G, Ondarza P, Shimabukuro V, Miglioranza K, Monserat JM, Menone M. (2010). Comparación metodológica de la determinación de malondialdehído (MDA) en la macrófita estuarial *Spartina densiflora* expuesta a Paraquat. III Congreso Argentino de SETAC ARG. Santa Fe, 12-14 Mayo.
- Ma TH. (1998). The International program on plant bioassays and the report of the followed-up study after the hands-on workshop in China. *Mutat. Res.* 426: 103-106.

- Maltby L, Arnold D, Arts G, Davies J, Heimbach F, Pickl C, Poulsen V. (2010). Aquatic macrophyte risk assessment for pesticides. Boca Raton: CRC Press, 135 pp.
- Menone ML, Mitton F, Diaz Jaramillo M, González M, Lukaszewicz G, Garanzini D, Barra R, Miglioranza KS, Fillmann G. (2012). Uso de biomarcadores en la macrófita *Spartina densiflora* en el estudio de la contaminación estuarial de Brasil, Chile y Argentina. IV Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental SETAC Argentina. Buenos Aires, 16-19 Octubre.
- Menone ML, Pérez DJ, Lukaszewicz G, Camadro EL. (2015). Identificación de hidrófitas de la Argentina para estudios de genotoxicidad de contaminantes acuáticos. J. Basic Appl. Genet. En prensa.
- Menone M, Pesce S, Diaz M, Moreno V, Wunderlin D. (2008). Endosulfan induces oxidative stress and changes on detoxication enzymes in the aquatic macrophyte *Myriophyllum quitense*. Phytochem. 69: 1150-1157.
- Menone ML, Pflugmacher S. (2005). Effects of 3-chlorobiphenyl on photosynthetic oxygen production, glutathione content and detoxication enzymes in the aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum*. Chemosphere 60: 79-84.
- Menone ML, Steinberg CEW, Pflugmacher S. (2005). Evaluation of photosynthetic oxygen production, pigment pattern, glutathione content and detoxication enzymes activity in the aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* exposed to cypermethrin. J. Appl. Bot. Food Qual. 79: 77-82.
- Orchard AE. (1981). A revision of South American *Myriophyllum* (Haloragaceae), and its repercussions on some Australian and North American species. Brunonia 4: 27-65.
- Padinha C, Santos R, Brown, MT. (2000). Evaluating environmental contamination in Ria Formosa (Portugal) using stress indexes of *Spartina maritima*. Mar. Environ. Res. 49: 67-78.
- Pérez DJ, Lukaszewicz G, Menone ML, Amé MV, Camadro EL. (2014). Genetic and biochemical biomarkers in the macrophyte *Bidens laevis* L. exposed to a commercial formulation of endosulfan. Environ. Toxicol. 29: 1063-1071.
- Pérez DJ, Lukaszewicz G, Menone ML, Camadro EL. (2011). Sensitivity of *Bidens laevis* L. to mutagenic compounds. Use of chromosomal aberrations as biomarkers of genotoxicity. Environ. Pollut. 159: 281-286.
- Pérez DJ, Menone ML, Camadro EL, Moreno VJ. (2008). Genotoxicity evaluation of the insecticide endosulfan in the wetland macrophyte *Bidens laevis* L. Environ. Pollut. 153: 695-698.
- Pérez DJ, Menone ML, Tognetti J. (2013). Aberraciones cromosómicas en la macrófita palustre *Bidens laevis* expuesta al fungicida azoxystrobina. XLII Congreso Argentino de Genética. III Reunión Regional SAG-NOA. Salta. 20-23 Octubre.
- Pflugmacher S. (2004). Promotion of oxidative stress in the aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* during biotransformation of the cyanobacterial toxin microcystin-LR. Aquat. Toxicol. 70: 169-178.
- Sandermann H, Diesperger H, Schedel D. (1977). Metabolism of xenobiotics by plant cell cultures. En: W Barz, E Reinhard and Zenk, H (Eds.). Plant tissue culture and its biotechnological application (pp. 178- 196). Berlin: Springer.
- Sauter H, Ammerman E, Benoit R, Brand S, Gold RE, Grammenos W, Köhl H, Lorenz G, Muller B, Röhl F, Schirmer U, Speakman JB, Wenderoth B, Wingert H. (1995). Mitochondrial respiration as a target for antifungals: Lessons learned from research on strobilurins. En: Antifungal Agents – Discovery and Mode of Action. Dixon GK, Copping LG, Holloman DW (Eds.). Oxford: BIOS, pp. 173-191.
- Wetzel RG. (2001). Limnology: lake and river ecosystems. Monograph- 3^{ra} ed. New York: Academic, p 1006.
- Wulff A, Andrioli N. (2006). Evaluación de daño genético en modelos vegetales. En: Mudry, M.D., Carballo, M.A. (Eds.). Genética Toxicológica. Buenos Aires: De Los Cuatro Vientos, pp 317-337.



Desarrollo y gestión de proyectos científicos y tecnológicos innovadores

FUNINTEC es una organización sin fines de lucro creada por la Universidad de San Martín cuyo objetivo es promover y alentar la investigación, el desarrollo tecnológico y la transferencia de conocimientos a los sectores público y privado, sus empresas y en particular a las PyMES.

Dentro de los alcances previstos por la Ley de Innovación Tecnológica, funciona como vínculo entre el sistema científico tecnológico y el sector productivo.

CONTACTO:
www.funintec.org.ar

Fundación
Innovación
y Tecnología

FUNINTEC

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN



Recuperación de tecnologías ancestrales y sustentables en Jujuy

La vicuña como modelo de producción sustentable

Ciencia e historia se unen para preservar a la vicuña

*Cazando vicuñas anduve en los cerros
Heridas de bala se escaparon dos.*

*- No caces vicuñas con armas de fuego;
Coquena se enoja, - me dijo un pastor.*

*- ¿Por qué no pillarlas a la usanza vieja,
cercando la hoyada con hilo punzó ?*

*- ¿Para qué matarlas, si sólo codicias
para tus vestidos el fino vellón ?*

Juan Carlos Dávalos, Coquena

Lo primero es pedir permiso a la Pachamama. Porque a ella, en la cosmovisión andina, pertenecen las vicuñas que se extienden por el altiplano de Perú, Bolivia, Chile y Argentina. Una ceremonia ancestral, unida a la ciencia moderna, permite que comunidades y científicos argentinos exploten de manera sustentable un recurso de alto valor económico y social.

La vicuña es una especie silvestre de camélido sudamericano que habita en la puna. Hasta 1950-1960 estuvo en serio riesgo de extinción debido a la ausencia de planes de manejo y conservación. Desde la llegada de los españoles se comenzó con la caza y exportación de los cueros para la obtención de la fibra, que puede llegar a valer U\$600 por kilo, lo que llevo a la casi desaparición de estos animales. Por ese entonces, la población de vicuñas en América era cercana a los 4 millones de ejemplares, en 1950 no eran más de 10.000.

A fines de la década del 70 Argentina, Bolivia, Chile, Perú y Ecuador firmaron un Convenio para la conservación y manejo de la vicuña que permitió recuperar su población hasta contar en la actualidad con más de 76 mil ejemplares en nuestro país.

En Santa Catalina, Jujuy, a 3.800 metros sobre el nivel del mar, investigadores de CONICET, junto a comunidades y productores locales, han logrado recuperar una tecnología prehispánica sustentable para la obtención de la fibra de vicuña. Se trata de una ceremonia ancestral y captura mediante la cual se arrean y esquilan las vicuñas silvestres para obtener su fibra. Se denomina chaku y se realizaba en la región antes de la llegada de los conquistadores españoles. Según Bibiana Vilá, investigadora independiente de CONICET y directora del grupo Vicuñas, Camélidos y Ambiente (VICAM) *"Hoy podemos pensar en volver a hacer ese chaku prehispánico sumado a técnicas que los científicos aportamos para que las vicuñas pasen por toda esa situación sufriendo el menor stress posible. Las vicuñas vuelven a la naturaleza, la fibra queda en la comunidad, y nosotros tomamos un montón de datos científicos."*

El chaku

El chaku es una práctica ritual y productiva para la esquila de las vicuñas. Durante el imperio inca, las cacerías reales o chaku eran planificadas por el inca en persona. En esta ceremonia se esquilaba a las vicuñas y se las liberaba nuevamente a la vida silvestre. La fibra obtenida era utilizada para la confección de prendas de la elite y su obtención estaba regulada por mecanismos políticos, sociales, religiosos y culturales. Se trata de un claro ejemplo de uso sustentable de un recurso natural. Hugo Jacobaccio, zoológico e investigador principal de CONICET, explica que *"actualmente el chaku concentra hasta 80 personas, pero durante el imperio inca participaban de a miles. Hoy las comunidades venden esa fibra a acopiadores textiles y obtienen un ingreso que complementa su actividad económica principal, el pastoreo de llamas y ovejas"*.

El proceso comienza con la reunión de todos los participantes, luego toman una soga con cintas de colores reunidos en semicírculo y arrean lentamente a las vicuñas guiándolas hacia un embudo de red de 1 km de largo que desemboca en un corral. Cuando los animales están calmados se los esquila manipulándolos con sumo cuidado para reducir el stress y se los libera. Hoy, 1500 años después del primer registro que se tiene de esta ceremonia, la ciencia argentina suma como valor agregado: el bienestar animal y la investigación científica. En tiempo del imperio Inca, el chaku se realizaba cada cuatro años, actualmente se realiza anualmente sin esquila a los mismos animales *"se van rotando las zonas de captura para que los animales renueven la fibra"* explica Jacobaccio. Según Vilá *"es un proyecto que requiere mucho trabajo pero que demuestra que la sustentabilidad es posible, tenemos un animal vivo al cual esquilamos y al cual devolvemos vivo a la naturaleza. Tiene una cuestión asociada que es la sustentabilidad social ya que la fibra queda en la comunidad para el desarrollo económico de los pobladores locales."*

Yanina Arzamendia, bióloga, investigadora asistente de CONICET y miembro del equipo de VICAM, explica que se

esquilan sólo ejemplares adultos, se las revisa, se toman datos científicos y se las devuelve a su hábitat natural. Además destaca la importancia de que el chaku se realice como una actividad comunitaria *“en este caso fue impulsada por una cooperativa de productores locales que tenían vicuñas en sus campos y querían comercializar la fibra. Además participaron miembros del pueblo originario, estudiantes universitarios y científicos de distintas disciplinas. Lo ideal es que estas experiencias con orientación productiva tengan una base científica.”*

Paradojas del éxito.

La recuperación de la población de vicuñas produjo cierto malestar entre productores ganaderos de la zona. Muchos empezaron a percibir a la vicuña como competencia para su ganado en un lugar donde las pasturas no son tan abundantes. En este aspecto el trabajo de los investigadores de CONICET fue fundamental, según Arzamendia *“el chaku trae un cambio de percepción que es ventajoso para las personas y para la conservación de la especie. Generalmente el productor ve a las vicuñas como otro herbívoro que compite con su ganado por el alimento y esto causa prejuicios. Hoy comienzan a ver que es un recurso valioso y ya evalúan tener más vicuñas que ovejas y llamas. Nuestro objetivo es desterrar esos mitos”,* concluye.

Pedro Navarro es el director de la Cooperativa Agroganadera de Santa Catalina y reconoce los temores que les produjo la recuperación de la especie: *“Hace 20 años nosotros teníamos diez, veinte vicuñas y era una fiesta verlas porque habían prácticamente desaparecido. En los últimos años se empezó a notar un incremento y más próximamente en el último tiempo ya ese incremento nos empezó a asustar porque en estas fincas tenemos ovejas y tenemos llamas”.* Navarro identifica la resolución de estos problemas con el trabajo del grupo VICAM: *“Yo creo que como me ha tocado a mí tener que ceder en parte y aprender de la vicuña y de VICAM, se puede contagiar al resto de la gente y que deje de ser el bicho malo que nos perjudica y poder ser una fuente más productiva.”*

La fibra de camélido

Además de camélidos silvestres como la vicuña o el guanaco, existen otros domesticados como la llama cuyo manejo es similar al ganado, para impulsar la producción de estos animales y su fibra, el Estado ha desarrollado dos instrumentos de fomento. En la actualidad se encuentran en evaluación varios proyectos para generar mejoras en el sector productor de fibra fina de camélidos que serán financiados por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. Se trata de dos Fondos de Innovación Tecnológica Sectorial destinados a la agroindustria y al desarrollo social que otorgarán hasta \$35.000.000 y \$8.000.000 respectivamente. Los proyectos destinados a la Agroindustria son asociaciones entre empresas y organismos del sector público con el objetivo de mejorar la calidad de la fibra de camélido doméstico a partir del desarrollo de técnicas reproductivas, mejoramiento genético e innovaciones en el manejo de rebaños; incorporar valor a las fibras a partir de mejoras en la materia prima o el producto final; permitir la trazabilidad de los productos para lograr su ingreso en los mercados internacionales y fortalecer la cadena de proveedores y generar empleos calificados.

La convocatoria Desarrollo Social tiene como fin atender problemas sociales mediante la incorporación de innovación en acciones productivas, en organización social, en el desarrollo de tecnologías para mejorar la calidad de vida de manera sostenible y fomentar la inclusión social de todos los sectores. Otorgará hasta \$8.000.000 por proyecto que mejore las actividades del ciclo productivo de los camélidos domésticos, la obtención y/o el procesamiento de la fibra, el acopio, el diseño y el tejido, el fieltro y la confección de productos.



LA ECOTOXICOLOGÍA APLICADA A LA EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN DE LOS RÍOS: EL CASO DEL RÍO RECONQUISTA

Palabras clave: bioensayos, puntos finales, aguas receptoras, sedimentos, polución.
Key words: bioassays, endpoints, receiving waters, sediments, pollution.

Desde un enfoque ecotoxicológico, los organismos vivos son herramientas esenciales para la evaluación de la calidad ambiental. Los estudios ecotoxicológicos se basan en el supuesto de que los organismos son sensibles a contaminantes presentes en el ambiente, siendo factible establecer una correlación causal entre el tipo y grado de contaminación y sus respuestas mediante variables biológicas seleccionadas, a las que se denomina puntos finales y que comprenden una amplia gama de efectos, agudos y crónicos, deletéreos o no deletéreos, en distintos niveles de organización, desde el molecular al poblacional. Los puntos finales seleccionados dependen fundamentalmente de los objetivos del estudio. La evaluación de los mismos se realiza experimentalmente en bioensayos de ecotoxicidad siendo la tendencia utilizar especies nativas.

El río Reconquista, en el noroeste de la provincia de Buenos Aires es uno de los cursos de agua de mayor importancia por su extensión, caudal y fundamentalmente porque gran parte de sus recorridos cruzan zonas de gran densidad poblacional. Se trata de uno de los ríos más contaminados de la Argentina. Nuestro grupo de investigación ha trabajado por décadas en la evaluación ecotoxicológica del río utilizando principalmente especies nativas, entre ellas un pez (*Cnesterodon decemmaculatus*), un crustáceo (*Hyalella curvispina*) y un anfibio (*Rinella arenarum*) haciendo hincapié tanto en los efectos de la exposición al agua o sedimento del río como a su caracterización toxicológica, con fines de validación de las mismas.

Este artículo relata algunos de los resultados de dichos estudios que representan aportes de incorporación potencial a programas de biomonitorio de ambientes acuáticos continentales.

From an ecotoxicological approach, living organisms are critical tools for the evaluation of the environmental quality. Toxicological studies are based on the premise that organisms are sensitive to pollutants present in the environment. So, they allow to establish a causal correlation between the type and level of contamination and its responses through selected biological variables called endpoints, that cover a wide variety of effects (acute and chronic, deleterious and non-deleterious) at different levels of organization (from the molecular to the population level). The selected endpoints are fundamentally dependent on the study's purposes. The endpoints assessment is carried out experimentally in ecotoxicity bioassays with a tendency to use native species.

The Reconquista river, in the northwest of the Buenos Aires province, is one of the most important water bodies due to its extension, flow and, fundamentally, because a great part of its trajectory goes through areas with high population density. It is one of the most polluted rivers in Argentina. Our research group has worked for decades on the ecotoxicological assessment of the river using primarily native species, including a fish (*Cnesterodon decemmaculatus*), a crustacean (*Hyalella curvispina*) and an amphibian (*Rinella arenarum*), with emphasis on the effects of water or sediment exposure and its toxicological characterization, with the aim of validating them.

This article presents some of the results of said studies which could potentially be added to biomonitoring programs of continental water environments.

El agua es uno de los recursos naturales más importantes que se encuentra en alto riesgo por acción

de la contaminación. La preservación de su biota es un objetivo primordial, como un fin en sí mismo

y, en parte, porque el agua es una fuente de biodiversidad potencialmente utilizable por el hombre.

Lucrecia Ferrari

-Programa de Ecofisiología Aplicada, PRODEA; Departamento de Ciencias Básicas; Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable, INEDES- Universidad Nacional de Luján,
-Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC-Bs As)

E-mail: lferrari@mail.unlu.edu.ar

En nuestro país, el conocimiento de la condición sanitaria de los ambientes acuáticos es incompleto y desigual, la evaluación de la calidad de las aguas dulces y el monitoreo integrado de la polución acuática se encuentra restringido tanto geográfica como temporalmente.

En el noroeste de la provincia de Buenos Aires, los ríos Matanza-Riachuelo, Reconquista y Luján son los de mayor importancia por su extensión, caudal y fundamentalmente porque gran parte de sus recorridos cruzan zonas de gran densidad poblacional (Informe de la Defensoría del Pueblo de la Nación, 2007). En particular, la cuenca del río Reconquista abarca una superficie de 1574 km². Su cauce principal tiene

82 kilómetros y su red de drenaje se extiende en catorce partidos, que albergan aproximadamente al 11% de la población del país (Salibián, 2006).

El Reconquista es un típico río de llanura, se origina de la confluencia de los arroyos La Choza, el Durazno y la Horqueta y desemboca en el río Luján, ingresando así al estuario del río de la Plata (Figura 1). La cuenca alta se halla en una zona con actividad agropecuaria que se continúa con actividades hortícolas y urbanizaciones, las que vierten sus residuos a algunos de los arroyos. Estos alimentan el lago San Francisco, originado por la construcción de la represa Roggero, que es considerada el inicio del cauce principal del

río. Una vez formado, el cauce principal sólo recibe caudales de cierta importancia por parte de los arroyos Las Catonas y Morón en la cuenca media. Aguas debajo del arroyo Morón se inicia la cuenca inferior, que luego se interna en las terrazas bajas del valle del Luján, sector en el que el cauce se bifurca en dos cursos naturales: los ríos Tigre y Reconquista Chico y en un tercer canal artificial (Canal Aliviador) que ingresan al Delta (Informe de la Defensoría del Pueblo de la Nación, 2007).

Respecto a la distribución de la población, el tramo superior presenta una baja densidad poblacional, con unas 72.000 ha utilizadas en actividades agropecuarias y a partir del tramo medio, una elevada densidad,

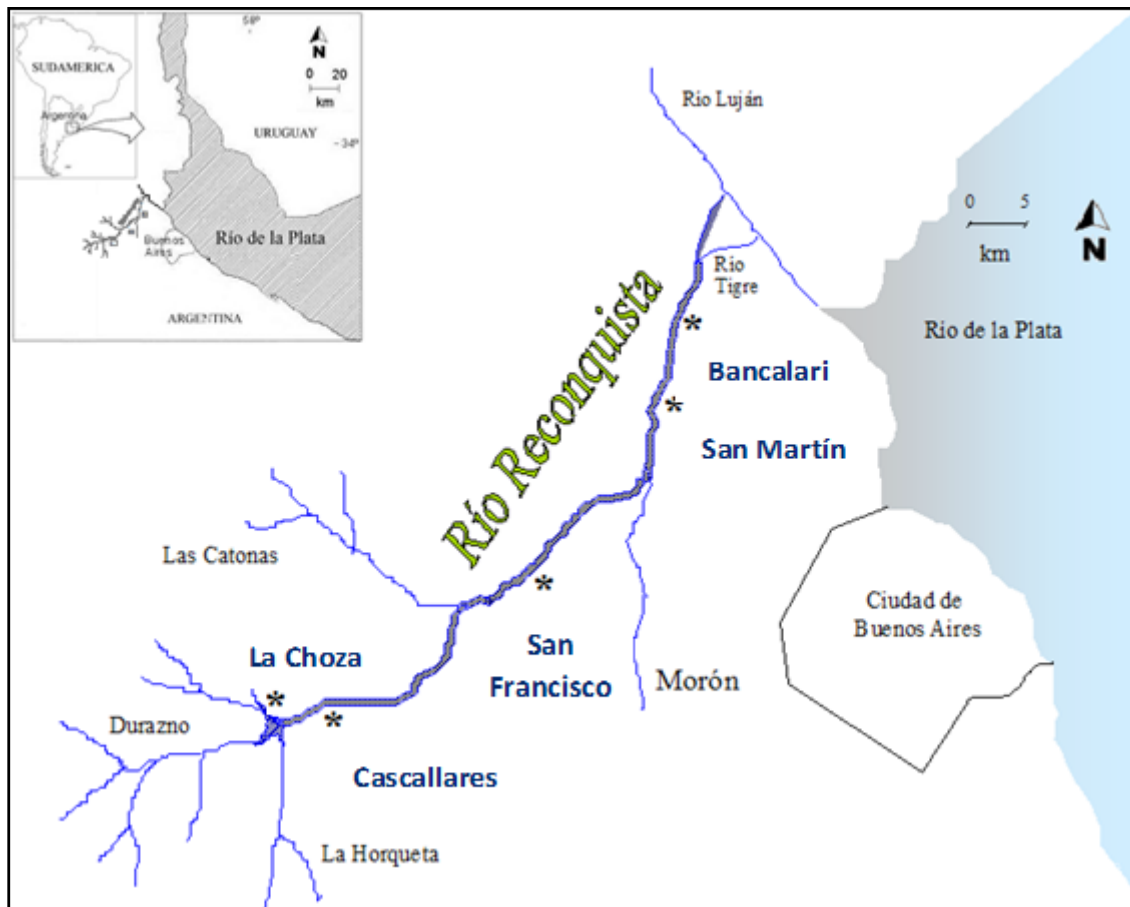


Figura 1: Localización geográfica de la cuenca del Río Reconquista y de los sitios de muestreo (*). La Choza en la desembocadura en el lago San Francisco, (Represa Roggero), Cascallares (Cas), San Francisco (SF), San Martín (Sm), Bancalari (Ban).

con unas 95.000 ha urbanizadas.

A partir de la brevísima descripción precedente se deduce tácitamente que el cauce del río Reconquista recibe aportes de contaminación de muy diversa índole a lo largo de todo su recorrido. La represa Roggero, en el partido de Moreno, construida con la finalidad de reducir los desbordes producidos por las crecidas del río (Sadañowski, 2003), puede ser considerada como una unidad transformadora de los materiales transportados por el río y la calidad de sus aguas, particularmente las provenientes de los arroyos La Chozza y el Durazno que ingresan a la represa con vertidos de tipo cloacal, entre otros (Basílico, 2014). Sin embargo, ya al inicio del tramo medio del río y con mayor intensidad luego de la confluencia del arroyo Morón, la calidad de las aguas disminuye drásticamente llegando hasta niveles de séptico cloacal.

Para encarar la evaluación de la contaminación de un río, es importante contextualizarlo como objeto de estudio. Así, podría definirse a un río como un ecosistema circulante, en el que conviven e interactúan las diferentes comunidades. En términos generales, la evaluación del estado de contaminación de un curso de agua es un estudio complejo, multidisciplinario en su enfoque y de obligada interpretación integrativa. Inevitablemente, se debe analizar la fisicoquímica del agua y de los sedimentos, la biodiversidad en las distintas comunidades acuáticas (plancton, necton, bentos, perifiton, etc.) y la influencia de los ecosistemas linderos sobre el ecosistema de estudio. Resulta muy valioso identificar variables indicadoras del "estado de salud" del curso de agua, y establecer líneas de base para los mismos a fin de contar con herramientas sólidas que puedan incorporarse a los estudios de monitoreo

de contaminación y ser utilizados en evaluación de impacto ambiental con fines predictivos. Es en este contexto, y como parte de la evaluación de la biodiversidad, donde se incorporan los estudios ecotoxicológicos tendientes a identificar efectos perjudiciales de la contaminación sobre la biota acuática. Subyace la necesidad de contar con conocimientos amplios de estos ambientes en condiciones "normales", sin la influencia de contaminación antrópica.

Es importante tener en cuenta que la evaluación de calidad de los ambientes hídricos está considerada por los lineamientos de la Ley nacional 24.051 de Residuos Peligrosos y su Decreto Reglamentario 831/93 y la Resolución 2423/93 de la Secretaría de Recursos Naturales y de Ambiente Humano. En la Resolución 619/98 son incorporados en forma de Anexo, por primera vez, lineamientos más precisos en la elaboración de evaluaciones ecotoxicológicas; se hace referencia a la evaluación de la toxicidad aguda, patogenicidad e infectividad de las muestras a analizar y se menciona la utilización de especies autóctonas en los ensayos de evaluación. Sin embargo, aún en la actualidad se carece de la adaptación de los límites sugeridos en los niveles guía a las características particulares de los cuerpos de agua del territorio nacional.

Desde un enfoque ecotoxicológico, los organismos vivos son herramientas esenciales para la evaluación de la calidad ambiental. Los estudios ecotoxicológicos se basan en el supuesto de que los organismos son sensibles a contaminantes presentes en el ambiente, siendo factible establecer una correlación causal entre el tipo y grado de contaminación y sus respuestas mediante variables biológicas seleccionadas,

a las que se denomina puntos finales o *endpoints* y que comprenden una amplia gama de efectos agudos y crónicos, deletéreos o no deletéreos, en distintos niveles de organización, desde el molecular al poblacional. Los puntos finales seleccionados dependen fundamentalmente de los objetivos del estudio. La evaluación de los mismos se realiza experimentalmente en bioensayos de ecotoxicidad.

Según Finney (1978), bioensayo es un experimento para estimar la naturaleza, constitución o potencia de un material mediante la reacción que sigue un organismo vivo. Un bioensayo típico involucra un estímulo o dosis absorbible que es aplicada a un sujeto cuya respuesta a dicho estímulo se estima mediante el cambio en algunas características biológicas o el estado del sujeto. Debe tenerse en consideración que los bioensayos ecotoxicológicos acuáticos tienen por objetivo último proveer del conocimiento necesario para proteger, a las poblaciones y comunidades de dichos ambientes, de la exposición a diferentes tóxicos en concentraciones que pueden estar asociadas a efectos adversos.

Las condiciones experimentales bajo las que se realizan los ensayos deben ser reproducibles y estandarizadas para permitir establecer la validez de una hipótesis determinada. Además, los organismos de ensayo deben preferentemente representar funciones ecológicas relevantes en el ambiente que se evalúa y contar con una importante base de conocimiento biológico. La literatura permite apreciar que existe un alto grado de estandarización para bioensayos que utilizan como puntos finales letalidad, sobrevivencia, reproducción, entre otros, con una gran variedad de especies de prueba y que son aplicables a aguas receptoras, sedimentos y efluentes en

condiciones de laboratorio. Números manuales de procedimiento o *guidelines* desarrollados por USEPA, EC, OECD, ASTM, ISO, IRAM, etc. indican las protocolizaciones para los mismos. Estos bioensayos son útiles para el propósito de monitoreo y, básicamente, apuntan a objetivos ecotoxicológicos netamente prácticos. No obstante, la gran mayoría de las especies estandarizadas y validadas para evaluaciones de ecotoxicidad pertenecen al Hemisferio Norte; las mismas fueron seleccionadas sobre la base de la presencia en sus ambientes y de su profundo conocimiento biológico. Esta situación plantea la necesidad de identificar y estudiar toxicológica y biológicamente el comportamiento de especies que sean representativas de nuestros ambientes, ya que aún en la actualidad la información ecotoxicológica sobre especies neotropicales es escasa; es entonces prioritaria la validación de especies nativas para evaluaciones ecotoxicológicas, a fin de disminuir la incertidumbre en los trabajos de monitoreo. Por lo tanto, la incorporación de bioensayos en el monitoreo de ecotoxicidad en Argentina requiere, entre otros aspectos, del desarrollo e instrumentación de metodologías adecuadas y adaptadas a nuestras necesidades, selección de organismos a utilizar y puntos finales en los ensayos.

Los esfuerzos de los ecotoxicólogos acuáticos se orientan cada vez con mayor intensidad en dirección a la identificación de variables biológicas de efecto temprano (biomarcadores) en especies centinela, cuantificando sus modificaciones luego de estar en contacto con tóxicos particulares o con mezclas de ellos (Lagadic y col., 1997). Los biomarcadores se definen ampliamente como indicadores de eventos en muestras o en sistemas biológicos y se refiere a cambios fisiológicos, bioquímicos, histológicos y com-

portamentales, entre otros, que se pueden detectar como consecuencia del contacto del organismo con el xenobiótico, desde un nivel de organización molecular y celular en adelante (Boudou y Ribeyre, 1997; Eissa y col., 2003). La medición de determinados biomarcadores en organismos provenientes de sitios contaminados pueden ser un importante componente informativo de un programa de monitoreo ambiental: tomando como referencia los niveles basales de dichos parámetros (ie. controles), el registro de alteraciones devienen en señales de alerta confiables del grado de deterioro de un ambiente determinado. En la última década los biomarcadores han adquirido un papel más activo en las evaluaciones ambientales siendo incorporados en varios programas de monitoreo ambiental en Europa y los Estados Unidos, aunque no ha sido incorporado aún dentro de los Programas Nacionales de monitoreo en nuestro país.

Resulta entonces un desafío diseñar programas de monitoreo de cursos de agua confiables, que tengan en consideración tanto el rigor metodológico requerido por los protocolos internacionales como las particularidades regionales y, en este sentido, es fundamental profundizar en el conocimiento biológico de la biota nativa. En relación a éste último punto, para el uso de biomarcadores en evaluaciones de contaminación ambiental a nivel regional es crucial conocer la variabilidad de fondo de los mismos en los organismos prueba.

Uno de los objetivos de nuestro grupo de trabajo es evaluar la utilidad de diferentes herramientas biológicas en la detección de deterioro de la calidad ambiental, particularmente de ríos y arroyos de la provincia de Buenos Aires, utilizando como organismos de ensayo prin-

cipalmente especies nativas, entre ellas un pez (*Cnesterodon decemmaculatus*), un anfípodo (*Hyalella curvispina*) y un anfibio (*Rinella arenarum*, ex *Bufo arenarum*), pero también algunas especies ya validadas, como el pez *Cyprinus carpio*.

■ LAS ESPECIES DE ENSAYO (Fig. 2)

***Rinella arenarum*.** El típico ciclo de vida bifásico de los anfibios, que implica transcurrir por un periodo en el agua, como embriones y larvas y en el ambiente terrestre como adultos, los expone a una gran variedad de condiciones ambientales. Típicamente, la etapa de vida acuática habitualmente se desarrolla en cuerpos de aguas someras, muchas veces asociados a áreas agrícolas. Por otro lado, las larvas de los anfibios tienen una epidermis muy permeable que incrementa la vulnerabilidad a las condiciones ambientales adversas poniéndolas en íntimo contacto con el ambiente, aumentando su susceptibilidad frente a los cambios, entre ellos, la presencia de contaminantes (Mann y col., 2009). Embriones y larvas también representan un componente clave en las tramas tróficas cumpliendo un importante rol en la transferencia de energía y nutrientes a través de las redes tróficas acuáticas y terrestres. Estas características hacen de los primeros estadios de vida de los anfibios organismos prueba muy valiosos y, además, desde una perspectiva experimental práctica resultan un excelente material, ya que mediante la inducción hormonal de ovulación de hembras, los embriones se obtienen en laboratorio por fertilización *in vitro* en gran cantidad: en *R. arenarum* (sapo común) cada ovoposición contiene entre 30000 y 40000 ovocitos (Mardirosian, 2014). Si bien *R. arenarum* aún no es una especie validada para su uso en bioensayos de monitoreo, es muy utilizada a nivel regional con fines experimentales por diferentes

grupos de investigación nacionales, especialmente en etapa embrionaria y, en este sentido, merece mencionarse los protocolos Anfitox (Herkovits y Pérez-Coll, 1999). La estandarización del protocolo de ensayo agudo de letalidad con larvas fue realizada por nuestro grupo (Ferrari y col., 1997).

***Cnesterodon decemmaculatus*.**

Se trata de un pequeño pez comúnmente nominado "madrecita". Es una especie bentopelágica, de agua dulce a salobre. Tiene una amplia distribución tanto en ríos y arroyos como en ambientes lénticos de la Argentina. Es omnívoro, vivíparo, con marcada diferenciación sexual, gran

éxito en su estrategia reproductiva, de rápido crecimiento y corta vida generacional. Estas características sumadas a su fácil mantenimiento en laboratorio han determinado su elección habitual como organismo prueba en bioensayos de ecotoxicidad a nivel regional. Por otra parte, desde hace algunos años ha sido incluida entre las especies recomendadas para la realización de bioensayos (IRAM 29112/2008), se ha normatizado su cría en laboratorio para fines experimentales (Somma y col., 2011a) y se han realizado estudios tendientes a su caracterización toxicológica (Mastrángelo y Ferrari, 2013). Además, por ser un habitante normal del río Reconquista (hasta

su tramo medio) ofrece una amplia gama de perspectivas experimentales y de estudio.

***Cyprinus carpio*.** Se trata de la carpa común. Es una especie introducida como pez ornamental y como fuente de alimento; actualmente tiene una distribución global. Se trata de un teleosteo bentopelágico, de agua dulce o salobre y se lo halla en aguas de corriente débil o nula; su alimentación está compuesta de algas, plantas acuáticas mayores, plancton, pequeños animales o partículas filtradas del barro (Eissa, 2009). Se trata de una especie validada y se encuentra entre las recomendadas para su uso en diferentes

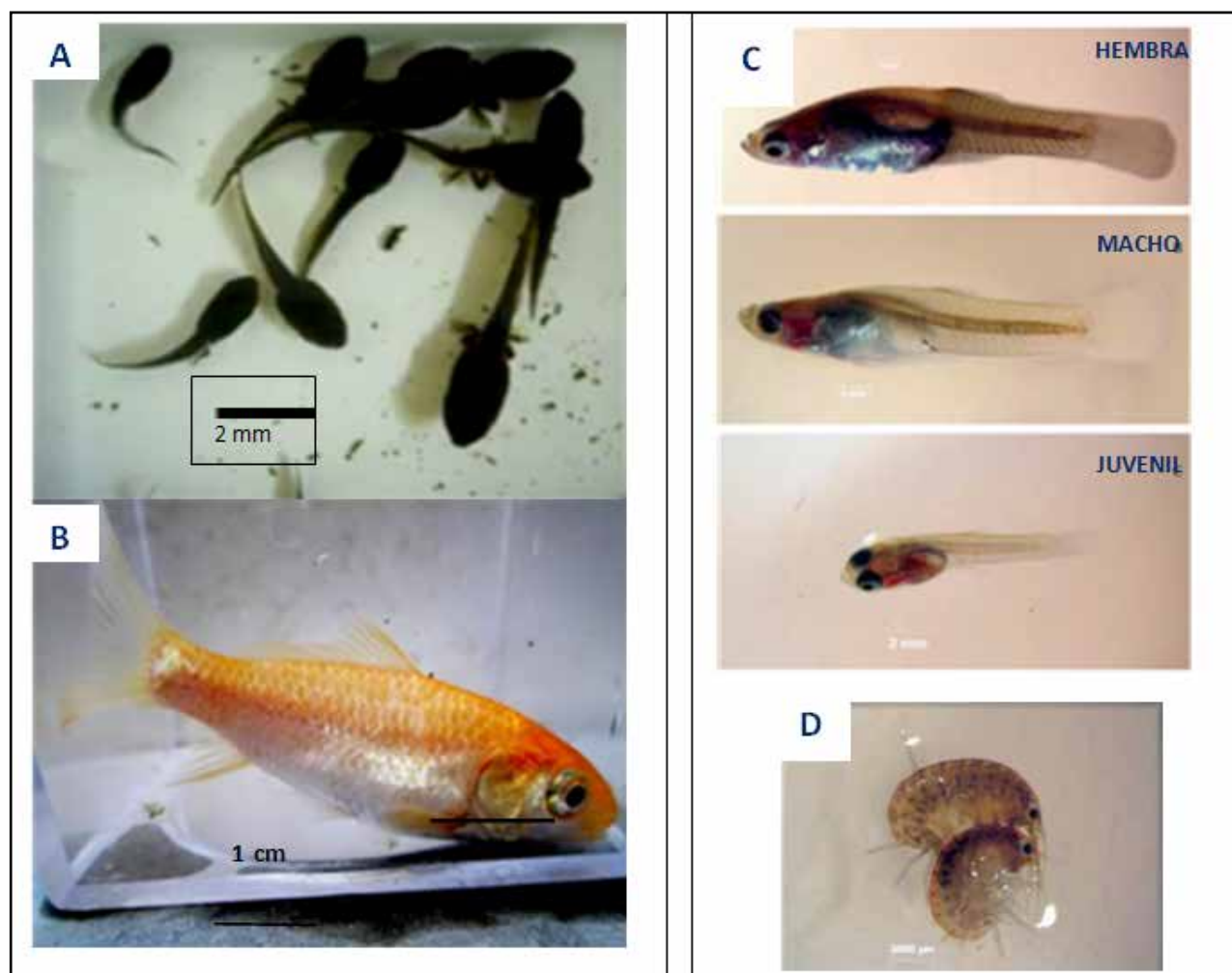


Figura 2: Especies prueba utilizadas para bioensayos A: larvas de *Rinella arenarum* ; B juvenil de *Cyprinus carpio*; C, hembra, macho y juvenil de *Cnesterodon decemmaculatus*; D pareja de *Hyalella curvispina*

bioensayos de toxicidad por USEPA, OECD entre otras; además, existe una enorme cantidad de bibliografía que la refiere como organismo de ensayo.

***Hyalella curvispina*.** Es un pequeño crustáceo (anfípodo) de agua dulce, normalmente epibentónico y asociado a macrófitas, representativo del complejo zoobentónico de Sudamérica austral. Esta especie es taxonómicamente cercana a la especie de anfípodo validada a nivel internacional, *Hyalella azteca*, y abundante en cuerpos de agua dulce de la región pampásica. Teniendo esto en consideración, desde hace años en Argentina se vienen realizando esfuerzos para evaluar efectos de contaminación de agua y sedimentos sobre *H. curvispina* (Di Marzio y col., 1999; 2005; Jergentz y col., 2004; Doyle y Momo, 2009; García, 2009; García y col., 2010; 2012; Peluso, 2011; Peluso y col., 2011; Mugni y col., 2011). Por lo tanto, por varias razones, incluyendo su amplia distribución geográfica, fácil cría en laboratorio (Somma y col., 2011b) y por ser parte de la fauna nativa en el área, hay una creciente preocupación por ampliar el conocimiento tanto de su biología como su respuesta a diferentes agentes tóxicos.

■ ALGUNOS RESULTADOS

En relación con la evaluación ecotoxicológica en el río Reconquista se han implementado bioensayos de ecotoxicidad con aguas receptoras y sedimentos para evaluación de letalidad y subletalidad y cuantificado efecto sobre diferentes biomarcadores bioquímicos, tanto *in situ* como en laboratorio; se ha contribuido a la estandarización de la cría en cautiverio de los organismos prueba y de protocolos de ensayo en diferentes matrices, e incorporado nuevos puntos finales.

■ EVALUACIÓN ECOTOXICOLÓGICA DEL AGUA

Los primeros trabajos se remontan a la década del 90, cuando se implementaron bioensayos agudos de mortalidad en aguas receptoras, utilizando como organismos de ensayo a juveniles de *C. decemmaculatus* y larvas de *R. arenarum*. La finalidad que se perseguía era la de incorporar información, que conformara una herramienta más en el diagnóstico de la calidad del agua del río Reconquista y correlacionar el perfil fisicoquímico del agua con el grado de toxicidad de la misma.

Los sitios de muestreo de aguas durante esta primera etapa fueron en el cauce del río. Para los bioensayos agudos de letalidad se seleccionaron muestras de agua de la estación Cascallares (Cas) a pocos kilómetros de la represa Roggero, que se tomó como sitio control del río; San Francisco, (SF), anterior a la desembocadura del arroyo Morón y las estaciones San Martín (SM) y Bancalari (Ban), posteriores a la desembocadura de aquel, que fueron los sitios de mayor polución (Figura 1). Se realizaron series mensuales de bioensayos agudos de letalidad durante dos años, con muestras de agua del río a las que también se efectuó un perfil fisicoquímico para determinar nivel de calidad del agua.

■ ALGUNOS ENSAYOS AGUDOS

Para la realización de los bioensayos se utilizaron cuatro aproximaciones en serie de pasos consecutivos. La primera fue la obtenida a partir de la exposición directa de los organismos prueba a las muestras de agua determinando la posibilidad de los mismos de sobrevivir (*test pass or fail*). Otra fue la evaluación de mortalidad de los organismos expuestos como respuesta cuántica frente a diferentes diluciones de las muestras

de agua para estimar como punto final al NOEC (*Non Observed Effect Concentration*) que correspondería a aquella dilución de la muestra que no presentó una respuesta (mortalidad) distinta de la de los controles. El tercer enfoque, que permite hacer mayores inferencias respecto a la toxicidad de la muestra, fue la estimación a diferentes tiempos de las diluciones que producen la mortalidad del 50% de los organismos expuestos (CL50s). El cuarto enfoque, propuesto como otra forma de expresar los resultados, correspondió a las llamadas Unidades de Toxicidad (UT), que, definidas arbitrariamente, vinculan los valores de CL50s obtenidos con la toxicidad de una muestra en particular (Rand, 1995; Bervoets y col., 1996). Las unidades de toxicidad aguda (UTas), en particular, son expresiones de toxicidad aplicadas tanto en la evaluación de efluentes y aguas receptoras así como para estudios con tóxicos (Vlaming y col., 2000; Maltby y col., 2000).

A modo de ejemplo se muestran en la Figura 3 algunos resultados de dos bioensayos realizados en dos meses consecutivos con larvas de *R. arenarum*. La información detallada se encuentra en Ferrari et al. (2005).

En la Figura 3 A y B se observa que: el agua de Cas no tiene efecto sobre la mortalidad, habilitando su uso como control natural; el agua de SM y Ban, así como la del arroyo Morón, producen 100% de mortalidad en las primeras 24 horas de exposición; que la dilución del agua de Ban al 50% si bien reduce la mortalidad en ambos casos muestra un efecto particularmente importante en uno de ellos (Figura 3B) indicando toxicidad diferencial entre muestras distintas de un mismo sitio. Es importante destacar que la respuesta letal determinada a 48 horas del inicio del ensayo permanece inalterada

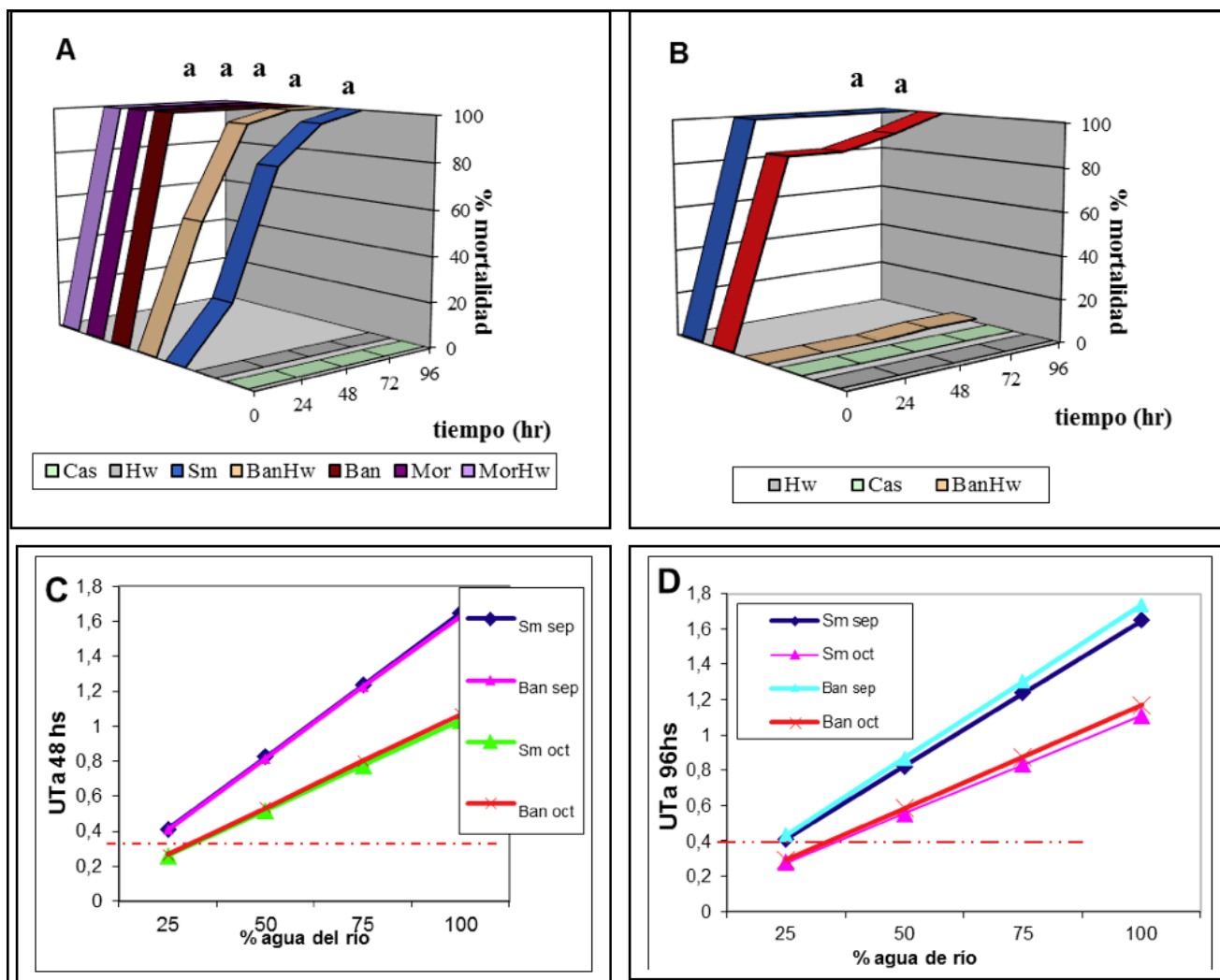


Figura 3: Mortalidad acumulada de larvas premetamórficas de *Rinella arenarum* incubadas durante 96 hs en agua del río Reconquista. A Bioensayo de setiembre; B: Bioensayo de octubre; C y D: Unidades de toxicidad aguda (UTA) para muestras de agua de Sm y Ban diluidas con medio control en bioensayos de septiembre y octubre a 48 y 96 hs de exposición respectivamente.

HW: medio control, agua dulce artificial dura; Cas: agua de estación de muestreo Cascallares; SM: agua de estación de muestreo San Martín; Ban: agua de estación de muestreo Bancalari; BanHw: agua de estación de muestreo Bancalari diluida 50% con medio control; Mor, agua del arroyo Morón ; MorHW, agua del arroyo Morón diluida al 50% con medio control. Sm sep: San Martín septiembre; Sm oct: San Martín octubre; Bansep: Bancalari septiembre; Ban oct: Bancalari octubre. La línea de puntos representa el valor máximo de toxicidad (en UTs) adoptado por la US EPA para efluentes industriales. a: significativamente diferente de HW y Cas.

hasta la finalización del mismo sugiriendo así que el bioensayo podría ser más breve sin afectar la calidad de la información.

En la Figura 3 C y D se muestran los resultados expresados en unidades de toxicidad (UT). La US EPA (1991) indica para efluentes indus-

triales valores máximos de 0,3 UTA reportados para la más sensible de tres especies centinela (línea punteada). Los valores de UTA para las muestras de agua de SM y Ban superaron entre 3 y 6 veces el nivel de 0,3 (100% agua del río) llegando a valores cercanos al de referencia recién con una dilución del 75% (25%

agua de río).

Con juveniles de *C. decemmaculatus* se diseñaron bioensayos agudos de letalidad determinando su sensibilidad al contrastar las respuestas biológicas con el perfil fisicoquímico de las muestras analizadas. Aquí se resumen algunos de

esos resultados publicados en de la Torre y col. (1997).

Las muestras de agua para realización de bioensayos y caracterización fisicoquímica, se tomaron en los meses de febrero, marzo, abril y mayo de 1995 de Cascallares (Cas), San Martín (Sm) y Bancalari (Ban). La fisicoquímica correspondiente a las muestras del agua está indicada en la Tabla 1. Los ensayos fueron de 96 horas con registro diario de mortalidad. Se corrieron controles negativos de agua dura artificial (HW), control positivo de tóxico referente de 4 mg/L de cadmio en (HW-Cd) y

agua del río de Cas, SM y Ban con y sin el agregado de un pulso de 4 mg/L Cd. Se comparó la mortalidad acumulada de peces incubados en agua del río y agua de río + Cd respecto a los controles en HW. Los grupos control HW fueron similares en los tres bioensayos (mortalidad < 10%); la mortalidad del grupo control positivo de tóxico referente fue semejante en todos los bioensayos alcanzando valores cercanos al 60% a las 96 horas de exposición. Estas respuestas permitieron concluir que los organismos prueba se encontraban en condiciones comparables de sensibilidad entre ensayos y en

consecuencia las respuestas de mortalidad registradas en las aguas del río podían atribuirse de manera inequívoca al efecto de las mismas. Los peces expuestos a muestras de Cas tuvieron una respuesta uniforme en todos los casos, no difiriendo de controles HW ni entre sí. La mortalidad media acumulada en SM y Ban mostró diferencias significativas entre ensayos, tratamientos y tiempos. La incorporación de cadmio a las muestras de Sm y Ban aumentó marcadamente la toxicidad de las mismas.

Como se desprende de la lec-

Tabla 1: Parámetros fisicoquímicos de las muestras de agua del río Reconquista utilizadas en bioensayos con juveniles de *C. decemmaculatus*.

	febrero			marzo			abril			mayo			MPQ
	Cas	Sm	Ban	Cas	Sm	Ban	Cas	Sm	Ban	Cas	Sm	Ban	
pH	9.3	8.9	7.9	8.6	8.2	8.3	8.0	7.9	7.6	7.8	7.7	7.7	
Alcalinidad mM CaCO ₃	10.4	11.5	10.8	7.9	9.5	9.5	4.0	9.2	10.8	4.0	5.6	5.6	
Dureza mM CaCO ₃	1.3	2.0	1.9	1.5	1.6	1.4	0.8	1.4	2.0	0.8	1.2	1.2	
Conductividad uS. cm ⁻¹	1550	1711	1696	1092	1281	1151	810	917	628	357	609	628	
O.D. mg O ₂ .L ⁻¹	6.6	0	0	8.2	1.0	1.6	6.7	0.6	0	8.9	2.3	1.0	
Amonio mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹	0.8	16.1	14.7	0.4	6.3	6.9	0.4	10.6	16.7	0.4	6.5	6.3	1.13
Nitritos mg N-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹	<0.01	s.m.	<0.01	0.1	0.5	0.6	0.1	0.3	0.1	0.1	0.2	0.5	0.02
Nitratos mg N-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹	0.3	s.m.	0.8	0.8	s.m.	0.5	2	s.m.	1.4	0.7	s.m.	1.7	
Cloruros mg.L ⁻¹	81	129	130	71	95	82	61	78	155	20	48	50	
DBO ₅ mg O ₂ .L ⁻¹	6.5	22.0	23.8	2.8	19.8	11.7	2.6	23.3	63.5	2.6	10.9	8.4	
DQO mg O ₂ .L ⁻¹	92	s.m.	>150	70	116	80	61	245	288	65	64	73	
Fosfatos mg PO ₄ ³⁻ .L ⁻¹	2.6	4.1	5.1	2.4	2.3	2.4	1.5	4.4	6.9	1.5	2.2	2.4	
Fenoles mg. L ⁻¹	0.3	0.9	0.9	0.5	0.7	0.3	0.9	0.9	1.7	0.9	0.7	1.1	0.01
Metales pesados													
ppb													
Arsenico	s.m.	s.m.	s.m.	10.0	s.m.	<30.0	<10.0	s.m.	<10.0	s.m.	s.m.	s.m.	50
Cadmio	5.0	s.m.	3.0	11.0	s.m.	<1.0	6.0	s.m.	3.0	5.0	s.m.	10.0	2
Cromo	s.m.	s.m.	s.m.	40.0	s.m.	15.0	20.0	s.m.	300.0	s.m.	s.m.	s.m.	2
Cobre	s.m.	s.m.	s.m.	s.m.	s.m.	s.m.	20.0	s.m.	15.0	s.m.	s.m.	s.m.	0.8
Plomo	s.m.	s.m.	s.m.	s.m.	s.m.	s.m.	20.0	s.m.	15.0	s.m.	s.m.	s.m.	2
Zinc	s.m.	s.m.	80	230	s.m.	40.0	70.0	s.m.	100.0	200.0	s.m.	30.0	30

Cas: Cascallares; **Sm:** San Martín; **Ban:** Bancalari. s.m: sin muestrear. MPQ: Máximas cantidades permitidas por la Ley 24051 para la protección de la vida de agua dulce

tura de la Tabla 1, se observó una importante contaminación orgánica reflejada principalmente por valores elevados de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5) y amonio (N-NH_4^+); otro tanto ocurrió con las concentraciones de fenoles y nitritos. Cabe señalar además, que en Sm y Ban el oxígeno disuelto (OD) presenta siempre valores muy reducidos. Fue evidente el deterioro de la calidad del agua de río aguas abajo, tanto en Sm como Ban, con niveles de contaminantes siempre superiores a los de Cas y a los límites establecidos por la legislación vigente. Mediante un análisis de regresión de tipo *stepwise forward* se estudió la relación entre los parámetros fisicoquímicos del agua de río, tomados como variables independientes y la tasa de mortalidad acumulada registrada en las últimas 48 horas del ensayo (72 y 96 horas) como variable dependiente. Se incluyeron dentro del análisis los resultados de los cuatro bioensayos. Las variables independientes seleccionadas por el modelo se presentan en las siguientes ecuaciones:

$$P_{72} = 251,34 + 0613 \times [\text{Cl}^-] - 33,87 \times [\text{pH}] - 33,26 \times [\text{N-NO}_2^-]$$

$$R^2 = 0,84; R^2_{\text{aj}} = 0,83; \text{g.l.} = 47; F = 79,28; p < 0,001$$

$$P_{96} = 225,81 + 0,702 \times [\text{Cl}^-] - 30,74 \times [\text{pH}] - 43,67 \times [\text{N-NO}_2^-]$$

$$R^2 = 0,89; R^2_{\text{aj}} = 0,88; \text{g.l.} = 47; F = 114,06; p < 0,001$$

Donde:

P: mortalidad acumulada; R^2 : coeficiente de determinación múltiple; R^2_{aj} : r cuadrado ajustado; g.l.: grados de libertad; F: valor de Fisher; p: nivel de significación estadística.

Este análisis de regresión incluyó tanto para las 72 como 96 horas a los nitritos, los cloruros y el pH como factores responsables de la mortalidad. A su vez la presencia de altos niveles de cloruros en las muestras de agua indicaría la presencia de efluentes domiciliarios y de descargas industriales. Estos resultados presentaron una técnica original de bioensayo con formas juveniles de

un teleosteo nativo como organismo centinela.

Cabe señalar que los bioensayos para evaluación de la calidad del agua de un río quedan validados toda vez que brindan resultados coherentes con los derivados de los análisis fisicoquímicos. El método desarrollado y descrito en nuestro laboratorio resultó una técnica confiable, ya que sus resultados fueron coincidentes independientemente del método de análisis utilizado para cuantificar la respuesta de los organismos de ensayo y, por ello, consideramos que esta metodología puede adoptarse en la batería de ensayos utilizados para realizar el monitoreo ecotoxicológico de cuerpos de agua contaminados.

■ BIOMARCADORES

El diseño experimental seguido para evaluación de biomarcadores en peces se muestra en la Figura 4. En hembras adultas de *C. decemmaculatus* capturadas en la localidad de Cascallares (Cas) y San Francisco (SF) (Figura 1) se evaluó la respuesta de los biomarcadores comparándola con la de ejemplares de la misma es-

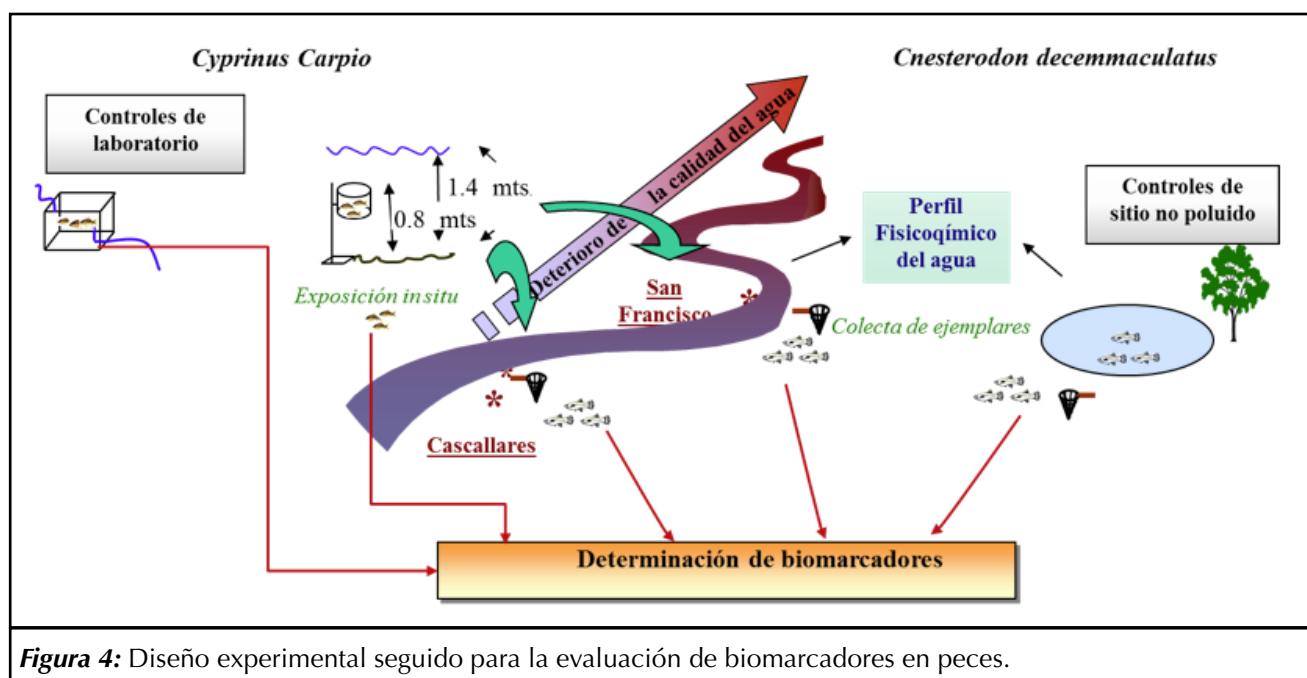


Figura 4: Diseño experimental seguido para la evaluación de biomarcadores en peces.

pecie recolectados en un cuerpo de agua no contaminado localizado en el *campus* de la Universidad Nacional de Luján, al que denominamos estanque/ control.

Simultáneamente a la extracción de los peces, se tomaron muestras de agua superficial (río y estanque) para su caracterización fisicoquímica. Los peces obtenidos en Cas, SF y estanque se transportaron al laboratorio, para su procesamiento. Se calculó el factor de condición (índice morfométrico que es aceptado como un indicador cuantitativo del estado de

salud general de los peces), el índice hepatosomático (IHS); indicador de estado de deterioro del funcionamiento hepático) y se extrajeron las branquias, el cerebro y el hígado para la determinación de actividades enzimáticas utilizadas como biomarcadores: acetilcolinesterasa cerebral (AChE); aminotransferasas hepáticas (AlaAT y AspAT) y $(\text{Na}^+, \text{K}^+)$ - y Mg^{2+} -ATPasas branquiales.

Del análisis de los parámetros fisicoquímicos del agua (Tabla 2) se observó un deterioro de la calidad del agua del río de ambas localida-

des (Cas y SF), en relación con la del estanque: algunos de los parámetros evaluados en el río estuvieron presentes en concentraciones superiores a los máximos permitidos por la legislación vigente (especialmente el amonio, fosfatos, fenoles y DQO). El agua de SF presentó los valores más desfavorables y también fue notorio el descenso del contenido de oxígeno disuelto, siendo el agua de Cas la que presentó menores tenores a consecuencia de una profusa y continua "cobertura" de vegetación flotante, al momento de efectuar el muestreo.

Tabla 2: Parámetros fisicoquímicos de las muestras de agua tomadas al capturar adultos de *Cnesterodon decemmaculatus* del río Reconquista en Cascallares, San Francisco y en un estanque libre de contaminación ubicado en el campo de la Universidad (Controles).

	Cascallares	San Francisco	Estanque	MPQ
Temperatura (°C)	23.0	25.3	23.2	
pH	8.2	7.9	8.7	
Alcalinidad mM CaCO_3	9.2	10.1	7.7	
Dureza mM CaCO_3	1.0	1.2	1.1	
O.D. $\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$	0.7	4.5	8.2	
Conductividad $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$	1146	1129	753	
Amonio $\text{mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$	<0.8	13.1	<0.8	1.13
Nitritos $\text{mg N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$	0.06	0.08	0.04	0.02
Cloruros $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	79	59	21	
DQO $\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$	50	81	<10	
Fosfatos $\text{mg PO}_4^{3-} \cdot \text{L}^{-1}$	2.4	11.2	<0.1	
Fenoles $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.60	0.45	<0.1	0.01
Metales pesados ppb				
Cadmio	2.2	<1.4	<1	2.0
Cromo	6.8	4.5	<2	2.0
Cobre	3.5	2.8	<1	0.8
Plomo	6.9	7.5	<5	2.0
Zinc	61.8	92.8	90	30.0
Insecticidas ppb				
organofosforados	n.d.	n.d.	n.d.	
organoclorados	n.d.	n.d.	n.d.	

n.d.: no detectado; MPQ: Máximas cantidades permitidas por la Ley 24051 para la protección de la vida de agua dulce. Pesticidas rastreados: a) Insecticidas organoclorados: α, β y γ HCH, aldrin, endrin, heptacloro, epoxidoheptacloro., op'ypp'DDE, α y γ clordano, endosulfan II, op' y pp'DDT, dieldrin; b) Insecticidas organofosforados: etil y metilparation, fenitrotion, clorpirifos.

Los biomarcadores medidos (Tabla 3) permitieron concluir que: a) la deficiente calidad del agua de Cascallares determinó efectos adversos a nivel branquial y hepático, mientras que en San Francisco el elevado deterioro ambiental se extendió a la actividad de la AChE cerebral. De esta forma, se observó una correspondencia entre la severidad de los efectos y la existencia

de estrés ambiental; b) entre los parámetros evaluados, las actividades de la Mg^{2+} -ATPasa, AChE y AlaAT fueron los que evidenciaron mayor sensibilidad de respuesta. La evaluación de los parámetros marcadores en esta especie nativa demostró ser una metodología experimental apropiada y una herramienta útil en la evaluación ecotoxicológica de cuerpos de agua. La información

detallada referente a estos resultados puede ser consultada en de la Torre y col. (2005). Merece tenerse en cuenta que la respuesta toxicológica evaluada en esta especie nativa del río señala que el agua en Cas resulta perjudicial, demostrando por un lado que aún aguas arriba el río Reconquista provoca efectos tóxicos sobre su biota, evidenciables mediante el uso de biomarcadores de

Tabla 3: Biomarcadores medidos en branquias, cerebro e hígado, contenido de proteínas de tejidos, índice hepatosomático y factor de condición de adultos de *Cnesterodon decemmaculatus* capturados en el río Reconquista.

Parámetros	Cas	SF	Controles
Branquias			
(Na ⁺ K ⁺)-ATPasa	4.7 ± 1.4 (5)	4.7 ± 1.0 (5)	6.5 ± 0.8 (5)
Mg ⁺⁺ -ATPasa	22.4 ± 1.4 * (5)	24.4 ± 1.8 * (5)	37.6 ± 1.9 (5)
Cerebro			
AChE	273 ± 14 (10)	249 ± 15 * (10)	306 ± 13 (9)
Proteínas	45.9 ± 3.9 (10)	55.3 ± 7.7 * (10)	36.1 ± 2.0 (9)
Hígado			
AspAT	2090 ± 153 (9)	1485 ± 136 # (9)	1734 ± 97 (10)
AlaAT	1586 ± 174 * (9)	1979 ± 222 * (9)	2663 ± 215 (10)
AspAT/AlaAT	1.49 ± 0.24 * (9)	0.84 ± 0.12 # (9)	0.69 ± 0.04 (10)
AspAT 100 g ⁻¹ p.c.	537 ± 94 (9)	749 ± 61 (9)	512 ± 68 (10)
AlaAT 100 g ⁻¹ p.c.	379 ± 52 * (9)	1060 ± 173 # (9)	767 ± 110 (10)
Índice Hepatosomático	1.4 ± 0.3 (9)	2.5 ± 0.4 # (9)	1.7 ± 0.2 (10)
Factor de condición	1.15 ± 0.07 (10)	1.04 ± 0.05 * (10)	1.16 ± 0.02 (10)

Control, controles en estanque artificial; **Cas**, peces recolectados *in situ* en Cascallares; **SF**, peces recolectados *in situ* en San Francisco. Los datos se expresan como medias ± ESM; número de muestras en paréntesis. ATPasas branquiales en $\mu\text{mol Pi. min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$ (pool de 2 individuos); AChE cerebral en $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg proteínas}^{-1}$, AspATy AlaAT hepáticas en unidades Karmen. $\text{mg}^{-1} \text{ proteína}$ y por 100 g peso corporal $\times 10^3$

Las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre grupos están indicadas según: (*), Cas vs Controles y SF1 vs Controles; (#): Cas vs SF1.

efecto temprano, no así con ensayos agudos de letalidad. Por otra parte, se pudo comprobar que algunos de estos biomarcadores muestran capacidad de recuperación, cuando los animales se transfieren a un sitio control: la evaluación del efecto de recuperación de los parámetros biomarcadores de *C. decemmaculatus* tanto en peces mantenidos en condiciones controladas de laboratorio como en aquellos confinados en jaulas, en ensayos *in situ*, constituyó el primer acercamiento documentado de este tipo realizado en aguas continentales periurbanas contaminadas de nuestro país (de la Torre, 2001).

Con juveniles de *C. carpio* se realizaron ensayos de exposición en jaulas (Figura 4) que fueron sumergidas en las localidades de Cas y SF entre 10 (SF) y 30 días (Cas) con controles de laboratorio. Los animales confinados en SF no lograron sobrevivir en ningún caso. Los resultados de los parámetros biomarcadores evaluados en Cas vs controles de laboratorio se muestran en la Tabla 4. Para esta especie también se detectaron efectos sobre la actividad branquial y cerebral, con resultados relativamente comparables a los obtenidos con *C. decemmaculatus*.

Señalamos, por último, que este ensayo es históricamente el primero de su tipo que se llevó a cabo en el río Reconquista. La información detallada se encuentra también publicada (de la Torre et al 2000).

■ EVALUACIÓN ECOTOXICOLÓGICA DE SEDIMENTOS

La sedimentación es un proceso importante de remoción de contaminantes de la columna de agua, que acumula xenobióticos en cantidades significativas. El sedimento contaminado puede definirse como aquel que contiene sustancias químicas en exceso con respecto a criterios geoquímicos y/o toxicológicos de calidad. Los poluentes pueden distribuirse sobre el sedimento, en el agua asociada a las partículas (agua intersticial o de poro), en la capa de agua asociada al sedimento y en la comunidad bentónica. Procesos naturales de remoción y redistribución de los sedimentos, como los vientos, ondas y corrientes, así como la remoción mecánica por dragado, provocan su resuspensión en la columna de agua y la dispersión de los tóxicos retenidos en ellos incrementando su biodisponibilidad y siendo, por lo tanto, un riesgo para toda la biota acuática.

Históricamente, la caracterización ecotoxicológica de los sedimentos se determinó evaluando en ellos los niveles de los contaminantes considerados como prioritarios, sin tener en cuenta, otros factores tales como posibles interacciones, biodisponibilidad, resuspensión o impacto sobre la estructura y funcionamiento de las comunidades asociadas con ellos. Las concentraciones de compuestos químicos en los sedimentos pueden ser muy elevadas, pero no tienen una relación directa con la biodisponibilidad. Un contaminante puede presentar efectos tóxicos sólo si se encuentra en una forma biodisponible y el compuesto puede incorporarse a la célula del animal o influir en el proceso normal del organismo. En este sentido los bioensayos con sedimentos representan una herramienta insustituible.

En relación con la evaluación ecotoxicológica de sedimentos de la cuenca del río Reconquista, luego de un periodo de indagación se seleccionó como sitio de muestreo la zona de la desembocadura del arroyo La Choza en el lago San Francisco, Represa Roggero (Figura 1). El arroyo La Choza proporciona la mayor carga contaminante al cauce del río. Ello es principalmente

Tabla 4: Parámetros bioquímicos, contenido de proteínas de branquias y cerebro y factor de condición de juveniles de *Cyprinus carpio* mantenidos durante 30 días en jaulas sumergidas en Cascallares.

Parámetros	Cas1	Cas2	Cas3	Controles
Branquias				
(Na ⁺ ,K ⁺)-ATPasa	7.6 ± 0.4 * (9)	8.3 ± 1.3 (5)	7.8 ± 0.6 (9)	9.8 ± 0.9 (9)
Mg ⁺⁺ -ATPasa	28.9 ± 1.5 (8)	45.9 ± 2.5 * (5)	31.1 ± 1.1 * (8)	25.7 ± 1.9 (9)
Cerebro				
AChE	s.m.	390 ± 13 (9)	320 ± 9 * (10)	368 ± 13 (8)
Factor de condición	1.04 ± 0.04 (9)	1.12 ± 0.02 (9)	1.20 ± 0.04 (10)	1.12 ± 0.03 (9)

Cas1, Cas2, Cas3, peces mantenidos en Cascallares; **Controles,** peces en agua potable de red en laboratorio. Los datos se expresan como medias ± ESM; número de muestras en paréntesis. ATPasas branquiales en $\mu\text{moles Pi} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$; AChE cerebral en $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$. Las diferencias significativas ($p < 0.05$) respecto a Controles se indican con un asterisco.

una consecuencia de la descarga de aguas residuales desde una planta de tratamiento, como también desde un pequeño parque industrial ubicado cerca de la desembocadura del arroyo. En este sitio se emplazan, entre otras, una industria agroquímica y un establecimiento de faena de aves de corral, que descargan de forma continua efluentes en el arroyo. Los estudios en este sitio mostraron elevados valores de DBO5 y de sólidos en suspensión indicando contaminación orgánica (Rigacci y col., 2013).

Como parte de un estudio más amplio, se tomaron en este sitio muestras estacionales de sedimentos durante dos años, las que fueron

procesadas para la realización de ensayos estandarizados de sobrevivencia y crecimiento, utilizando como organismo prueba al anfípodo *H. curvispina* y como medio de exposición sedimentos completos y el agua de poro proveniente de los mismos. Además, y a fin de establecer posibles respuestas de efecto temprano, se evaluó el efecto de la exposición a sedimento completo sobre algunos biomarcadores. En éstos el sedimento control fue el proveniente del arroyo Las Flores, perteneciente a la cuenca del río Luján previamente caracterizado apto para su uso control. Además, los cultivos de anfípodos de los que se extrajeron los animales de experimentación provinieron de la población de

dicho arroyo. En las figuras 5, 6 y 7 se muestran de manera esquemática el procesamiento de las muestras y los diseños de ensayo seguidos. A los puntos finales estándar: sobrevivencia y crecimiento (como peso corporal/biomasa y longitud) se agregó un punto final nuevo: índice de masa corporal (IMC). Como biomarcadores se utilizaron parámetros de estrés oxidativo (actividad de las enzimas catalasa y superóxido dismutasa y nivel de lipoperoxidación) y actividad del sistema de transporte de electrones (ETS).

Los resultados de los ensayos estándar mostraron que la exposición a sedimentos del arroyo La Choza no afectó significativamente la so-

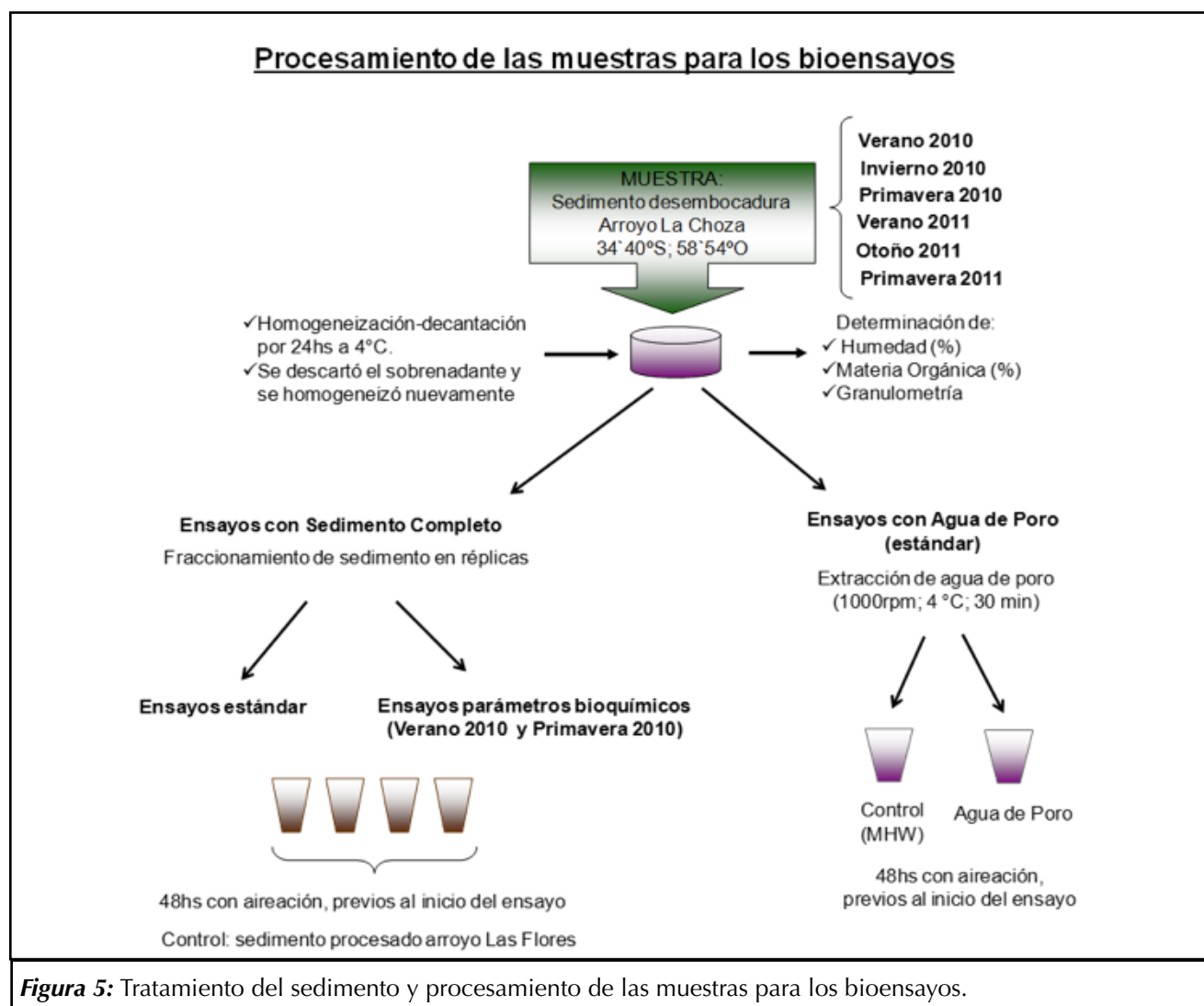


Figura 5: Tratamiento del sedimento y procesamiento de las muestras para los bioensayos.

brevivencia de *H. curvispina* en relación con los controles en ningún caso, pero los parámetros de crecimiento sí se vieron afectados, siendo el IMC el mejor parámetro indicador de efecto.

En relación con los experimentos con agua de poro, en ninguno de los ensayos realizados se observó mortalidad significativa en relación al control y, a diferencia de los resultados obtenidos en los experimentos realizados con sedimento completo, tampoco se registraron efectos so-

bre los parámetros de crecimiento. Debe considerarse que los ensayos de toxicidad con agua de poro no evalúan la toxicidad causada por la ingesta de sedimentos, que es una ruta de exposición importante para algunos organismos. Las pruebas de toxicidad con sedimento completo son ambientalmente más realistas que las de agua de poro, dado que la estructura de los sedimentos es relativamente mantenida y todas las rutas de exposición, incluidas el agua sobrenadante, el agua de poro, las partículas de sedimento y el alimen-

to están presentes. Nuestros resultados son coincidentes con estas apreciaciones. La información detallada referente a este trabajo se encuentra en Giusto (2014).

En la Tabla 6 se muestran los resultados de los biomarcadores medidos en dos de los ensayos estacionales. La lectura de la misma permite apreciar que la evaluación de biomarcadores en los anfípodos expuestos a las muestras de sedimento que no produjeron efecto evidente sobre sobrevivencia y crecimiento,

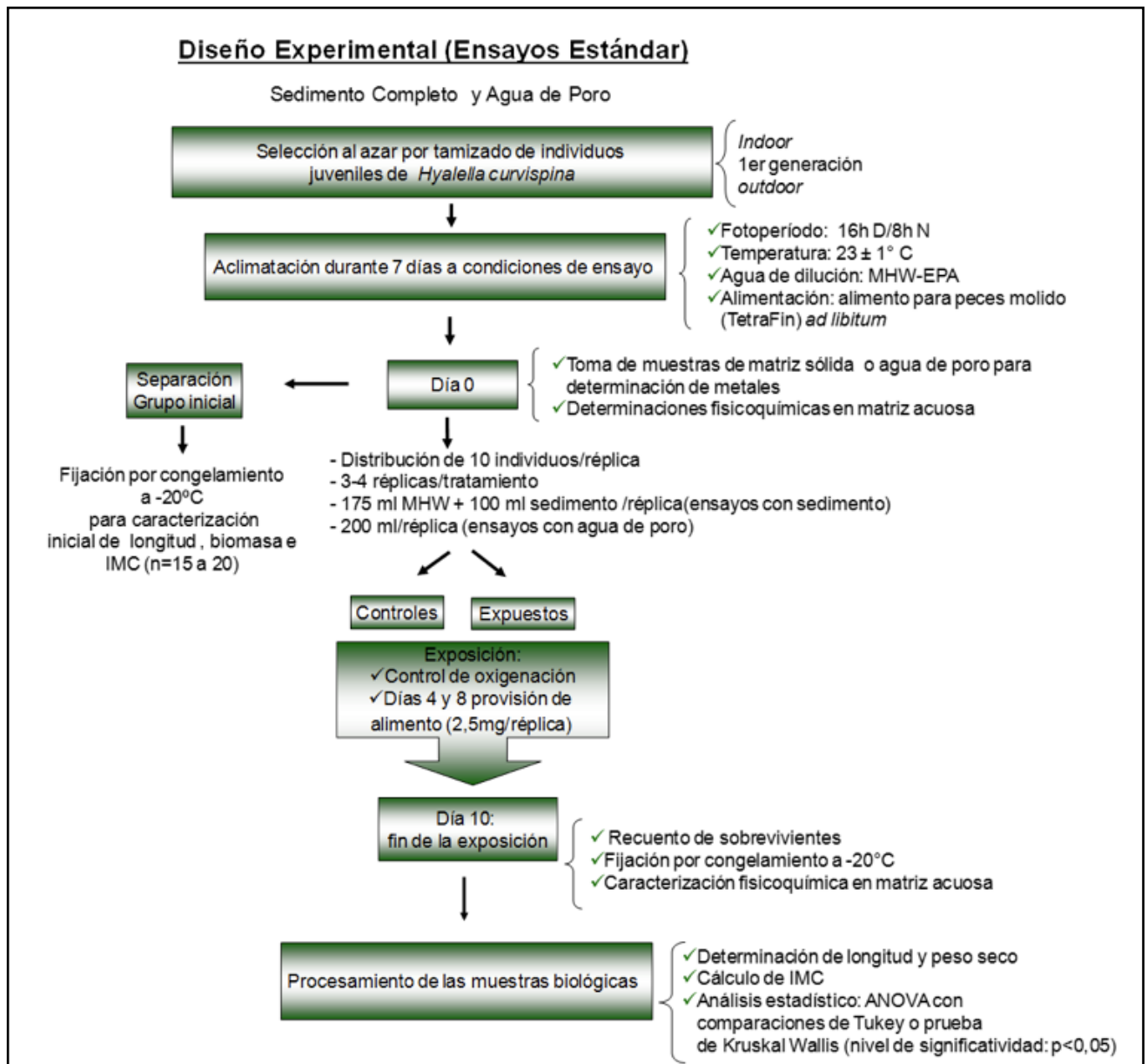
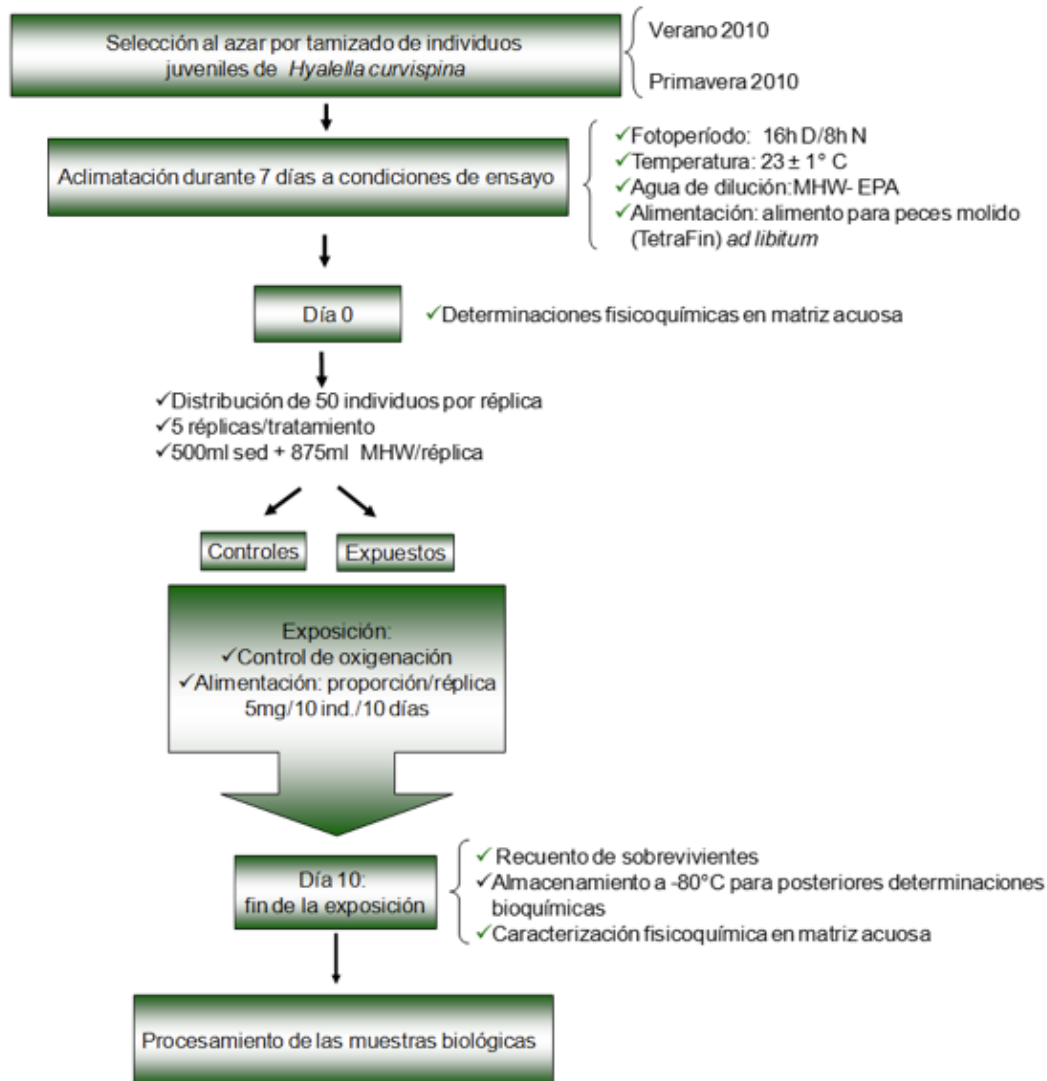


Figura 6: Descripción del diseño experimental empleado en los ensayos estándar.

sí produjeron daño oxidativo y un incremento significativo en la actividad antioxidante, así como una reducción en la actividad de ETS, demostrándose así la utilidad de estos parámetros como indicadores de alerta temprano de efecto. La información detallada de estos resultados se encuentra publicada en Giusto y

Diseño Experimental (Ensayos Biomarcadores)

Para ensayos con Sedimento Completo, USEPA 2000 con modificaciones



-Cuatro individuos de cada réplica fueron utilizados para la cuantificación de ETS. Las determinaciones fueron realizadas sobre animales individuales.

-Los individuos remanentes fueron utilizados para la determinación de:

- proteínas totales;
- niveles de lipoperoxidación (TBARS);
- actividad de SOD y CAT

Las determinaciones fueron realizadas en *pools* de homogenatos totales.

Análisis estadístico: test de Students (nivel de significatividad: $p < 0,05$)

Figura 7: Descripción del diseño experimental empleado en los ensayos de biomarcadores.

Tabla 5. Puntos finales medidos en los ensayos de biomarcadores a tiempo final de exposición. Valores expresados como media \pm DE, n: número de determinaciones. (*) diferencias significativas respecto del control ($p < 0,05$).

Bioensayo Verano 2010				
	Control	La Choza	La Choza/Control	n
CAT ($\mu\text{molH}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg Prot}$)	29,64 \pm 4,15	47,57 \pm 5,61(*)	+1,6	5
SOD (U/mg Prot)	15,37 \pm 1,45	149,32 \pm 53,39(*)	+9,7	5
TBARS (nmol/mg de Prot)	6,14 \pm 0,55	19,68 \pm 2,89(*)	+3,2	5
ETS ($\mu\text{l de O}_2/\text{mgww}/\text{h}$)	2,37 \pm 0,08	1,56 \pm 0,60(*)	0,65	20
Bioensayo Primavera 2010				
	Control	La Choza	La Choza/Control	n
CAT ($\mu\text{molH}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg Prot}$)	36,30 \pm 0,77	51,21 \pm 1,11(*)	+1,4	5
SOD (U/mg Prot)	6,69 \pm 0,20	35,23 \pm 1,85(*)	+5,3	5
TBARS (nmol/mg Prot)	5,09 \pm 0,25	17,22 \pm 0,39(*)	+ 3,4	5
ETS ($\mu\text{l de O}_2/\text{mgww}/\text{h}$)	1,26 \pm 0,48	0,89 \pm 0,49(*)	0,7	20

col. (2014).

■ CONSIDERACIONES FINALES

La evaluación ecotoxicológica de un cuerpo de agua debe indefectiblemente ser abordada interdisciplinariamente. Un río no es sólo el agua y su cauce sino también, y de manera indivisible, las comunidades que lo habitan. El comportamiento de los distintos contaminantes depende en parte de las particularidades de los ecosistemas que los reciben. Por ello la mera cuantificación de contaminantes o índices de calidad de aguas aporta solo información parcial, si bien muy valiosa. Por otra parte, la estimación de respuestas biológicas como consecuencia de la exposición a agua receptoras o sedimentos carece de valor si no es asociable a la evaluación fisicoquímica de las matrices de ensayo.

La mejor aproximación de estudio en lo referente al impacto sobre

la biota es mediante el uso de especies nativas, ya que éstas tienen la potencialidad de representar de manera más realista los posibles efectos de la polución sobre sus ambientes. En este sentido resulta un desafío y enorme trabajo, identificar y validar para su uso en bioensayos de monitoreo especies nativas representativas.

La selección de los puntos finales más adecuados depende sustancialmente de los objetivos del estudio en cuestión. Si bien y de manera ideal los parámetros de efecto temprano son preferibles, su determinación requiere de una mayor especialización del personal involucrado en el estudio y son experimental e instrumentalmente más costosos que los ensayos estandarizados. Por ello una vía razonable es un abordaje inicial de evaluación de efectos agudos, incorporando evaluación de efectos tempranos mediante biomarcadores en función de los resultados obteni-

dos en esa primera etapa. En nuestra experiencia con el río Reconquista ambos abordajes fueron complementarios tanto en aguas como en sedimento. La evaluación de distintos biomarcadores bioquímicos permitió detectar daño por exposición a muestras de agua en peces provenientes de la cuenca alta del río estableciéndose así de manera cabal la carencia de sitios libres de polución, no detectables por los ensayos estandarizados para monitoreo biológico. De igual modo la evaluación de efecto mediante biomarcadores bioquímicos en anfípodos expuestos a sedimento del río, indicó deterioro del estado de salud de los organismos aún en ausencia de efecto agudos o crónicos.

■ GLOSARIO

Actividad del sistema de transporte de electrones (ETS): Es un parámetro bioquímico representativo del funcionamiento del sistema

multienzimático de la membrana interna mitocondrial equiparable a producción de energía aeróbica

Agua de poro: la obtenida por centrifugación del sedimento completo y que representa la fracción de agua intersticial.

Aguas receptoras: un río, un lago, un océano, una corriente de agua u otro curso de agua, dentro del cual se descargan aguas residuales o efluentes tratados.

ASTM: American Society for Testing Materials

Bentos: Conjunto de organismos que viven asociados al fondo de los sistemas acuáticos: algas, invertebrados, protozoos, bacterias y hongos

Biodisponibilidad: es un concepto farmacocinético que alude a la fracción y la velocidad a la cual la dosis o concentración de un tóxico alcanza y que representa la fracción biodisponible del tóxico

Control positivo de referencia: se trata de sustancias puras de respuesta tóxica conocida y establecida en un rango preciso, una especie prueba particular y condiciones experimentales preestablecidas

Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5): es un parámetro que mide la cantidad de oxígeno consumido al degradar la materia susceptible de ser consumida u oxidada por medios biológicos que contiene una muestra líquida, disuelta o en suspensión. Se utiliza para medir el grado de contaminación y se mide transcurridos cinco días de reacción.

EC: Agencia de Protección Ambiental de Canadá.

Efluentes: Término empleado para nombrar a las aguas servidas con

desechos sólidos, líquidos o gaseosos que son emitidos por viviendas y/o industrias a los cursos de agua; o que se incorporan a estas por el escurrimiento de terrenos causado por las lluvias.

Especie validada: especies recomendadas por organismos de normatización y protocolizadas para su uso en bioensayos sobre la base de su caracterización toxicológica.

Especies centinelas: especies que sirven para demostrar la presencia de contaminantes en el medio en el que viven y el grado de exposición.

Estrés oxidativo: es un desbalance del estado normal redox de las células causado por un desequilibrio entre la producción de oxígeno reactivo y la capacidad de un sistema biológico para detoxificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante. Consecuentemente pueden causar efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres que dañan a todos los componentes de la célula, incluyendo las proteínas, los lípidos y el ADN.

IRAM: Instituto Argentino de Normalización y Certificación

ISO: Organización Internacional de Normalización

Macrófitas: plantas acuáticas vasculares,

Necton: Organismos capaces de nadar activamente y desplazarse contrarrestando los movimientos del agua: invertebrados y peces

Niveles guía: condición que debería observar un parámetro de calidad en relación con un destino asignado al agua ambiente, basada en el conocimiento científico. Los criterios varían en función del destino,

estableciéndose diferentes valores en función de uso del recurso agua: agua de bebida, riego, recreación, protección de biota acuática

OECD: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos

Perifiton: Organismos que viven adheridos a los sustratos sumergidos (vivos o inertes): algas, pequeños invertebrados y ciliados, bacterias y hongos

Plancton: Organismos suspendidos en el seno del agua y cuyos movimientos, si poseen, resultan muy débiles para contrarrestar el efecto de las corrientes del agua. Algas, pequeños invertebrados, protozoarios, bacterias, etc.

Puntos finales: parámetro biológico seleccionado y cuantificable a fin de estimar un efecto particular en un ensayo

Sedimento completo: se trata del sedimento natural muestreado sin pesamiento posterior.

Sedimentos material sólido acumulado sobre la superficie terrestre. La sedimentación ocurre cuando un material sólido es transportado por una corriente de agua y se posa en el fondo del río, embalse, etc. Las corrientes de agua tienen la capacidad de transportar materia sólida en suspensión y de generar sedimentos por sus propias características o a través de la erosión de los cauces.

Unidades de toxicidad (UT): valor arbitrario que vinculan los valores de CL50s o con la toxicidad de una muestra en particular. Las unidades de toxicidad agudas (UTas), en particular, son expresiones de toxicidad aplicadas tanto en la evaluación de efluentes y aguas receptoras así como para estudios con y se definen

como 100/CL50 expresada como porcentaje de dilución de la muestra.

USEPA: Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos

Xenobiótico: sustancia química administrada en exceso desde el exterior a un organismo.

■ REFERENCIAS

- Basilico GO. (2014). Evaluación del impacto de ingresos puntuales de contaminantes en arroyos de llanura y pautas para su remediación: Tesis Doctoral. Universidad Nacional de General Sarmiento.
- Bervoets L, Baillieul M, Blust R, Verheyen R. (1996). Evaluation of effluent toxicity and ambient toxicity in a polluted lowland river. *Environ. Pollut.* 91: 333-341.
- Boudou A, Ribeyre F. (1997). Aquatic ecotoxicology: from the ecosystem to the cellular and molecular levels. *Environ. Health Perspect.* 105 Suppl, 21-35.
- de la Torre FR. (2001). Estudio integrado de la contaminación acuática mediante bioensayos y parámetros fisiológicos y bioquímicos indicadores de estrés ambiental. Tesis Doctoral Universidad de Buenos Aires (FCEN-UBA).
- de la Torre FR, Ferrari L, Salibián A. (2005). Biomarkers of a native fish species (*Cnesterodon decemmaculatus*): application to the water toxicity assessment of a peri-urban polluted river of Argentina. *Chemosphere* 59: 577-583.
- de la Torre FR, Ferrari L, Salibián A. (2000). Long-term in situ water toxicity bioassays in the Reconquista river (Argentina) with *Cyprinus carpio* as sentinel organism. *Water Air Soil Pollut.* 121: 205-215.
- de La Torre FR., Demichelis SO, Ferrari, L, Salibián A. (1997). Toxicity of Reconquista River Water Bioassays with juvenile *Cnesterodon decemmaculatus* Bull. *Environm. Contam. Toxicol.* 58: 558-565.
- Di Marzio WD, Sáenz M, Alberdi J, Tortorelli M, Galassi S. (2005). Risk assessment of domestic and industrial effluents unloaded into a fresh water environment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 61: 380-391.
- Di Marzio WD, Saenz ME, Alberdi JL, Tortorelli MC. (1999). Assessment of the toxicity of stabilized sludges using *Hyalella curvispina* (Amphipoda) bioassay. *Environ. Contam. Toxicol.* 63: 654-659.
- Doyle S, Momo FR. (2009). Effect of body size and temperature on the metabolic rate of *Hyalella curvispina* (Amphipoda). *Crustaceana.* 82: 1423-1439.
- Eissa B. (2009). Biomarcadores comportamentales, fisiológicos y morfológicos de exposición al Cadmio en peces pampeanos. Tesis Doctoral Universidad de Buenos Aires (FCEN-UBA).
- Eissa B, Salibián A, Ferrari L, Porta P, Borgnia M. (2003). Evaluación toxicológica no invasiva del cadmio: modificaciones de biomarcadores conductuales en *Cyprinus carpio*. *Biol. Acuática* 20: 56-62.
- Ferrari L, de la Torre FR., Demichelis SO, García ME, Salibián A. (2005). Ecotoxicological assessment for receiving waters with the premetamorphic tadpoles acute assay. *Chemosphere* 59: 567-575.
- Ferrari L, Demichelis SO, García ME, de la Torre FR, Salibian A. (1997). Premetamorphic anuran tadpoles as test organism for an acute Aquatic toxicity assay. *Environ. Toxicol. Water Quality* 12: 118-121.
- Finney DJ. (1978). Statistical method in biological assay, 3ra ed. London: Griffin
- García ME, Rodríguez Capítulo A, Ferrari L. (2012). Age differential response of *Hyalella curvispina* to a cadmium pulse: influence of sediment particle size. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 80: 314-320.
- García ME, Rodríguez-Capítulo A, Ferrari L. (2010). Age-related differential sensitivity to cadmium in *Hyalella curvispina* (Amphipoda) and implications in ecotoxicity studies. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73: 771-778.
- García ME. (2009). Estudio del efecto de la contaminación sobre invertebrados del complejo zoobentónico en arroyos de la llanura pampeana. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata, Bs.As., Argentina. 322pp.
- Giusto A, Salibian A, Ferrari L. (2014). Biomonitoring toxicity of natural sediments using juvenile *Hyalella curvispina* (Amphipod) as test species: evaluation of early effect endpoints. *Ecotoxicology* 23: 293-303.
- Giusto A. (2014). Efectos de la Contaminación por Metales Pesados sobre Anfípodos de Agua Dulce y su Aplicación en Estudios de Toxicidad de Sedimentos. Tesis Doctoral Facultad de Ciencias

- Exactas y Naturales- UBA.
- Herkovits, J, Pérez-Coll CS. (1999). "Bioensayos para test de toxicidad con embriones de anfibio ("ANFITOX")." Ingeniería Sanitaria y Ambiental vol. 42 (parte 1) y vol. 43 (parte 2) pp. 24-30 (parte 21) y pp. 50-55 (parte 22).
- Informe de la Defensoría del Pueblo de la Nación (2007). Cuenca del río Reconquista 1° Parte. Informe Especial.
- IRAM 29112/2008 (Instituto Argentino de Normalización y Certificación) (2008) Calidad ambiental- Calidad del agua. Determinación de la toxicidad letal aguda de sustancias en peces de agua dulce. Método semiestático. Norma N° 29112/2007.
- Jergentz S, Pessacq P, Mugni H, Bonetto C, Schulz R. (2004). Linking in situ bioassays population dynamics of macroinvertebrates to assess agricultural contaminations in streams of the Argentine pampa. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 59: 133-141.
- Lagadic L, Caquet T, Amiard JC., Ramade F. (1997) *Biomarqueurs en Ecotoxicologie. Aspects fondamentaux.* Masson, Paris.
- Maltby L, Clayton SA, Yu H, McLoughlin N, Wood RM, Yin D. (2000). Using single-species toxicity tests, community-level responses, and toxicity identification evaluations to investigate effluent impacts. *Environ. Toxicol. Chem.* 19: 151-157.
- Mardirosian M. (2014). Ecotoxicología del arsénico y mecanismos de acción en el desarrollo del anfibio *Rhinella arenarum*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-UBA.
- Mastrángelo M, Ferrari L. (2013). *Cnesterodon decemmaculatus* Juveniles as Test Organisms in Toxicity Assessment: Cadmium Case. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 91: 49-54.
- Mugni H, Ronco A, Bonetto C. (2011). Insecticide toxicity to *Hyalella curvispina* in runoff and stream water within a soybean farm (Buenos Aires, Argentina). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74: 350-54.
- Peluso L, Giusto A, Bulus Rosini GD, Ferrari L, Salibián A, Ronco AE. (2011). *Hyalella curvispina* (amphipoda) as a test organism in laboratory toxicity testing of environmental samples. *Fresen. Environ. Bull.* 20: 372-376.
- Rand MG (Ed). (1995). *Fundamentals of Aquatic Toxicology.* Washington DC: Taylor & Francis, pp. 71-102.
- Rigacci LN, Giorgi ADN, Vilches CS, Ossana NA, Salibián A. (2013). Effect of a reservoir in the water quality of the Reconquista River, Buenos Aires, Argentina. *Environ. Monit. Assess.* 185: 9161-9168.
- Sadañowski I. (2003). El problema de las inundaciones en la cuenca del río Reconquista: la represa Ing. Carlos F. Roggero y las funciones ecológicas. Tesis de Licenciatura en Ecología Urbana. Universidad Nacional de General Sarmiento.
- Salibián A. (2006). Ecotoxicological assessment of the highly polluted Reconquista River of Argentina. In: Ware GW (Editor). *Rev Environ Contam Toxicol.* 185: 35-65.
- Somma A, Mastrángelo M, Ferrari L. (2011a). Manual de producción de *Cnesterodon decemmaculatus* en laboratorio, 1a ed. Utopías, p36, e-book, ISBN 978-987-1529-87-2
- Somma L, Giusto A, Ferrari L. (2011b). Manual de producción de *Hyalella curvispina* en laboratorio. 1° ed. Utopías, 2011 25 p. + Ebook; 21x29 cm ISBN 978-987-1529-86.
- US EPA. (1991). *Technical Support Document for Water Quality-Based Toxic Control.*; Washington, DC, EPA/440/4-85-032.
- Vlaming V, Connor V, Di Giorgio C, Bailey HC, Deanovic LA, Hinton DE. (2000). Application of whole effluent toxicity test procedures to ambient water quality assessment. *Environ. Toxicol. Chem.* 19: 42-62.

El 98 por ciento de los doctores formados por el CONICET tiene empleo

Según un informe dado a conocer por este organismo científico acerca de la inserción de doctores, sólo un 1 por ciento de estos ex-becarios no tiene trabajo o no poseen ocupación declarada y un 10 por ciento posee remuneraciones inferiores a un estipendio de una beca doctoral.

Asimismo, proyecta que el 89 por ciento de los encuestados tiene una situación favorable en su actividad profesional, pero sobre todo asegura que más del 98 por ciento de los científicos salidos del CONICET consigue trabajo.

Los datos surgidos del estudio "Análisis de la inserción laboral de los ex-becarios Doctorales financiados por CONICET", realizado por la Gerencia de Recursos Humanos del organismo, involucró 934 casos sobre una población de 6.080 ex-becarios entre los años 1998 y el 2011.

Al respecto, en el mismo se considera que del número de ex-becarios consultados, el 52 por ciento (485 casos), continúa en el CONICET en la Carrera del Investigador Científico y Tecnológico.

De los que no ingresaron en el organismo pero trabajan en el país, sobre 341 casos, el 48 por ciento se encuentra empleado en universidades de gestión pública y un 5 por ciento en privadas; el 18 por ciento en empresas, un 6 por ciento en organismos de Ciencia y Técnica (CyT), un 12 por ciento en la gestión pública y el resto en instituciones y organismos del Estado.

En tanto, en el extranjero, sobre 94 casos, el 90 por ciento trabaja en universidades, el 7 por ciento en empresas y el 2 por ciento es autónomo.

El mismo informe traduce que la demanda del sector privado sobre la

incorporación de doctores no es aún la esperada, pero está creciendo. La inserción en el Estado, si se suma a las universidades nacionales y ministerios, se constituye en el mayor ámbito de actividad.

Frente a ello, a los fines de avanzar en la inserción en el ámbito publico-privado el CONICET realiza actividades políticas de articulación con otros organismos de CyT, es decir, universidades, empresas, a través de la Unión Industrial Argentina (UIA), y en particular con YPF que requiere personal altamente capacitado en diferentes áreas de investigación.

Desde el CONICET se espera que en la medida que la producción argentina requiera más innovación, crecerá la demanda de doctores. Para cuando llegue ese momento el país deberá tener los recursos humanos preparados para dar respuestas. Es por ello se piensa en doctores para el país y no solamente doctores para el CONICET.

Programa +VALOR.DOC

Sumar doctores al desarrollo del país

A través de esta iniciativa nacional, impulsada por el CONICET y organismos del Estado, se amplían las posibilidades de inserción laboral de profesionales con formación doctoral

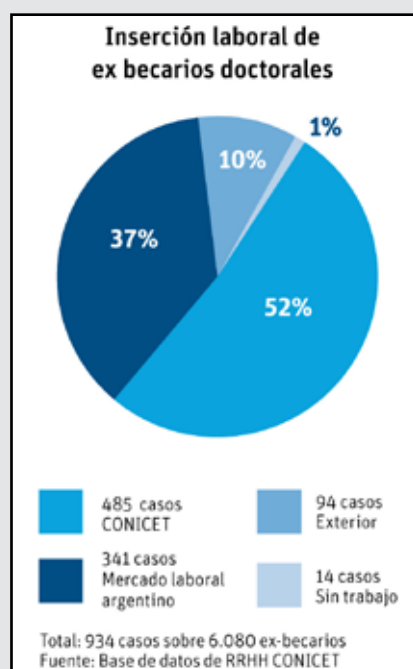
El programa +VALOR.DOC bajo el lema "Sumando Doctores al Desarrollo de la Argentina", busca vincular los recursos humanos con las necesidades y oportunidades de desarrollo del país y fomentar la incorporación de doctores a la estructura productiva, educativa, administrativa y de servicios.

A partir de una base de datos y herramientas informáticas, se aportan recursos humanos altamente calificados a la industria, los servicios y la gestión pública. Mediante una página Web, los doctores cargan sus curriculum vitae para que puedan contactarlos por perfil de formación y, de esta manera, generarse los vínculos necesarios.

Con el apoyo del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, este programa tiene como objetivo reforzar las capacidades científico-tecnológicas de las empresas, potenciar la gestión y complementar las acciones de vinculación entre el sector que promueve el conocimiento y el productivo.

+VALOR.DOC es una propuesta interinstitucional que promueve y facilita la inserción laboral de doctores que por sus conocimientos impactan positivamente en la sociedad.

Para conocer más sobre el programa www.masVALORDoc.conicet.gov.ar.



EL ARSÉNICO: DEL AGUA A LOS ALIMENTOS

Palabras clave: arsénico, agua, alimentos.
Key words: arsenic, water, food.

Definido como rey de los venenos o el “veneno de los reyes”, el arsénico (As) es uno de los elementos más ampliamente distribuidos en el ambiente. Su origen está asociado con diferentes ambientes geológicos o con actividades antrópicas. En Argentina se han hallado niveles elevados de As en agua subterránea y en agua superficial en diferentes regiones del país. Estas fuentes de agua son importantes tanto para el consumo de la población como de los animales. En la actualidad el As ha sido reconocido como uno de los elementos de mayor toxicidad especialmente por exposición crónica a través del agua de bebida o los alimentos. La presencia de As en los alimentos puede constituir una fuente de exposición importante para el ser humano, incluso mayor que el agua de bebida. La concentración de As en el alimento es variable, los alimentos de origen animal y vegetal presentan, en general, un contenido de As que varía entre 0,1 y 0,9 µg/g. El consumo total de As dependerá entonces de su concentración en el alimento y del porcentaje que éste representa en la dieta. En este artículo se presentan los principales resultados de estudios realizados para conocer el impacto de la presencia de As en agua sobre la calidad de los alimentos.

**A. Pérez Carrera, A.V. Volpedo
y A. Fernández Cirelli***

Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA-CONICET-UBA) y Centro de Estudios Transdisciplinarios del AGUA (CETA-UBA).
Facultad de Ciencias Veterinarias. Av. Chorroarín 280 (1427). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*afcirelli@fvet.uba.ar

Defined as the king of poisons or "poison of kings", arsenic (As) is one of the most widely distributed elements in the environment. Its origin is associated with different geological environments or human activities. In Argentina, different studies have reported elevated levels of As in groundwater and surface water in different regions. These water sources are important for human and animal consumption. At present As has been recognized as one of the most toxic elements, specially through chronic exposure from drinking water or food. The presence of As in food can be a major source of exposure for humans, even greater than drinking water. The concentration of As in food is variable, in different foodstuffs As content range between 0.1 and 0.9 µg/g. Total As consumption depends on its concentration in food and the percentage it represents in the diet. In this article we summarize the main results of studies conducted to assess the impact of arsenic in water on food quality.

Definido como el rey de los venenos o el “veneno de los reyes”, el arsénico (As) es uno de los elementos más ampliamente distribuidos en el ambiente. Se encuentra en diferentes regiones del planeta, siendo sus niveles menores en aguas superficiales (mares: valor promedio: 1,5 µg/L; ríos y lagos: < 0,8 µg/L) y más elevados en aguas subterráneas (<0,5 - 5000 µg/L). Su origen está asociado con la presencia de este elemento en ambientes geológicos diferentes: formaciones volcánicas, formaciones volcano-sedimentarias, sistemas hidrotermales, cuencas aluviales terciarias y cuaternarias etc., mientras que diferentes actividades humanas, especialmente la minería, la fundición de metales, la

utilización del arsénico como conservante de la madera, en formulas de biocidas, etc., han determinado su aparición en concentraciones elevadas en el ambiente (Smedley and Kinniburgh, 2002).

A nivel mundial, los estudios de la presencia y distribución del As en agua subterránea se han desarrollado desde los últimos cincuenta años, especialmente en regiones densamente pobladas en India, Afganistán, Pakistán, Bangladesh, China, entre otros. En Argentina la presencia de niveles elevados de As en agua subterránea en diferentes regiones del país fue reportada por diferentes autores (Nicolli et al. 2010, 2012, Galindo et al., 2004; Pérez

Carrera y Fernández Cirelli, 2007; Paoloni et al., 2009; Bundschuh, et al., 2012-a) que han asociado su origen con la actividad volcánica en la Cordillera de Los Andes, que tuvo como consecuencia la aparición de terrenos arseníferos.

La presencia de As en agua superficial en Argentina fue reportada recientemente en diferentes cuerpos de agua lóticos y lénticos de la llanura pampeana (Schenone et al., 2007; Rosso et al., 2011 a y b, Puntoriero et al., 2014 a, b, 2015). Es posible que el origen del mismo en las lagunas pampásicas se deba a la interrelación existente entre el agua subterránea y el agua superficial de dichas lagunas, ya que el caudal

de base de las mismas proviene del agua subterránea (Fernández Cirelli y Miretzky, 2004).

La llanura Chaco-pampeana ha sido considerada como la región más ampliamente afectada, a nivel mundial, por la presencia de arsénico en el agua subterránea principalmente. La región donde se ha descrito esta problemática abarca un área aproximada 1×10^6 km² (Smedley y Kinniburgh, 2002). Coincidentemente, esta región es, además, una de las áreas de producción agropecuaria más importante del mundo.

Desde el punto de vista toxicológico, el As es conocido desde la antigüedad. Aparecen registros de

su utilización en compuestos medicinales en la literatura griega y romana; también los árabes utilizaban compuestos arsenicales para tratar diferentes afecciones. Más adelante en el tiempo, el As fue un protagonista fundamental de la historia de la edad media, especialmente cuando las personas querían heredar anticipadamente los bienes familiares por lo que recibió el nombre de “*polvo de sucesión*”. Su uso como veneno disminuyó cuando aproximadamente en 1836, James Marsh, un químico de origen británico, desarrolló un método para determinar As en pequeñas cantidades

En la actualidad el As ha sido reconocido como uno de los elemen-

tos de mayor toxicidad. Es responsable de varias afecciones a la salud humana por exposición crónica a través del agua de bebida o los alimentos (Bundschuh et al., 2012-b). En Argentina, cobra importancia el Hidroarsenicismo Crónico Regional Endémico (HACRE), enfermedad producida por la ingesta de dosis variables de As durante largos períodos de tiempo. Esta enfermedad fue descubierta hace más de cien años en la Ciudad de Bell Ville (Córdoba) (Goyenechea, 1917; Ayerza, 1918). Se manifiesta principalmente por alteraciones dermatológicas como melanodermia, leucodermia o queratosis palmoplantar, evolucionando hacia patologías más graves como distintos tipos de cáncer (Bundschuh

Cuadro 1: “De reyes y artistas”.

En la Edad media, el arsénico era utilizado como un poderoso veneno, de hecho se lo conocía como «rey de los venenos» o el «veneno de los reyes», por su potencia y al mismo tiempo, discreción con la que podía ser administrado. El arsénico era el veneno preferido por las poderosas familias de los Medici y los Borgia para erradicar a sus rivales. Por ejemplo, el Gran duque Francesco I di Medici y su mujer, Blanca Cappello en 1587 a quienes se creía muertos intempestivamente de malaria, se confirmó recientemente que fueron envenenados con arsénico, heredando sus tierras su hermano el cardenal Fernando I (1549-1609). Esto lo determinó un equipo encabezado por Francesco Mari, de la Universidad de Florencia, quienes encontraron altos niveles de arsénico en restos de órganos.

El arsénico es probablemente el veneno más conocido en la literatura. Así como el romántico personaje de Gustave Flaubert, *Madamme Bovary* (1857) ingiere arsénico desesperada, y se somete a una muerte lenta y dolorosa, también los escritores como la inglesa Jane Austen que escribió “*Orgullo y Prejuicio*” (1813) se confirmó que murieron envenenados con arsénico.

Otra gran controversia, aún sin resolver, asociada con el arsénico es la muerte de Napoleón Bonaparte que falleció a los 51 años de edad un 5 de mayo de 1821. Estudios recientes de cabello de Bonaparte, revelan un contenido de arsénico muy por encima de lo normal. Existen dos hipótesis al respecto, a) la inhalación crónica de arsénico a partir del pigmento verde del papel tapiz que cubría la casa en donde estuvo arraigado en Santa Helena; éste contenía arseniuro de cobre, más conocido como verde de Scheele. b) por envenenamiento; otros investigadores aseguran que el arsénico le fue administrado por su asistente, el conde Montholon, quien, pese a aparentar serle leal siempre, según algunos historiadores, tenía el encargo de Luis XVIII de impedir su regreso a Francia.



El arsénico también se piensa fue el causante del envenenamiento crónico que podrían haber sufrido varios pintores impresionistas por el uso del verde de París, un pigmento que contiene un compuesto de cobre y arsénico.

Figura 1. Hugo Scheele (1881-1960), Picking lemons, Corfu.

et al., 2012-b).

El tiempo que tarda en manifestarse el HACRE es variable y está relacionado con el estado de salud de la persona, la sensibilidad individual, el estado nutricional, la ingesta diaria, la concentración de As en el agua de consumo y el tiempo de exposición (Biagini et al., 1995). Generalmente transcurren varios años hasta la aparición de los signos clínicos.

Se estima que en Argentina, la población expuesta al consumo de agua con elevado contenido de As, es de 2.000.000 de habitantes (considerando el límite de 10 µg/l propuesto por la Organización Mundial de la Salud). Hasta ahora las investigaciones realizadas han relacionado el HACRE con los niveles de As total en el agua de bebida, pero no existen estudios sistemáticos respecto del contenido en alimentos. Además son escasos los estudios sobre la relación de este elemento en agua y suelo y su biotransferencia a los alimentos.

En los últimos años estudios realizados por nuestro grupo de investigación han determinado la presencia de As en alimentos animales de origen bovino (carne, lácteos) y órganos de peces comerciales. La presencia del As en estos alimentos sumado a la existencia de As en agua subterránea consumida en algunas zonas del país, podrían ser una fuente importante de incorporación de este tóxico en forma crónica para la población. Es por esto que la biotransferencia del As a la cadena alimentaria es tan importante para la salud pública.

La toxicidad del As presente en los alimentos depende de las formas químicas en que se encuentra dicho elemento, siendo las formas inorgánicas, As(III) y As(V), las que

tradicionalmente se han considerado como las de mayor toxicidad. Estudios actuales demuestran que algunos compuestos orgánicos intermediarios productos de su metabolismo podrían presentar una toxicidad comparable o superior.

■¿PODEMOS TOMAR LECHE DE VACAS QUE VIVEN EN ZONAS CON ARSÉNICO?

La presencia de As en los alimentos puede constituir una fuente de exposición importante para el ser humano, incluso mayor que el agua de bebida. La concentración de As en el alimento es variable, los alimentos de origen animal y vegetal presentan, en general, un contenido de As que varía entre 0,1 y 0,9 mg/g (Cervera et al., 1994). El consumo total de As dependerá entonces, de su concentración en el alimento y del porcentaje que éste representa en la dieta.

La leche bovina y los productos cárnicos constituyen una parte fundamental de la dieta del hombre. Sin embargo, en algunos casos, puede producirse la acumulación de determinados elementos traza en tejidos animales destinados al consumo humano en concentraciones que pueden afectar la salud. De esta manera, cuando se fijan los niveles máximos de tolerancia para un determinado elemento debe considerarse, además del posible impacto sobre la salud animal, los efectos nocivos sobre los consumidores.

En el año 2002 iniciamos trabajos en el sudeste de la provincia de Córdoba, una de las regiones de Argentina más afectadas por la presencia de As en el agua subterránea. Se estudió la calidad del agua para bebida animal en los sistemas de producción lechera. Nuestro equipo de investigación analizó también la concentración de As en las muestras

de leche cruda encontrando valores variables entre 0,21 y 10,6 ng/g. De acuerdo con los resultados obtenidos, la concentración de arsénico en aproximadamente la mitad de las muestras analizadas estuvo por debajo de los 2,5 ng/g, mientras que en el 85% de las muestras fue menor que 5,5 ng/g. Los niveles de concentración de As hallados en leche bovina fueron en todos los casos considerablemente menores que los encontrados en el agua de bebida de los establecimientos estudiados (Pérez Carrera y Fernández Cirelli, 2005, 2007). Este hecho sugiere que en la vaca, al igual que en el hombre, la leche no constituye una vía importante de eliminación de As. Hasta el momento los resultados obtenidos nos indican que aunque las vacas vivan en zonas con As en el agua subterránea y consuman dicha agua, la leche producida por las mismas no representa un peligro para la población.

■¿Y QUÉ PASA CON LA CARNE DE VACA, PODEMOS COMER LA CARNE?

Los tejidos de bovinos donde se han registrado habitualmente las mayores concentraciones de As son hígado y riñón (Tabla 1). La acumulación de As en estos tejidos puede representar un riesgo para el consumidor. Sin embargo, en el músculo y glándula mamaria, las concentraciones son muy bajas, debajo del límite de detección de la técnica que utilizamos para determinarlo (espectrometría de emisión atómica).

En las muestras analizadas la concentración de As estuvo, en todos los casos, por debajo del límite máximo admisible propuesto por el Plan Nacional de Control de Residuos e Higiene en Alimentos. Los resultados obtenidos para hígado y riñón son comparables a los niveles hallados en ganado bovino en otras

Tabla 1. Concentración de As total en las muestras de tejido analizadas.

Tejido	Mínimo	Máximo	Límites máximos admisibles*
Riñón (ng/g)	24,0	73,2	1000 ng/g
Hígado (ng/g)	27,0	46,5	1000 ng/g
Músculo (µg/g)	< 0,5***	< 0,5***	500 ng/g
G. Mamaria (µg/g)	< 0,5***	< 0,5***	sin límite

*** Límite de detección de la técnica utilizada

* Plan nacional de Control de Residuos e Higiene en Alimentos (CREHA - SENASA)

regiones del mundo.

En ganado bovino, los niveles de As en hígado informado por diferentes autores está entre 10 y 50 ng/g y en riñón entre <15 a 106 ng/g (Pérez Carrera et al., 2010). Las concentraciones halladas en hígado y riñón en vacas que habitan zonas con As en nuestro país son similares a los valores informados en ganado expuesto al As en Canadá por Salisbury et al (1991), en los Países Bajos por Vos et al (1987), en Australia por Kramer et al (1983) y en Galicia por López

Alonso et al (2000).

■ ¿PODEMOS COMER LOS PECES QUE PESCAMOS EN LAS LAGUNAS PAMPÁSICAS?

Los peces de agua dulce de mayor importancia para el consumo en Argentina son el sábalo (*Prochilodus lineatus*) y el pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) (Figura 2).

El sábalo es la primera especie de importancia comercial cuya captura se ha incrementado a fines de la dé-

cada del 90 (Volpedo, 2014) con un máximo de 36.000 toneladas en el año 2004. A fines de 2006, la aplicación de las medidas restrictivas en la exportación de este recurso conllevó a la disminución de la captura a 27.505 toneladas, lo que paulatinamente fue decreciendo hasta 2012 donde se registraron 12.148 toneladas (MINAGRI, 2014). En esta especie, Schenone y colaboradores (2014), detectaron As en músculo ($0,27 \pm 0,06$ mg/kg de peso seco).

El pejerrey, que es la segunda especie de importancia comercial de agua dulce, está distribuido en la mayoría de los cuerpos de agua (ríos, arroyos, lagunas y embalses de la llanura Chaco-Pampeana, Figura 3) (Tombari y Volpedo, 2008; Avigliano et al, 2013).

Esta especie es consumida en el mercado interno y externo. Se lo exporta a Europa (Italia, Holanda, Ucrania), a Rusia y a Estados Unidos (MINAGRI, 2014).

Diferentes autores han determinado la concentración de As en músculo de pejerreyes provenientes de distintos cuerpos de agua (Río de la Plata, Laguna Adela, Laguna Barrancas, el Lago Chasicó, Río Quequén Salado) (Tabla 2).

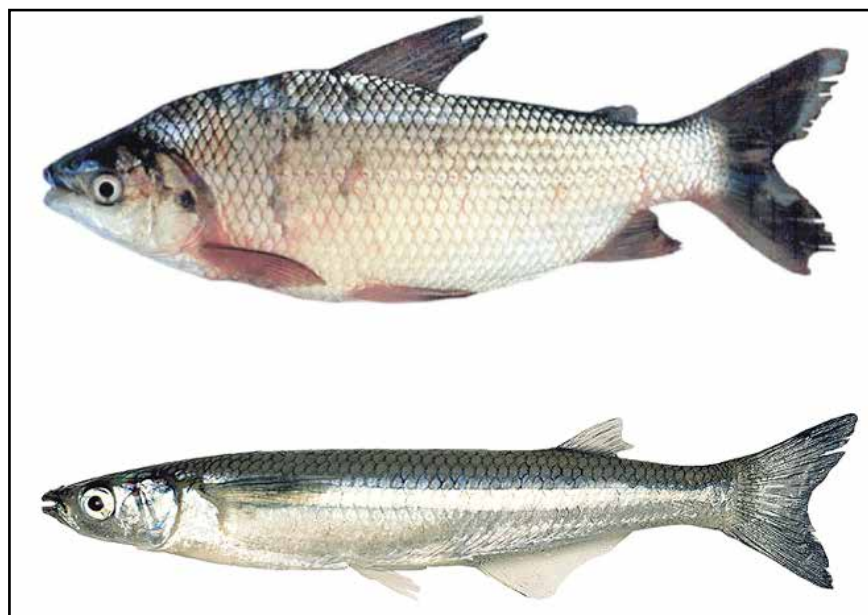


Figura 2. Sábalo (*Prochilodus lineatus*) y pejerrey (*Odontesthes bonariensis*).

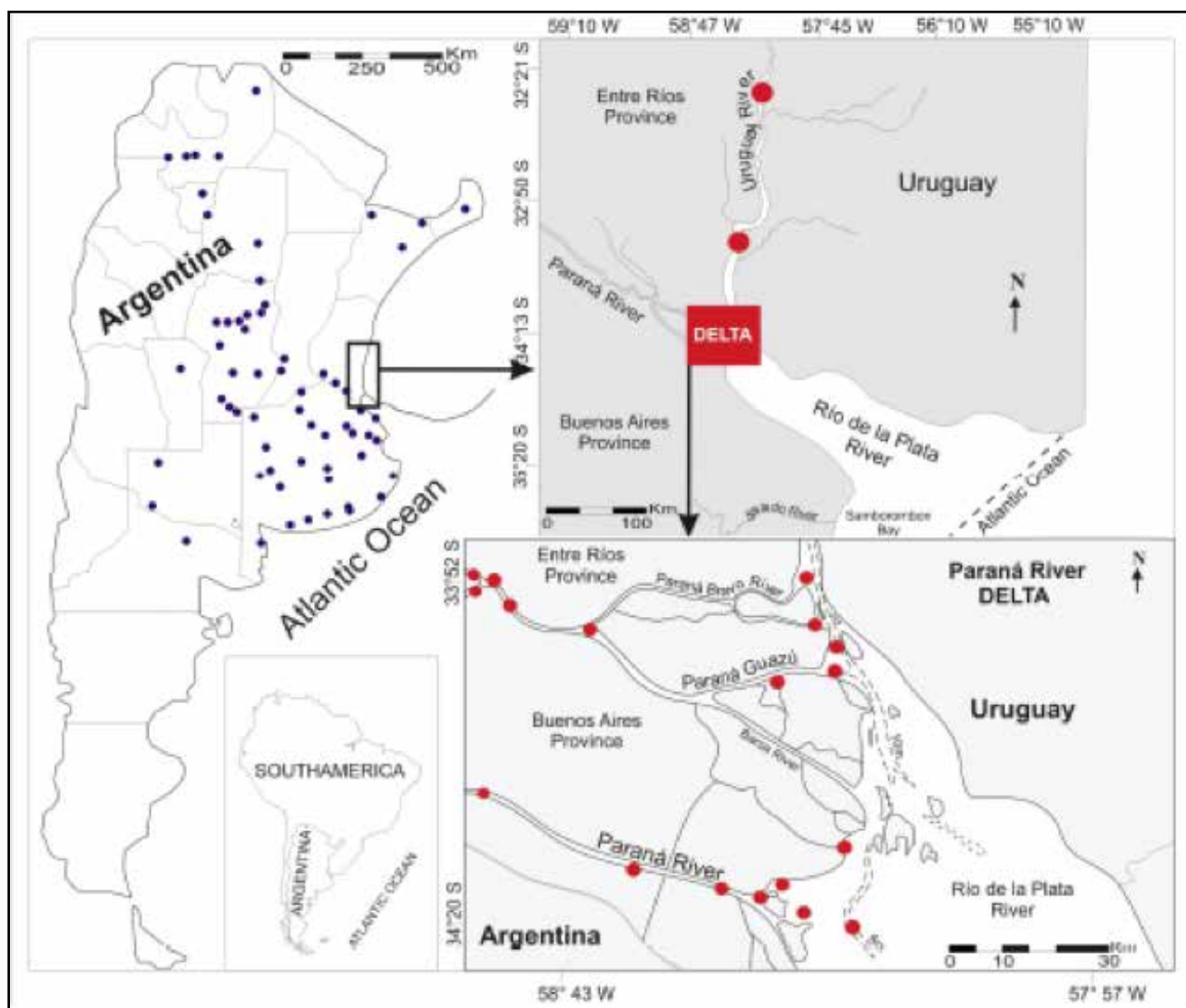


Figura 3. Distribución del pejerrey en la mayoría de los cuerpos de la llanura Chaco-Pampeana, (Avigliano et al., 2013).

Tabla 2. Concentraciones de arsénico en agua y en peces de diferentes ecosistemas acuáticos.

	Concentración de As en musculo (mg/kg)	Concentración de As en agua (µg/L)	Referencia
Río de la Plata	0,03 ± 0,03	3,9	Avigliano y col., 2015
Laguna de Adela	0,05 ± 0,08	28,4	
Laguna de Barrancas	0,04 ± 0,05	42,9	
Lago Chasicó	0,08 ± 0,07	367	Puntoriero y col., 2014
Lago Chasicó	0,03 ± 0,01	195 - 413	
Arroyo Chasicó		96 - 172	Puntoriero y col., 2015 a, b
Río Quequén Salado	1,23		Rosso y col., 2013

Los valores de As determinados en músculo de peces (Tabla 2) son en su mayoría inferiores a los máximos recomendados por el Código Alimentario Argentino (1 mg/kg). Además, si bien estos autores determinan la presencia de As en peces nativos, se sabe que este elemento está presente principalmente como especies orgánicas. Las especies orgánicas del As son menos tóxicas que las inorgánicas (Mohri y colaboradores 1990), por lo tanto, los niveles hallados en músculo de peces no resultarían peligrosos para consumo humano.

El agua y el alimento son las principales fuentes de ingreso del As a los peces. Las concentraciones de As en agua superficial en diferentes cuerpos de agua de Argentina fueron estudiadas en la última década (Schenone et al., 2007; Rosso et al., 2011; 2013, Puntoriero et al., 2013, 2014, 2015).

La concentración de As hallada en el agua del Lago Chasicó fue la más alta (Tabla 2), superando los 15 µg/L recomendados por el nivel guía de protección para la biota acuática sugeridos por la Secretaria de Recursos Hídricos de la Nación y por las normas canadienses CCME (2014) (5µg/L).

La relación entre la concentración de As del agua y de los diferentes tejidos de peces está influenciada por múltiples factores. Algunos de estos son factores ambientales relacionados con aspectos químicos, como la biodisponibilidad del As en el agua, su especiación, los parámetros fisicoquímicos del agua; y otros son aspectos bioecológicos vinculados con la especie (como la fisiología, metabolismo y procesos detoxificantes, la historia de vida evolutiva de la especie, el tipo de presas de las que se alimenta, sus patrones de desplazamientos migratorios, entre

otros).

Esta relación no es directa y presenta una gran variabilidad interespecífica, por lo que los resultados hallados para una determinada especie no podrían ser aplicados a otra especie. En líneas generales, esta variabilidad de las concentraciones de As en músculo de las diferentes especies de peces también se presenta en peces marinos. De Gieter y colaboradores (2002) hallaron en 25 especies de peces marinos del Mar del Norte importantes diferencias en las concentraciones de As determinadas. El análisis de los resultados de estos autores evidencia que los mayores valores de As en músculo lo presentaban las especies asociadas al fondo marino como lenguados y rayas.

■ ¿EL CONTENIDO DE AS EN AGUA SE REFLEJA EN LOS ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL?

La presencia de contaminantes en alimentos implica diversos riesgos para la salud humana, en consecuencia, es un área de investigación que ha recibido atención durante los últimos años. Los contaminantes principalmente identificados en los alimentos son de naturaleza microbiológica o química, en este último caso, como consecuencia del uso incorrecto de medicamentos veterinarios o biocidas; o producto de la contaminación ambiental relacionada con compuestos orgánicos o elementos traza inorgánicos.

En el caso del As, puede provenir del agua de consumo o del alimento con la posibilidad de que los animales puedan bioacumularlo en tejidos o excretarlo a través de heces y orina. Su movilidad en el ambiente está relacionada con diversos parámetros relativos a la composición química del agua y condiciones climáticas entre otras.

La presencia de este elemento, en agua de bebida, suelo y forraje, su impacto sobre la producción ganadera y la transferencia a la cadena agroalimentaria es una problemática que está siendo estudiada en distintas regiones del mundo y es fundamental a la hora de analizar la calidad de los agroalimentos.

En ambientes marinos, distintos autores han informado la transferencia y bioacumulación de As en peces y algas comestibles.

Por otra parte, la mayoría de los trabajos publicados indican que la transferencia de As desde el agua de bebida hacia los alimentos de origen animal es baja, a pesar que los niveles en la dieta, especialmente el agua de bebida, sean elevados.

Mirando hacia el futuro, se plantean muchos desafíos vinculados con este tema, el metabolismo del As en las especies de producción, las formas de excreción, las especies arsenicales presentes en los alimentos y los estudios epidemiológicos relacionados son algunos de ellos.

En definitiva, la transferencia del As hacia los agroalimentos es baja y aunque aún hay muchos interrogantes por responder, sigamos disfrutando del asado y las paellas.

■ GLOSARIO

Léntico: Los ambientes lénticos son cuerpos de agua cerrados que permanecen en un mismo lugar sin correr ni fluir. Comprenden todas las aguas interiores que no presentan corriente continua; es decir, aguas estancadas sin ningún flujo de corriente, como los lagos, las lagunas, los esteros y los pantanos.

Lótico: El adjetivo lótico se refiere al agua fluvial, del Latín *lotus*, participio pasado de *lavere*, lavar. Los eco-

sistemas lóticos pueden contrastarse con los ecosistemas lénticos. Las aguas lóticas pueden tener diversas formas, del venero con unos cuantos centímetros a los grandes ríos con un cauce de varios kilómetros de ancho.

■ BIBLIOGRAFÍA

- Avigliano E, Schenone NF, Volpedo A, Goessler W, Fernández Cirelli A. (2015). Heavy metals and trace elements in muscle of Silverside (*Odontesthes bonariensis*) and water from different environments (Argentina): Aquatic pollution and consumption effect approach. *Sci Total Environ* 506-507: 102-108.
- Avigliano E, Tombari A, Volpedo A. (2013). Fish, Atherinopsidae, Atheriniformes, *Odontesthes bonariensis* Valenciennes, 1835. New records for the Plata Basin, Argentina. *Check List* 9: 640-664.
- Ayerza A. (1918). Arsenicismo regional endémico (keratodermia y melanodermia combinadas). *Boletín de la Academia Nacional de Medicina* 1: 11-41.
- Biagini R, Salvador M, Querio R, Torres Soruco C, Biagini M, Diez Barrantes A. (1995). HACRE: Casos diagnosticados en el período 1972-1993. *Archivo Argentino de Dermatología* 45: 47-52.
- Bundschuh J, Litter MI, Parvez F, Román-Ross G, Nicolli HB, Jean JS, Liu CW, López D, Armienta MA, Guilherme LR, Cuevas AG, Cornejo L, Cumbal L, Toujaguez R. (2012-a). One century of arsenic exposure in Latin America: A review of history and occurrence from 14 countries. *Sci Total Environ*: 429: 2-35.
- Bundschuh J, Nath B, Bhattacharya P, Liu CW, Armienta MA, Moreno López MV, Lopez DL, Jean JS, Cornejo L, Lauer Macedo LF, Filho AT. (2012-b). Arsenic in the human food chain: the Latin American perspective. *Sci Total Environ* 429: 92-106.
- CAA (Código Alimentario Argentino). Actualizado 2007.
- CCME Canadian Environmental Quality Guidelines. (2014). http://www.ccme.ca/en/resources/canadian_environmental_quality_guidelines/index.html
- Cervera M, López, J, Montoro R. (1994). Arsenic content of Spanish cows' milk determined by dry ashing hydride generation atomic absorption spectrometry. *J Dairy Res* 61: 83-89.
- De Gieter M., Leermakers M., Van Ryssen R., Noyen J, Goeyens L, Baeyens W. (2002). Total and toxic arsenic levels in North Sea fish. *Arch Environ Contam Toxicol* 43: 406-417.
- Fernández Cirelli A, Miretzky P. (2004). Ionic relations: a tool for studying hydrogeochemical processes in Pampean shallow lakes (Buenos Aires, Argentina). *Quat Int* 114: 113-121.
- Galindo G, Herrero MA, Korol S, Fernández Cirelli A. (2004). Water resources in the Salado river drainage basin, Buenos Aires, Argentina. Chemical and microbiological characteristics. *Water Int* 29: 81-91.
- Goyenechea M. (1917). Sobre la nueva enfermedad descubierta en Bell-Ville. *Rev Med de Rosario* 7: 485.
- Kramer H, Steiner J, Vallely P. (1983). Trace element concentration in the liver, kidney and muscle of Queensland cattle. *Bull Environ Contam Toxicol* 30: 588-594.
- López Alonso M, Benedito JL, Miranda M, Castillo C, Hernández J, Shore RF. (2000). Toxic and trace elements in liver, kidney and meat from cattle slaughtered in Galicia (NW Spain). *Food Addit Contam* 17: 447-457.
- MINAGRI 2014, www.minagri.gov.ar
- Mohri T, Hisanaga A, Ishinishi N. (1990). Arsenic intake and excretion by Japanese adults: a 7-day duplicate diet study. *Food Chem Toxicol* 28: 521-529.
- Nicolli HB, Bundschuh J, García JW, Falcón CM, Jean J-S. (2010) Sources and controls for the mobility of arsenic in oxidizing groundwaters from loess-type sediments in arid/semi-arid dry climates. Evidence from the Chaco-Pampean plain (Argentina). *Water Res* 44: 5589-5604.
- Nicolli HB, Bundschuh J, Blanco MDC, Tujchneider OC, Panarello HO, Dapena C, Rusansky JE. (2012). Arsenic and associated trace-elements in groundwater from the Chaco-Pampean plain, Argentina: Results from 100 years of research. *Sci Total Environ* 429: 36-56.
- Paoloni JD, Sequeira ME, Espósito ME, Fiorentino CE, Blanco MDC. (2009). Arsenic in water resources of the Southern Pampa Plains, Argentina. *J Environ Public Health*, 1-7.
- Pérez Carrera A, Fernández Cirelli A. (2004). Niveles de arsénico y flúor en agua de bebida animal

- en establecimientos de producción lechera (Bell Ville, Pcia. de Córdoba). *Revista Investigación Veterinaria (INVET)*, 6: 51-59
- Pérez Carrera A, Fernández Cirelli A. (2005). Arsenic concentration in water and bovine milk in Córdoba, Argentina. Preliminary results. *J Dairy Res* 72: 122-124
- Pérez Carrera A, Fernández Cirelli A. (2007). Problemática del arsénico en la llanura sudeste de la provincia de Córdoba: Biotransferencia a leche bovina. *Revista Investigación Veterinaria (INVET)* 9, 123-35.
- Pérez Carrera A, Pérez Gardiner ML, Fernández Cirelli A. (2010). Presencia de arsénico en tejidos de origen bovino en el sudeste de la provincia de Córdoba, Argentina. *Revista Investigación Veterinaria (INVET)*, 12: 59-68.
- Plan CREHA (SENASA). Plan anual 2005 de Residuos y Toxinas en alimentos de origen animal.
- Puntoriero ML, Volpedo A, Fernández-Cirelli A. (2014). Arsenic and fluoride in surface water (Chasicó Lake, Argentina). *Front Environ Sci, section Groundwater Resources and Management* 2: 1-5.
- Puntoriero ML, Volpedo A, Fernández Cirelli A. (2014). Riesgo para la población rural en zonas con alto contenido de arsénico. *Acta Toxicol Argent* 22: 15-22.
- Puntoriero ML, Fernández Cirelli A, Volpedo A. (2015). Geochemical mechanisms controlling the chemical composition of groundwater and surface water in the southwest of the Pampean plain (Argentina). *J Geochem Explor* 150: 64-72.
- Rosso J.J, Troncoso JJ, Fernández Cirelli A. (2011 a). Geographic distribution of arsenic and trace metals in lotic ecosystems of Pampa Plain, Argentina. *Bull Environ Contam Toxicol* 86: 129-132.
- Rosso JJ, Puntoriero ML, Troncoso JJ, Volpedo AV, Cirelli AF. (2011b). Occurrence of fluoride in arsenic-rich surface waters: a case study in the Pampa Plain, Argentina. *Bull Environ Contam Toxicol* 87: 409-413.
- Salisbury C, Chan W, Saschenbrecker P. (1991). Multielement concentrations in liver and kidney tissues from five species of Canadian slaughter animals. *J Assoc Anal Chem* 74: 587-591.
- Schenone N, Volpedo AV, Fernández Cirelli A. (2007). Trace metal contents in water and sediments in Samborombón Bay wetland, Argentina. *Wetland Ecology Management* 15: 303-310.
- Smedley P, Kinniburgh D. (2002). A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Appl Geochem* 17: 517-568.
- Tombari A, Volpedo AV. (2008). Modificaciones en la distribución original de especies por impacto antrópico: el caso de *Odontesthes bonariensis* (Pisces: Atherinopsidae). En: "Efecto de los cambios globales sobre biodiversidad". 155-165. Eds. A. V. Volpedo y L. Fernández Reyes. RED CYTED 406RT0285 "Efecto cambios globales sobre los humedales de Iberoamérica" ISBN 978-987-05-5533-9, 294pp
- Volpedo AV. (2014). La biodiversidad acuática en Argentina: problemáticas y desafíos. *Ciencia e Investigación*, 64: 33-44
- Vos G, Hovens J, Van Delft W. (1987). Arsenic, cadmium, lead and mercury in meat, livers and kidneys of cattle slaughtered in the Netherlands during 1980-1985. *Food Addit Contam* 4: 73-88.

CUALES SON LOS APORTES DE LA ECOTOXICOLOGÍA A LAS REGULACIONES AMBIENTALES

Palabras clave: productos químicos, ecotoxicología, legislación ambiental.
Key words: chemicals, ecotoxicology, environmental legislation.

La ecotoxicología es la disciplina científica que estudia el efecto de las sustancias y compuestos químicos sobre los ecosistemas. Una característica de esta disciplina es que los conocimientos científicos y las tecnologías que desarrolla se utilizan para resolver problemas ambientales concretos. En todos los países existen normativas que regulan la presencia de compuestos químicos en el ambiente debido a sus posibles efectos tanto sobre la salud humana como sobre los ecosistemas.

Actualmente las normativas se fijan tomando en cuenta las principales características de los compuestos químicos que las hacen peligrosas para el ambiente, su toxicidad, su persistencia en el ambiente y su potencial de bioacumulación. Estas características ecotoxicológicas se estudian generalmente en el laboratorio. Las investigaciones realizadas directamente en el campo, que permiten detectar situaciones nuevas que no pueden predecirse a partir de estudios en laboratorio, también se consideran. Los estudios ecotoxicológicos son los que proporcionan la información científica que luego va a traducirse en legislaciones con distinto alcance: convenios internacionales que prohíben el uso de ciertos compuestos químicos a nivel mundial; regulaciones para las descargas de efluentes; autorizaciones para la aplicación deliberada de compuestos químicos (ej. pesticidas); evaluación y remediación sitios contaminados y clasificación de productos químicos. En este trabajo se desarrolla una revisión de los aportes de la ecotoxicología a las diferentes regulaciones, tanto a nivel internacional como nacional.

Estela Planes*¹ y Julio Fuchs^{2,3}

¹ INTI-Química. Edificio 38. Instituto Nacional de Tecnología Industrial. Av. General Paz 5445, (1650) San Martín.

² IQUIBICEN, Departamento de Química Biológica, FCEN-UBA Ciudad Universitaria, Pabellón II, (1428) Buenos Aires.

³ Universidad Argentina John F. Kennedy.

E-mail: biotec@inti.gov.ar

Ecotoxicology is the scientific discipline that studies the effect of chemicals on ecosystems. A feature of this discipline is that scientific knowledge and technologies developed are used to solve specific environmental problems. In all countries the chemicals in the environment are regulated due to the possible effects on both human health and ecosystems.

Currently the regulations are set taking into account the main characteristics of the chemical compounds that make them dangerous for the environment, their toxicity, persistence in the environment and bioaccumulation potential. These ecotoxicological properties are usually studied in the laboratory. The research on the effects on organisms carried out directly in the field, to detect new situations that can not be predicted from laboratory studies, are also considered. Ecotoxicological studies are providing scientific information which will then be translated into legislation with different scope: international conventions banning the use of certain chemicals worldwide; regulations for effluent discharges; authorization for the deliberate application of chemicals (eg. pesticides); assessment and remediation of contaminated sites and classification of chemicals. The contribution of ecotoxicology to these regulations, both at international and national levels is reviewed.

■ ANTECEDENTES

El surgimiento de la ecotoxicología se relaciona con dos episodios que se produjeron como consecuencia de la contaminación del ambiente con sustancias químicas: la enfermedad de Minamata causada por el mercurio y la declinación de las poblaciones de aves silvestres por

efecto de los plaguicidas clorados (Newman, 2001).

En el año 1950, en Japón, una empresa productora de acetaldehído que utilizaba mercurio como catalizador, vertía sus efluentes sin tratamiento en la Bahía de Minamata. El mercurio, que es muy tóxico, se bioacumuló en los organismos y se

transfirió a través de la cadena trófica marina, teniendo lugar un proceso de biomagnificación. Como resultado se produjo un aumento de la concentración del mercurio en aquellos organismos que ocupaban los niveles superiores de la cadena trófica, como peces predadores y aves piscívoras. Cientos de personas se intoxicaron por consumir peces

contaminados con mercurio, lo cual provocó la muerte de muchas de ellas y dejó secuelas de por vida a otras.

La enfermedad de Minamata se puso de manifiesto cuando se enfermaron las personas; sin embargo, previamente se habían observado cambios en la vida marina, peces muertos, pulpos flotando, aves que se precipitaban al agua en pleno vuelo, y ataques en animales domésticos (gatos). Pero al no conocerse la causa de estos cambios no pudieron interpretarse esos hechos como una advertencia de lo que ocurriría luego con la población humana (Yorifuji, 2013).

El DDT, un compuesto orgánico clorado empleado como insecticida, se comenzó a usar durante la segunda guerra mundial. Es un compuesto tóxico, que permanece como tal en el ambiente durante mucho tiempo porque casi no se degrada y, al igual que el mercurio, se bioacumula y biomagnifica. Durante las décadas del 50 y 60, se observó una declinación de las poblaciones de aves silvestres en el hemisferio norte; se identificó al DDT y a otros pesticidas clorados usados en la agricultura como los agentes causantes de ese efecto.

Estos dos hechos (la tragedia de Minamata y la declinación de poblaciones de aves silvestres) mostraron la necesidad de conocer los efectos de las sustancias y compuestos químicos una vez presentes en el ambiente. La ecotoxicología, disciplina que estudia justamente el efecto de los contaminantes químicos sobre los ecosistemas, surgió asociada con esa necesidad (Newman, 2001).

El famoso libro que Rachel Carson escribió en el año 1962, *Primavera Silenciosa*, sobre la declinación de las poblaciones de aves

por efecto de los pesticidas, tuvo un gran impacto sobre la opinión pública; marcó la toma de conciencia sobre el efecto que las actividades humanas podían causar sobre la vida silvestre y sobre la necesidad de tomar acciones para protegerla (Werner y Hitzfeld, 2012).

Por otra parte, muchos autores asocian la difusión que alcanzó el libro de Rachel Carson con el surgimiento de una nueva rama del derecho, el derecho ambiental. Es una rama del derecho joven en comparación con otras, es muy extensa, y abarca muchos aspectos, por ejemplo la regulación de los compuestos químicos tóxicos, los recursos naturales o la protección de especies en peligro de extinción (Wright y Welbourn, 2002).

A partir de la conferencia de Naciones Unidas sobre Ambiente Humano que tuvo lugar en Estocolmo en el año 1972 se crearon, en muchos países, ministerios y secretarías de ambiente, y se promulgaron leyes ambientales.

Se consolidaron, a partir de esa fecha, programas de investigación, educación y regulación relacionados específicamente con la presencia de sustancias químicas en el ambiente.

A partir de los años 60, se comenzó a controlar mediante legislación específica la liberación de sustancias tóxicas al ambiente, tanto desde los efluentes líquidos y gaseosos como aquellos de aplicación deliberada (por ejemplo, los pesticidas).

Hacia 1980 apareció otro problema en relación con las sustancias tóxicas, el cual requería un enfoque diferente y más complejo para su regulación. En los tejidos de animales que vivían en las regiones árticas

(osos polares, focas) se encontraron compuestos como pesticidas clorados y bifenilos policlorados, pese a que los mismos no se utilizaban en esas regiones. Se comprobó que estos contaminantes se podían transportar a través de la atmósfera hacia regiones muy alejadas del sitio de emisión. Estos compuestos se denominan Compuestos Orgánicos Persistentes (COPs), son muy resistentes a la degradación y muy bioacumulables y tóxicos (Wright y Welbourn, 2002). En el año 2004 entró en vigencia el Convenio de Estocolmo, al cual adhirieron la mayoría de los países, que prohibió el uso de compuestos orgánicos persistentes (COPs). La Argentina adhirió al Convenio de Estocolmo a través de la ley 26.011 del año 2004.

El caso del mercurio es similar al de los COPs, en el sentido que es persistente, puede transportarse a largas distancias, se bioacumula, biomagnifica y además es muy tóxico para el ser humano. El Convenio de Minamata, firmado recientemente por muchos países, tiene como objetivo proteger la salud humana y el ambiente de las emisiones y liberaciones por actividades humanas del mercurio y sus compuestos (PNUMA, 2014).

■ LOS COMPUESTOS QUÍMICOS EN EL AMBIENTE

Las sustancias y compuestos químicos pueden llegar al ambiente a través de distintos caminos: el vertido de efluentes industriales y domésticos, derrames accidentales, el uso de pesticidas y fertilizantes en la agricultura, la disposición de residuos en rellenos sanitarios y desde sitios contaminados, entre otros. Una vez en el ambiente los compuestos químicos se transportan entre los distintos compartimentos (aire, agua y suelo), pueden transformarse y entrar en contacto con los

organismos.

Las sustancias y compuestos químicos presentes en el ambiente pueden causar daños tanto sobre la salud de las personas como sobre los ecosistemas y en muchos casos, ambos daños coexisten. En el caso de Minamata, la contaminación con mercurio afectó tanto a la población humana como a la vida marina.

En la cuenca Matanza-Riachuelo, la contaminación del río causó efectos dañinos sobre el ecosistema acuático y sobre la salud de las personas que habitan en las cercanías de la cuenca (Causa Mendoza, 2015). El estudio de los efectos de los contaminantes sobre el ecosistema acuático entra dentro del ámbito de estudio de la ecotoxicología, mientras que los efectos sobre la salud de las personas están abordados por la toxicología ambiental. Evidentemente existe una relación estrecha entre ambas, ya que muchos compuestos químicos que son dañinos para el ser humano también lo son para los organismos que habitan en el ecosistema.

Con el fin de proteger a los organismos y a los ecosistemas de los efectos dañinos que pueden causar las sustancias tóxicas, es necesario regular directamente las fuentes de contaminación e imponer restricciones para el uso de productos químicos. Esto se logra a través de legislación, que abarca convenios internacionales que prohíben el uso de compuestos químicos (por ejemplo, el Convenio de Estocolmo para Bifenilos Policlorados y Pesticidas Organoclorados), regulaciones locales que establecen las cantidades máximas de una sustancia o compuesto que puede volcarse a un cuerpo de agua o especifican el procedimiento para autorizar el uso de pesticidas.

■ PROPIEDADES RELEVANTES DE LOS COMPUESTOS QUÍMICOS DESDE EL PUNTO DE VISTA AMBIENTAL

La toxicidad es una propiedad fundamental, pero la persistencia del compuesto químico en el ambiente determina si el mismo tiene el potencial de causar efectos a largo plazo. Aquellos compuestos degradables fácilmente, sea por mecanismos fisicoquímicos o mediante su biodegradación por los microorganismos, van a permanecer poco tiempo en el ambiente, y sus efectos tóxicos sobre los organismos serán de corta duración. Las sustancias y compuestos que se bioacumulan pueden causar toxicidad a largo plazo, ya que la toxicidad es una función de la carga tóxica en el organismo.

Las propiedades relevantes de las sustancias y compuestos químicos desde el punto de vista ambiental son la toxicidad, la persistencia en el ambiente y el potencial de bioacumulación.

TOXICIDAD: EFECTOS DE LOS COMPUESTOS QUÍMICOS SOBRE DISTINTOS ORGANISMOS

La toxicidad es el grado al cual un compuesto o mezcla es capaz de causar efectos nocivos a los organismos, por ejemplo muerte, inhibición del crecimiento, inhibición de la reproducción.

¿CÓMO SE DETERMINA LA TOXICIDAD DE UN COMPUESTO QUÍMICO?

Mediante la realización de ensayos de toxicidad, con distintos organismos, algas, crustáceos, peces, plantas, lombrices, por ejemplo.

No existe un instrumento que pueda medir toxicidad. Las concentraciones de las sustancias que cau-

san efectos nocivos se pueden medir con un instrumento, cromatógrafo, espectrofotómetro, pero la "toxicidad" se puede determinar solamente sobre un material vivo (Jorgensen, 2010).

¿CÓMO SE REALIZA UN ENSAYO DE TOXICIDAD?

En un ensayo de toxicidad, se expone a un grupo seleccionado de organismos a distintas concentraciones de sustancias y compuestos químicos puros, mezclas de sustancias o muestras ambientales durante un determinado período de tiempo. Las muestras ambientales pueden ser efluentes, suelos, sedimentos, y generalmente contienen muchas sustancias químicas diferentes.

Veamos dos ejemplos simplificados de ensayos de toxicidad, uno realizados con peces y otro realizado con algas.

Se han expuesto 10 peces a distintas concentraciones de una sustancia química, durante 96 horas; al finalizar este período se contó el número de organismos vivos y muertos para cada concentración ensayada. Los resultados obtenidos se presentan en la **Figura 1**. Se realizó un control (sin el agregado de la sustancia) con 10 peces, que estaban todos vivos al finalizar el ensayo.

Analizando los resultados se observa que cuando los organismos están expuestos a concentraciones bajas de la sustancia (1,5 mg/l) no hay ningún organismo muerto; por el contrario, cuando están expuestos a concentraciones de 100 mg/l todos los organismos expuestos mueren.

La respuesta de los organismos está en relación con la concentración de las sustancias tóxicas: la exposición a concentraciones mayores causa efecto (en este caso

Concentración de la sustancia (mg/l)	1,5	3	6	12	25	50	100
Número de organismos expuestos	10	10	10	10	10	10	10
Número de organismos muertos	0	1	5	7	8	9	10
% de organismos muertos	0	10	50	70	80	90	100

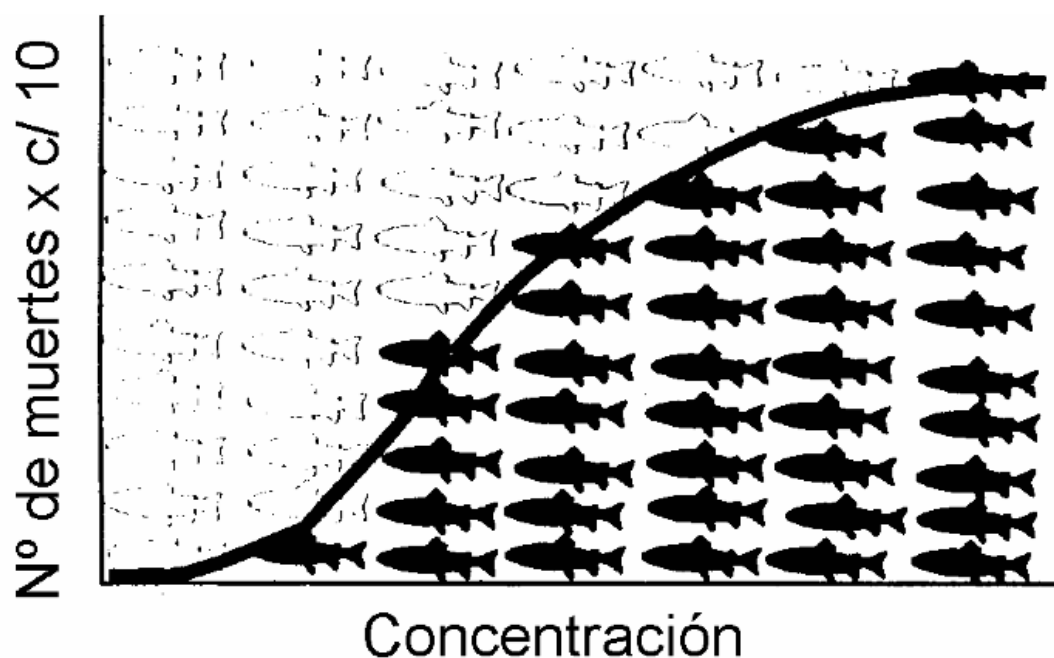


Figura 1. Resultados del ensayo de toxicidad y Relación Concentración Respuesta. Adaptado de Newman (2001).

mortalidad) sobre un mayor número de organismos. La relación entre la concentración del tóxico a la cual los organismos están expuestos y la respuesta de los organismos frente a la acción del tóxico, está descrita por lo que se denomina la relación concentración-respuesta.

A partir de la relación concentración-respuesta se pueden establecer parámetros como la Concentración Letal 50 (CL_{50}), que es la concentración del tóxico que mata al 50% de los individuos expuestos. Según los resultados del ejemplo presentado,

el valor de la CL_{50} correspondería a una concentración cercana a 6 mg/l de la sustancia evaluada.

Si realizamos el mismo ensayo con distintas sustancias, y obtenemos la CL_{50} para cada una, este parámetro nos permite comparar la toxicidad de esas sustancias: las más tóxicas son aquellas para las cuales el valor de CL_{50} es menor, o en otras palabras, aquellas que a menores concentraciones causan efectos sobre un número mayor de organismos.

En el ensayo con algas se estudian los efectos de las sustancias sobre su crecimiento. En la **Figura 2** se ve una observación al microscopio del alga que se utiliza para los ensayos de toxicidad. Estas algas son unicelulares, tienen forma de media luna y se reproducen por división. El ensayo consiste en colocar un número de células de algas en recipientes que contienen un medio de cultivo, con concentraciones crecientes de la sustancia cuya toxicidad se desea evaluar e incubarlos con luz continua y a temperatura controlada durante 72 horas.

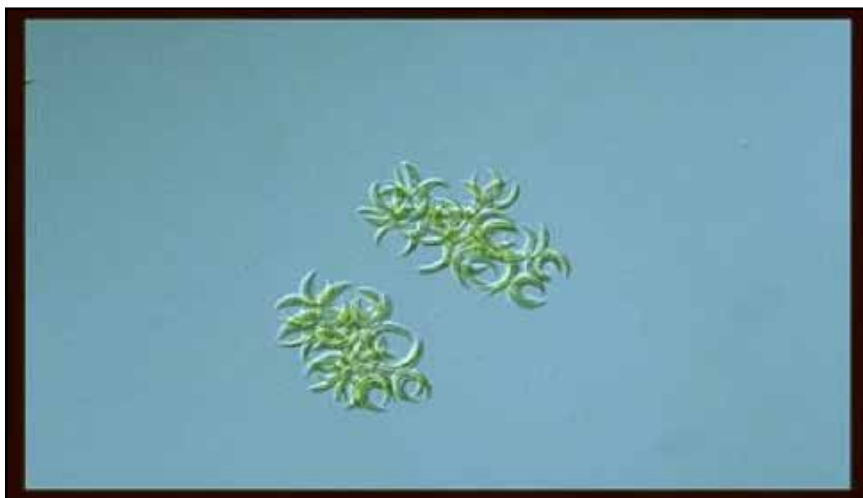


Figura 2. *Pseudokirchneriella subcapitata* F.



Figura 3. Ensayo de toxicidad con algas. El recipiente de la izquierda en la foto no tiene agregado de la sustancia (control), la concentración de la sustancia aumenta en el sentido de la flecha.

En la **Figura 3** se puede observar el resultado de un ensayo de toxicidad empleando estas algas; si bien no se ven las algas, sí se puede ver un color verde, que es más intenso cuando el recipiente contiene un mayor número de algas las cuales se deben contar en el laboratorio al microscopio.

Se ve que en los recipientes que contienen mayores concentraciones de la sustancia a evaluar las algas no crecieron, no se ve color, y a menores concentraciones crecieron en forma similar al control. En un ensayo como este se determina la concentración de la sustancia que inhibe en un 50% el crecimiento

de las algas respecto al control (Concentración inhibitoria 50, CI_{50}) (Norma IRAM 29111).

¿CÓMO SE EXPRESAN LOS RESULTADOS DE LOS ENSAYOS DE TOXICIDAD?

Los resultados de los ensayos de toxicidad se realizan con distintos organismos y se expresan con distintos parámetros como la CL_{50} y la CI_{50} . Un parámetro importante que se determina a partir de estos ensayos es el NOEC (concentración para la que no se observa efecto), que es la mayor concentración de tóxico para la cual no se observa un efecto estadísticamente significativo res-

pecto del control.

PERSISTENCIA DE LOS COMPUESTOS QUÍMICOS EN EL AMBIENTE

El término “persistencia” se aplica a los compuestos orgánicos que no sufren transformaciones ni se degradan una vez liberados al ambiente. Si un compuesto permanece sin modificaciones en el ambiente durante largos períodos de tiempo y además es tóxico, las consecuencias serán más importantes que si se transformara en productos de degradación menos nocivos (Wright y Welbourn, 2002; SGA, 2013).

Los principales mecanismos de degradación en el ambiente son la fotólisis (degradación por efecto de la luz), la hidrólisis (ruptura de la molécula por reacción con agua) y la biodegradación.

La biodegradación es la ruptura de un compuesto orgánico por actividad de los microorganismos. La biodegradación completa, o mineralización, es la oxidación del compuesto orgánico, que es transformado en agua y dióxido de carbono por los microorganismos. Algunos compuestos orgánicos se biodegradan parcialmente, se altera la estructura química del compuesto original, pero se forman nuevos compuestos, cuya toxicidad es necesario evaluar.

La biodegradabilidad es una propiedad intrínseca de un compuesto químico y se estudia en el laboratorio utilizando microorganismos. Para el caso de los detergentes de uso doméstico e industrial se debe demostrar su biodegradabilidad como requisito regulatorio para la aprobación de los mismos.

POTENCIAL DE BIOACUMULACIÓN

La bioacumulación de una sus-

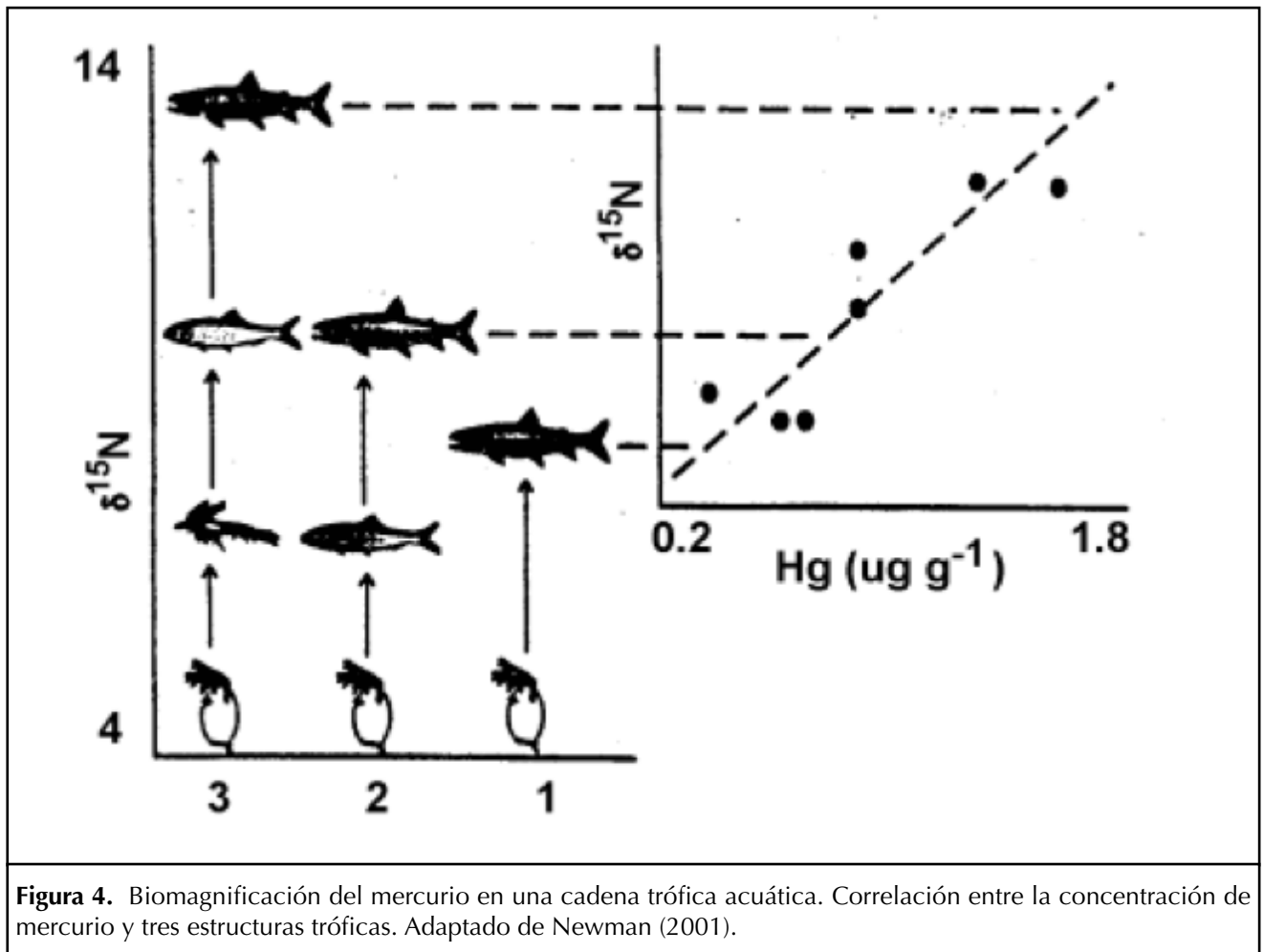


Figura 4. Biomagnificación del mercurio en una cadena trófica acuática. Correlación entre la concentración de mercurio y tres estructuras tróficas. Adaptado de Newman (2001).

tancia o un compuesto químico se produce cuando la cantidad que ingresa a un organismo es mayor que la que el organismo elimina. Como resultado de este proceso, la concentración del contaminante en el organismo es más elevada que la concentración en la fuente.

La acumulación de una sustancia a lo largo de niveles sucesivos de la cadena trófica se denomina biomagnificación. (Figura 4).

En la parte izquierda de la Figura 4 se presentan tres estructuras tróficas para la trucha: la trucha que se alimenta de zooplancton (estructura 1); la trucha que se alimenta de otro pez que a su vez se alimenta de zooplancton (estructura 2) y la trucha que se alimenta de otro pez, que se alimenta del camarón que a

su vez se alimenta de zooplancton (estructura 3). El nivel trófico que ocupa la trucha en cada una de las tres estructuras tróficas se determinó mediante la cuantificación de la proporción de un isótopo del nitrógeno (^{15}N) respecto del nitrógeno (^{14}N) en el tejido de los organismos. La relación entre ambos ($\delta^{15}\text{N}$) aumenta con cada intercambio trófico. En la mitad derecha de la figura están representadas las concentraciones de mercurio en las truchas de cada estructura y los valores para el $\delta^{15}\text{N}$ para las truchas. Se evidencia una relación clara entre la concentración de mercurio y el nivel trófico de los individuos, indicando el fenómeno de biomagnificación.

Las sustancias con un elevado potencial de bioacumulación son peligrosas. Aunque las cantidades

que lleguen al ambiente sean pequeñas, tanto los animales en el ecosistema como las personas pueden estar expuestos a altas concentraciones a través de la ingesta de organismos que bioacumularon la sustancia (por ejemplo, consumo de peces), como se demostró en el caso de la biomagnificación del mercurio en la bahía de Minamata.

■¿CÓMO SE INCORPORAN LOS CONOCIMIENTOS BRINDADOS POR LA ECOTOXICOLOGÍA EN LAS REGULACIONES (LEGISLACIONES AMBIENTALES)?

Una vez identificadas las sustancias tóxicas y las concentraciones potencialmente dañinas de las mismas, es necesario limitar mediante regulaciones la cantidad de estas sustancias presentes en el ambiente.

El conjunto de normas que regulan las sustancias químicas en el ambiente contempla distintas situaciones: descargas de efluentes, aplicación deliberada de compuestos químicos (pesticidas), sitios contaminados, registro y clasificación de productos químicos, entre otros.

Una vez establecidos los límites es necesario realizar el monitoreo químico y biológico del medio receptor para verificar la eficacia de las acciones de control (Werner y Hitzfeld, 2012).

Para explicar cómo proceden los organismos encargados del control ambiental, vamos a ejemplificar con el vertido de compuestos químicos a cuerpos de agua superficiales desde efluentes líquidos.

LÍMITES PARA EL VERTIDO DE EFLUENTES A CUERPOS DE AGUA SUPERFICIALES

Las concentraciones de los compuestos químicos en los efluentes se fijan de forma tal que una vez diluidos en el cuerpo receptor, no afecten a los organismos que allí habitan.

En el procedimiento se definen los usos de cuerpo receptor, las características del mismo según los usos (niveles guía) y las concentraciones máximas admisibles para los velcos de efluentes.

USOS PARA LOS CUERPOS DE AGUA SUPERFICIALES

En una primera etapa las autoridades de control ambiental asignan los usos para los cuerpos de agua superficiales. Algunos de los posibles usos son: fuente de provisión de agua para consumo humano, fuente de provisión de agua para consumo de animales (ganado), agua para agricultura (riego), agua para uso recreacional y preservación de flora y

fauna acuática.

CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD DE LAS AGUAS SEGÚN LOS DISTINTOS USOS

Para que un cuerpo de agua pueda ser adecuado para un determinado uso, el agua debe reunir ciertas características de calidad fisicoquímica y microbiológica. Por ejemplo, si el oxígeno disuelto en el agua es muy bajo, los peces y otros organismos acuáticos no pueden respirar y ese cuerpo de agua no tiene las condiciones adecuadas para la preservación de la vida acuática.

Si en el agua tenemos sustancias tóxicas en concentraciones que afectan a la salud humana y a los organismos del ecosistema, el agua no reúne las condiciones adecuadas para uso como fuente de agua potable, ni para la preservación de la vida acuática. Por lo tanto para cada sustancia y compuesto tóxico que pudiera estar presente en el agua y de acuerdo a su uso, se deben establecer las concentraciones que no causen efectos adversos.

¿CÓMO SE FIJAN LAS CONCENTRACIONES QUE NO CAUSAN EFECTOS ADVERSOS?

Para fijar esas concentraciones, para el caso del uso como fuente de agua potable (apta para consumo humano con tratamiento convencional) se toma en cuenta el efecto de las sustancias sobre la salud humana y la eficacia de remoción de contaminantes que pueda tener el tratamiento que se realizará al agua para potabilizarla (por ejemplo, etapas de coagulación, sedimentación, filtración y desinfección).

¿Cómo se establece el valor de concentración que no causa efectos adversos sobre los organismos del ecosistema para una determi-

nada sustancia? Para establecer las concentraciones de las sustancias tóxicas que no deben superarse en el cuerpo de agua con el fin de preservar la vida acuática, las agencias reguladoras utilizan distintas metodologías que no difieren sustancialmente.

Se emplea la información que proviene generalmente de los resultados obtenidos con ensayos de toxicidad realizados en el laboratorio, con distintas especies, como describimos en ítem ensayos de toxicidad.

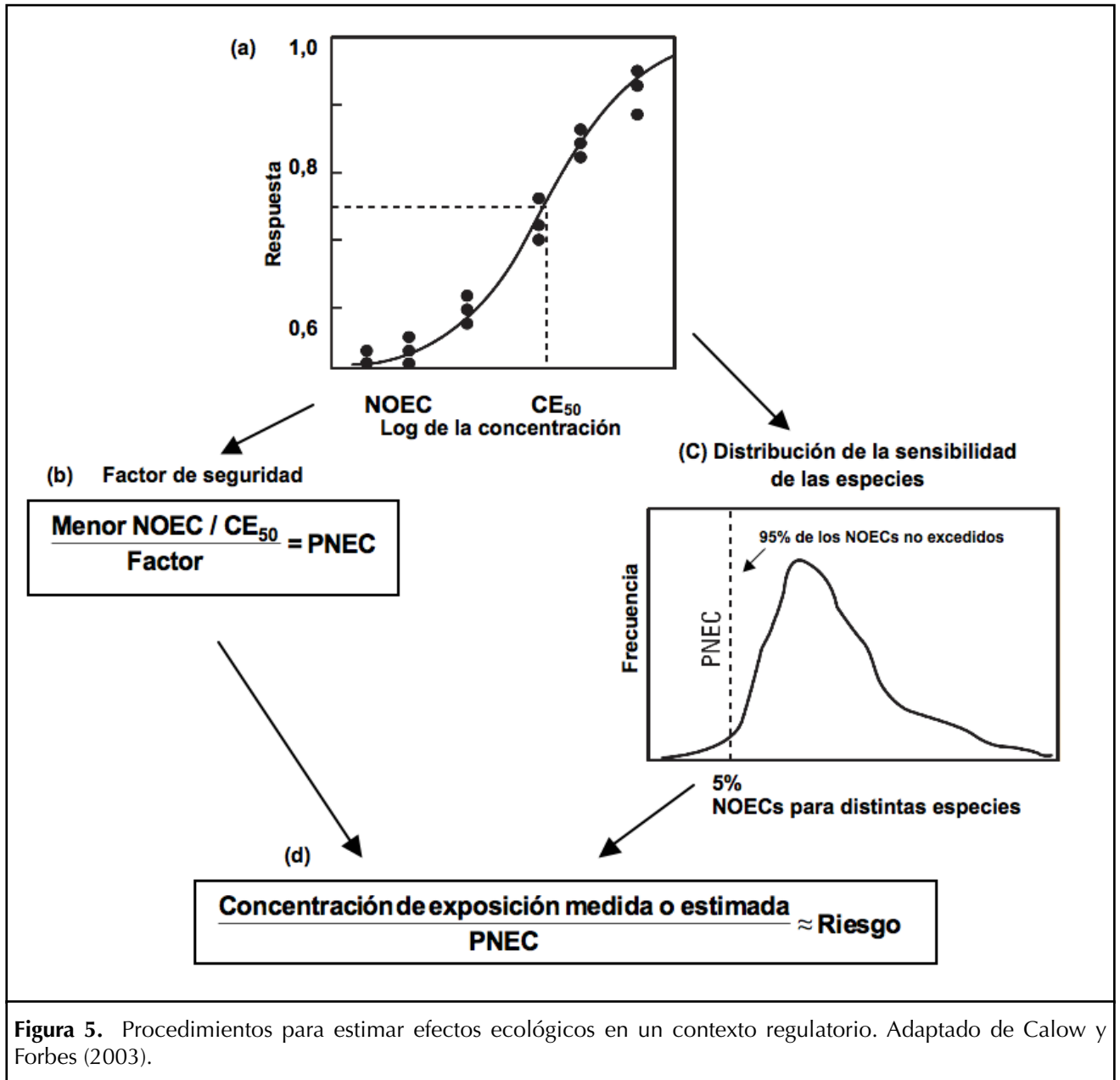
¿De qué datos se dispone? De los valores de CL_{50} , CI_{50} , NOEC para las distintas sustancias, obtenidos mediante ensayos de toxicidad con distintas especies. Las agencias reguladoras utilizan toda la información actualizada disponible en la literatura científica.

Se utilizan dos enfoques para establecer el valor de la concentración que no causa efectos sobre los organismos (Calow y Forbes, 2003). El término que se usa en inglés para nombrar esta concentración es PNEC (Predicted No-Effect Concentration). En la **Figura 5** se representan los dos enfoques.

Enfoque 1: Factores de seguridad

Con los resultados de ensayos de toxicidad sobre varias especies, se elige aquel que corresponde a la especie más sensible, o sea el valor menor de CE_{50} o de NOEC.

En la mayoría de los casos los datos provienen de ensayos de laboratorio a corto plazo (agudos) realizados sobre unas pocas especies, entonces, ¿cómo extrapolar los datos de efectos a corto plazo a datos de efecto a largo plazo (crónicos)?, ¿cómo extrapolar los datos obtenidos sobre una especie al resto de las especies?, ¿cómo extrapolar los



datos obtenidos en ensayos de laboratorio a un ambiente natural?

Se utilizan factores de seguridad, también llamados factores de aplicación. Se elige el resultado obtenido con la especie más sensible y se divide ese resultado por un factor de seguridad, 10, 100 o 1000. Este factor es inversamente proporcional a la cantidad y calidad de los datos de toxicidad que se disponga. Como resultado de este procedimiento se obtiene un valor de PNEC, concen-

tración por debajo de la cual se estima que no se producirán efectos adversos sobre los organismos del ecosistema.

Enfoque 2: Distribución de la sensibilidad de las especies

Es otro método para derivar el valor de PNEC. A partir de los resultados de $NOEC$ obtenidos mediante ensayos crónicos para muchas especies, se construye una curva de distribución de frecuencias. Esta

distribución se utiliza para estimar el valor de concentración que no supere el valor de $NOEC$ para un porcentaje definido de especies; se adopta generalmente como criterio para establecer el valor de PNEC la concentración que proteja al 95% de las especies evaluadas.

En los dos enfoques descriptos se considera que si algunas especies están protegidas, el resto de las especies del ecosistema lo estarán también.

NIVELES GUÍA DE CALIDAD DE AGUA

Los valores de concentración (PNEC) encontrados por alguno de los dos métodos antes descriptos, se establecen como "niveles guía de calidad" para mantener y proteger el uso asignado al recurso hídrico. En este caso, corresponden a los niveles guía para protección de vida acuática, los cuales se miden en el cuerpo de agua y se basan solamente en conocimientos científicos.

Cuando se establecen los niveles guía de un compuesto químico para la protección de vida acuática, no sólo se considera su toxicidad sobre organismos acuáticos, sino también su potencial de bioacumulación y su toxicidad sobre el ser humano. Si la sustancia es bioacumulable y puede biomagnificarse, las concentraciones que se esperan por ejemplo en los peces, pueden ser tales que resulten tóxicas para los humanos cuando consuman esos peces. Así, se pueden llegar a establecer valores de niveles guías más restrictivos que si se consideraran solamente los valores de toxicidad sobre organismos acuáticos (SSRHN, 2003).

Los niveles guía deben ser revisados y actualizados en forma periódica, de manera de incorporar los avances científicos sobre los efectos de los compuestos químicos.

En Argentina a partir del año 1998 se inició la elaboración de niveles guía de calidad de agua ambiente en el ámbito de la Subsecretaría de Recursos Hídricos con el objetivo de contar con pautas referenciales de calidad asociadas a la salvaguardia de los componentes bióticos involucrados en los distintos usos asignados al agua ambiente en Argentina. Los procedimientos utilizados para la fijación de niveles

guía para protección de biota acuática fueron similares a los antes descriptos (SSRHN, 2003).

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) emplea una variante de este procedimiento: utiliza como mínimo la información para 8 especies y establece mediante un cálculo la concentración a adoptar como Nivel Guía (Stephan y col., 1985).

En resumen, se considera que si en el cuerpo de agua la concentración de cada una de las sustancias se mantiene por debajo del Nivel Guía, no se espera que se observen efectos adversos sobre los organismos acuáticos, pero existen riesgos si ese nivel se supera (Bertoletti y Zagatto, 2008; SSRHN, 2003).

El valor para el Nivel Guía puede modificarse a medida que se realicen nuevos descubrimientos o nuevos avances científicos que hagan necesario cambiar estos valores, o incluir nuevas sustancias al listado. Por ejemplo, el nonilfenol o el tributilestano se incluyeron en la medida que se demostraron sus efectos perjudiciales.

Si bien estamos ejemplificando para los Niveles Guía de calidad de agua, procedimientos similares se emplean para establecer los niveles guía de calidad de suelos y sedimentos.

¿CÓMO SE FIJAN LAS CONCENTRACIONES EN LOS AFLUENTES?

Cuando se quiere preservar la calidad del agua para un uso determinado o mejorar la calidad de la misma cuando haya una situación de contaminación, se debe actuar sobre las fuentes de contaminación. Se establecen regulaciones que fijan límites para distintos parámetros

para autorizar el vertido de efluentes líquidos, industriales y cloacales a cuerpos de agua superficiales o a colectoras cloacales. Se controlan parámetros fisicoquímicos (pH, oxígeno disuelto, sólidos sedimentables, temperatura), microbiológicos (*Escherichia coli*) y químicos (mercurio, plomo, cadmio, detergentes) con el fin de proteger la vida acuática y la salud humana.

Estos límites, medidos sobre el efluente, se denominan estándares y son de cumplimiento obligatorio; se fijan de forma tal que los contaminantes en los efluentes, una vez diluidos en el cuerpo receptor, no superen los niveles guía de calidad de agua para el uso establecido. Los estándares se establecen para cada parámetro en las distintas cuencas hídricas. Las descargas a cuerpos de agua deben contar con un "permiso de vuelco", que estipulan límites de concentración para compuestos químicos relacionados con el tipo de industria.

Como describimos anteriormente al definir los niveles guía, cuanto más tóxico sea un determinado compuesto, menor será la concentración de este compuesto permitida en el ambiente; la persistencia del compuesto y su potencial de bioacumulación se consideran para fijar los estándares que no representen un riesgo para los ecosistemas. Por ejemplo, la concentración máxima de mercurio en un efluente que descargue a colectora cloacal o cuerpo de agua en provincia de Buenos Aires debe ser menor de 0,005 mg/l; para arsénico la concentración máxima debe ser menor de 0,5 mg/l. El mercurio es más tóxico que el arsénico, y además se bioacumula, con lo cual la concentración que se permite volcar es más baja (Resolución 336, Autoridad del Agua Provincia de Buenos Aires, 2003).

LA DETERMINACIÓN DE TOXICIDAD EN EFLUENTES COMO HERRAMIENTA PARA EL CONTROL AMBIENTAL

Los efluentes son generalmente mezclas de muchos compuestos químicos; predecir la toxicidad de las mezclas complejas a partir de su composición es muy difícil, si no imposible (Jorgensen, 2010). Es por esto que en muchos países se realizan ensayos con el efluente completo, para evaluar su toxicidad. Las agencias regulatorias de muchos países implementaron el control de la toxicidad de los efluentes como un parámetro de cumplimiento obligatorio, por ejemplo, EE.UU., Brasil, Canadá, países europeos, Australia, Nueva Zelanda.

Los ensayos de toxicidad para el control de efluentes se realizan empleando procedimientos normalizados utilizando crustáceos, algas, peces y bacterias luminiscentes. Distintas normas, (ISO, AFNOR, EPA, IRAM, etc.) describen los procedimientos para la realización de estos ensayos. Se estudia de esta forma el efecto sobre los organismos causado por todas las sustancias presentes en el efluente.

En Argentina, el Subcomité de Métodos Biológicos del Organismo Nacional de Normalización (IRAM) ha elaborado y publicado varias normas para la realización de los ensayos (ver cuadro). Este grupo de estudios de normas adapta a condiciones nacionales procedimientos normalizados internacionalmente, como por ejemplo la inclusión en las normas de especies autóctonas como organismos de ensayo.

¿Cómo se lleva a cabo el procedimiento para evaluar la toxicidad de un efluente?

Los ensayos de toxicidad se realizan sobre el efluente. Se exponen

Normas IRAM publicadas y Normas en estudio por el subcomité Métodos Biológicos.

- Norma IRAM 29012, Parte 16 "Guía para el bioensayo de muestras". 2003
- Norma IRAM 29130, "Determinación de la inhibición de la movilidad de *Daphnia magna Strauss* (Cladocera, Crustacea)". 2004
- Norma IRAM 29111, "Método de ensayo de inhibición del crecimiento de algas de agua dulce con *Scenedesmus subspicatus* y *Raphidocelis subcapitata*". 2005
- Norma IRAM 29112, "Determinación de la toxicidad letal aguda de sustancias en peces de agua dulce. Método semiestático". 2008
- Norma IRAM 29114, "Método de ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga. Método en papel". 2008
- Norma IRAM 29115, "Determinación de la inhibición de la emisión de luz de *Vibrio fischeri*. Método utilizando bacterias liofilizadas. 2014
- IRAM 29118 -Determinación de los efectos de los contaminantes sobre la flora del suelo. Efectos de los compuestos químicos sobre la emergencia y el crecimiento temprano de plantas superiores. En estudio
- IRAM 29121-1. Efectos de los contaminantes en lombrices. Parte 1 - Determinación de la toxicidad aguda en *Eisenia fetida/Eisenia andrei*. En estudio
- IRAM 29121-2. Efectos de los contaminantes en lombrices. Parte 2 - Determinación de los efectos en la reproducción en *Eisenia fetida/Eisenia andrei*. En estudio.

los organismos a diferentes concentraciones porcentuales del efluente en agua de calidad adecuada para el ensayo. Dependiendo de la composición química, algunos efluentes son tóxicos sobre uno u otro organismo ensayado, por lo que se recomienda realizar los ensayos sobre más de una especie; de esta manera se puede emplear el resultado obtenido con la especie más sensible (Bertoletti y Zagatto, 2008).

Una vez realizados los ensayos de toxicidad los resultados se expresan como se mencionó anteriormen-

te: CE_{50} , CL_{50} o CI_{50} y estos parámetros están expresados en porcentaje del efluente.

¿Cuál es la magnitud del parámetro "toxicidad" del efluente que se considera aceptable para el vuelco a un cuerpo receptor?

Esa magnitud va a depender de los caudales del efluente y del río al que se vuelque el efluente: la dilución del mismo en el cuerpo receptor deberá ser tal que no cause toxicidad aguda ni crónica, contemplando situaciones de bajo caudal.

Los ensayos de toxicidad sobre efluentes se emplean como estrategia regulatoria con el fin de detectar la presencia de compuestos tóxicos no analizados químicamente; permiten evaluar el efecto conjunto de todas las sustancias y compuestos químicos detectando efectos sinérgicos, aditivos o de potenciación. Así mismo son útiles para predecir efectos en situaciones de sequía con un bajo caudal del cuerpo receptor y verificar la eficacia de los tratamientos de efluentes para remover toxicidad (Bertoletti y Zagatto, 2008).

En el caso de vertido de efluentes a colectoras, en algunos países (por ejemplo en España y Francia), se controla la toxicidad de los efluentes que luego serán tratados en plantas de tratamiento comunitarias. La toxicidad es un parámetro difícil de remover y las plantas comunitarias, que vuelcan luego a cuerpos receptores, no deben volcar toxicidad.

La toxicidad se evalúa mediante ensayos con dafnias o bacterias luminescentes. Las autoridades fijan un máximo para el parámetro toxicidad que se puede volcar a la colectoras, que varía según la jurisdicción. Cobran además un canon de saneamiento destinado a financiar los procesos de tratamiento de agua residual y este canon está determinado por la cantidad y calidad del efluente. La calidad incluye parámetros como DBO, DQO, que son comunes en la mayoría de los países y además la toxicidad del efluente vertido a la colectoras. (Román Sánchez y col., 2013; Agencia del agua Sena-Normandía, 2015).

MONITOREO BIOLÓGICO

Los organismos residentes en los cuerpos de agua (algas, peces, invertebrados) completan allí la mayor parte de su ciclo de vida y por lo tanto están expuestos de manera

continua a todos los contaminantes que lleguen al cuerpo de agua: efluentes industriales y domésticos, arrastre de pesticidas por agua de lluvia, entre otros.

El biomonitoreo tiene como objetivo detectar cambios en la biota que pueden ser indicadores de efectos causados por los vuelcos, no detectados por los análisis químicos y de toxicidad realizados sobre el efluente. El biomonitoreo no es predictivo, ya que detecta efectos que han ocurrido, pero se utiliza para revisar si las acciones de control son suficientes o es necesario modificarlas.

AGUILUCHOS, SÁBALOS Y OSTRAS.

A continuación vamos a describir algunos casos destacados que muestran la importancia del biomonitoreo en los estudios ecotoxicológicos y su aporte para regular el uso de sustancias químicas.

LAS OSTRAS, LOS CARACOLES Y EL TRIBUTILESTAÑO

Un caso relevante fue el del tributil-estaño (TBT por sus siglas en inglés), utilizado en pinturas antiincrustantes que se usan para impedir que se peguen algas y larvas de animales en los cascos de los barcos.

La primera observación de los efectos del TBT tuvo lugar en la bahía de Arcachon, Francia, una zona dedicada al cultivo comercial de ostras y a la navegación recreativa. Durante el período 1960 a 1980 hubo un incremento significativo del número de embarcaciones en la bahía. En el año 1970, en Arcachon se observó imposex en un caracol (las hembras se masculinizaron), lo que determinó la desaparición del caracol en la zona. Si los efectos nocivos se hubieran limitado a

la desaparición de esa especie, no se hubiera tomado probablemente ninguna medida, pues este caracol atacaba a las ostras en los criaderos y era considerado una especie dañina. Sin embargo, el efecto del TBT se extendió rápidamente a las ostras en 1979, afectando la supervivencia de las larvas. Las ostras adultas no se podían comercializar debido a que el TBT provocó además deformaciones en su caparazón. Las pérdidas económicas fueron enormes (Santillo y col., 2004).

Estas observaciones se realizaron antes de disponer de técnicas analíticas suficientemente sensibles para describir en forma precisa la distribución del TBT en el ambiente. El gobierno francés, tomando en cuenta la información que establecía una relación entre la presencia de TBT y la afectación de la cría de ostras, prohibió en 1982 la aplicación de pinturas con TBT.

La toxicidad del TBT sobre las especies animales que se incrustan en los cascos de los barcos había sido muy estudiada pero los efectos sobre los organismos marinos no blanco se habían focalizado solamente sobre la toxicidad aguda y no permitieron identificar efectos subletales como el imposex. El TBT interfiere también con el metabolismo del calcio, provocando deformación en el caparazón y mortalidad en las larvas de ostras (Santillo y col., 2004).

El descubrimiento del imposex en la Argentina se realizó en Mar del Plata en el año 2001; mientras se realizaba una tesis de doctorado sobre caracoles marinos (Penchaszadeh, 2009); se observó que las hembras no estaban en condiciones de reproducirse y que la población estaba formada por individuos viejos. Era la primera vez que se encontraba este fenómeno en la Argentina.

Años más tarde, investigadores del Centro Nacional Patagónico (CENPAT), del Museo Argentino de Ciencias Naturales, de la Universidad Nacional de Mar del Plata y el Centro Austral de Investigaciones Científicas de Tierra del Fuego (CADIC) realizaron un monitoreo de la contaminación con TBT en puertos patagónicos, utilizando el fenómeno de imposex en moluscos como bioindicador (Bigatti y col., 2009, 2011).

El estudio fue muy amplio, efectuado sobre 4700 km costeros, (desde Mar del Plata hasta Lapataia, cerca de Ushuaia, en Tierra del Fuego). Analizaron 41 puntos, tanto zonas portuarias como zonas de control entre puertos. Obtuvieron muestras de 1802 caracoles pertenecientes a 12 especies distintas y en siete de ellas observaron por primera vez el fenómeno de imposex. Los análisis químicos revelaron la presencia de TBT en todas las zonas portuarias, donde también se observaba el fenómeno de imposex. En las zonas prístinas, el porcentaje de imposex fue nulo (Bigatti y col., 2009). El monitoreo finalizó en el año 2008.

En el trabajo realizado, se comprobó que algunas especies son más sensibles que otras; esas especies son fáciles de encontrar y recolectar en los sitios de estudio, por lo cual pueden emplearse para realizar estudios de biomonitoreo e inferir así la contaminación con TBT.

Si se encuentra una población afectada, inmediatamente se sospecha que se está en presencia del contaminante (Bigatti y col., 2009; Penchaszadeh, 2011).

En Argentina el uso de pinturas que contienen TBT está prohibido desde el año 1998 para los barcos para usos recreativos (Prefectura Naval Argentina, Ordenanza

4/1998).

El fenómeno de imposex está muy difundido en casi todos los puertos del mundo, por ello se prohibió el uso del TBT en el año 2008 (Penchaszadeh, 2011). Sin embargo, trabajos más recientes en Argentina indican que no hay disminución de la presencia de este biocida en los caracoles ni en los sedimentos (Penchaszadeh, 2011). La permanencia media en el agua de este contaminante está estimada en nueve meses y cinco años en sedimentos, pero los datos del mes de diciembre del 2010 no mostraron disminuciones notorias de los niveles de TBT pese a su proscripción hace tres años (Penchaszadeh, 2011).

El TBT actúa como un disruptor endocrino, un compuesto exógeno que altera la función del sistema endocrino y como consecuencia causa efectos adversos sobre los organismos y sobre las poblaciones.

Se sabe que los moluscos en las zonas portuarias acumulan TBT en sus tejidos y hay personas que suelen pescar caracoles para consumo, pero aún no se han evaluado los

efectos sobre la salud humana.

EL AGUILUCHO LANGOSTERO Y EL MONOCROTOFOS

Otro ejemplo de la transferencia a la legislación de los resultados de investigaciones en el ámbito de la ecotoxicología a través de biomonitoreo, tuvo lugar en nuestro país, con el caso del aguilucho langostero. A comienzos de la década del noventa, técnicos de organismos públicos (INTA, SENASA) y ONGs de América del Norte, detectaron mortandades graves en la población del Aguilucho Langostero (*Buteo swainsoni*) en Argentina (Figura 6). La estimación del número total de individuos afectados para la Región Pampeana fue de más de 20000 aguiluchos, aproximadamente el 5% de la población mundial estimada para la especie en aquel momento (Sarasola y col., 2007).

Realizados los análisis correspondientes, se determinó que el causante era el Monocrotófos que se aplicaba a las pasturas para controlar a las tucuras. Por un lado se prohibió en todo el país el uso de este plaguicida. (Resolución 189/99



Figura 6. Aguilucho Langostero (*Buteo swainsoni*) tomado de www.free-birds.com.ar

de SAGPYA-SENASA). Por otro lado se implementó un programa de Monitoreo Ecotoxicológico de Biodiversidad de aves silvestres el cual continúa en la actualidad. El monitoreo del impacto de los agroquímicos sobre especies de vida silvestre permite detectar a tiempo problemas de toxicidad de los productos que se usan para control de plagas; y tomar decisiones sobre los usos de los fitosanitarios. Las aves son excelentes indicadores de impacto ambiental y de riesgos para la salud humana, debido a que lo que es peligroso para las aves será probablemente también peligroso para los mamíferos (Zaccagnini, 2004).

LOS SÁBALOS Y LOS PCBS

Los humanos consumen peces como alimento; la concentración máxima de distintos contaminantes en los peces está regulada (en Argentina, por el Código Alimentario).

Las poblaciones de peces de importancia pesquera se monitorean para determinar residuos de plaguicidas (organoclorados y algunos organofosforados) y de bifenilos policlorados (PCBs). Todas estos compuestos debido a su lipofilicidad se bioacumulan en las grasas presentes en el tejido muscular, que es la porción habitualmente consumida como alimento. Estos compuestos son tóxicos, por lo que el consumo de peces contaminados puede afectar la salud humana (Seigneur y col., 2014).

El análisis de contaminantes en tejidos de peces del Río Uruguay fue realizado por la CARU (Comisión Administradora del Río Uruguay); se analizaron sábalos, bogas, surubíes, dorados, bagres amarillos, patíes y viejas de látigo. Los resultados obtenidos en los biomonitoreos realizados durante el período 2010-2011

confirmaron bajos niveles de contaminación en peces, con tendencia decreciente respecto de años anteriores y en todos los casos muy por debajo de los límites aceptados para consumo humano (Seigneur y col., 2014).

En contraste, la situación en el Río de la Plata es muy diferente; aquí los investigadores encontraron niveles elevados de PCBs en sábalos (*Prochilodus lineatus*) (Figura 7), en concentraciones superiores a las recomendadas para consumo humano. Es así que la pesca de sábalo, tanto artesanal como comercial, se prohibió en la provincia de Buenos Aires en el año 2000 (Seigneur y col., 2014).

EVALUACIÓN DE SITIOS CONTAMINADOS

Existen muchos sitios contaminados, por ejemplo con hidrocarburos debido a derrames de petróleo, con metales tóxicos por actividades mineras o con compuestos peligrosos por disposición inadecuada de residuos.

La limpieza (remediación) de estos sitios es generalmente muy costosa y compleja y no siempre es factible alcanzar los niveles de concentración previos al evento de contaminación. Sin embargo, la existen-

cia de contaminación química en el suelo u otros sustratos no representa automáticamente un riesgo. Lo que se considera prioritario es evaluar la probabilidad de que las personas o la biota estén expuestas a concentraciones que produzcan efectos adversos sobre las mismas. (Wright y Welbourn, 2002).

El procedimiento que se utiliza para tomar decisiones respecto de la limpieza de un sitio o las acciones de remediación es la evaluación de riesgo. La evaluación de riesgo en los sitios contaminados se realiza tanto para la salud humana como para la protección de los ecosistemas (evaluación de riesgo ecológico).

De manera sintética, el procedimiento de evaluación de riesgo ecológico se realiza de la siguiente manera: una vez determinadas las concentraciones de los compuestos químicos presentes en el sitio (concentraciones de exposición) se las compara con los valores correspondientes de PNEC (concentraciones de no efecto). Si las concentraciones en el sitio superan los valores de PNEC, se considera que la presencia de esos contaminantes representa un riesgo, es decir que hay probabilidad de que se produzcan efectos adversos sobre el ambiente por la presencia de esos contaminantes (ver **Figura 5**) (Calow y Forbes,



Figura 7. Sábalo (*Prochilodus lineatus*). Tomado de Alejandra V. Volpedo. La biodiversidad acuática en Argentina: problemáticas y desafíos – Ciencia e Investigación 64: 33-43 (2014).

2003).

En las legislaciones para evaluación de sitios contaminados, se listan una serie de contaminantes con sus correspondientes concentraciones máximas que no deben superarse, si se superan se considera que el sitio está contaminado y se deben realizar acciones de remediación.

Los ensayos de toxicidad fueron incluidos por ejemplo en la legislación española (Real Decreto 9/2005) a los fines de considerar un suelo como contaminado. Esta legislación propone, para aquellos casos en que se considere prioritaria la protección de los ecosistemas, la realización de ensayos de toxicidad en laboratorio con organismos del suelo y con organismos acuáticos.

En Argentina, el Programa para la Gestión Ambiental de Sitios Contaminados (PROSICO), (Resolución SAYDS Nº 515/06), realiza acciones tendientes a la identificación, análisis y recomposición de sitios contaminados. La evaluación de riesgo ecológico es la herramienta propuesta para determinar la necesidad y magnitud de la recomposición de daños sobre los ecosistemas causados por la contaminación ambiental.

La eficacia de las acciones de remediación se evalúa mediante monitoreo químico para comprobar la remoción de los contaminantes, ensayos de toxicidad para comprobar que la remoción de los contaminantes se acompañe de remoción de la toxicidad y monitoreo biológico para evaluar la restauración ecológica (Calow y Forbes, 2014).

PRODUCTOS QUE VAN DELIBERADAMENTE AL AMBIENTE. CASO PESTICIDAS

A nivel mundial, las leyes y regu-

laciones para los pesticidas consideran los efectos tóxicos, tanto sobre el ambiente como sobre el ser humano, así como estudios acerca de la movilidad y la persistencia en el ambiente.

En Argentina se debe demostrar, previamente a su comercialización, que un producto fitosanitario es eficaz para el fin que se destina y no entraña riesgos indebidos para la salud y el medio ambiente.

El manual de procedimientos del Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria (SENASA) establece en el Anexo de la Resolución 305/99 la información requerida para el uso de productos fitosanitarios, entre otras la información ecotoxicológica.

En el capítulo 7 de dicho manual, "Efectos tóxicos sobre otras especies", se especifican los estudios de toxicidad (aguda y crónica) que deben realizarse sobre aves, organismos acuáticos (peces, dafnias, algas), abejas, artrópodos benéficos, lombrices de tierra y microorganismos del suelo (nitrificadores). La metodología utilizada para la realización de estos ensayos es similar a la que describimos anteriormente. Se debe estudiar también la degradación y la bioacumulación de dichos productos.

En función de las características de los productos, y de las concentraciones estimadas de los mismos en el ambiente, el SENASA evalúa y autoriza (o no) el uso de los productos y establece las restricciones.

Durante los años 1950 y 1960 la mayoría de los plaguicidas que se usaban eran compuestos organoclorados y organofosforados. Como se mencionó anteriormente, el uso de pesticidas organoclorados fue prohibido paulatinamente en muchos

países y reemplazado por otros principios activos, como carbamatos y organofosforados. La prohibición de ciertos usos de los organofosforados así como el surgimiento de insectos resistentes, condujo a un reemplazo gradual por otras clases de insecticidas como los piretroides. Estos insecticidas sintéticos son mucho menos persistentes que los organoclorados y menos tóxicos sobre mamíferos que los organofosforados, pero los peces y otros organismos no blancos son sensibles a concentraciones extremadamente bajas, muchas veces no detectables por técnicas analíticas. Se requiere entonces un sistema de monitoreo permanente y una constante revisión de las regulaciones por demanda de la población o porque surge nueva información científica (Werner y Hitzfeld, 2012).

Un ejemplo reciente fue la revisión de la autorización del uso de pesticidas de tipo de los neonicotinoides; mediante estudios de biomonitoreo, surgió nueva evidencia científica que estableció una asociación entre pesticidas y enfermedades en los insectos polinizadores. Esto derivó en la restricción del uso de estos pesticidas en algunos países europeos (Maxim y Van del Sluijs, 2013).

SISTEMA GLOBALMENTE ARMONIZADO DE CLASIFICACIÓN Y ETIQUETADO DE SUSTANCIAS QUÍMICAS (SGA)

El SGA es un sistema de clasificación de productos químicos armonizado internacionalmente, desarrollado por las Naciones Unidas. Este sistema armoniza los criterios empleados para la clasificación y el etiquetado de sustancias químicas y así proporciona las bases para uniformizar la información relativa a los peligros que puedan presentar esas sustancias.

¿Cómo surge el SGA?

En la Agenda 21 (Capítulo 19) de la Conferencia de Naciones Unidas (1992), se estableció la necesidad de un sistema de clasificación y etiquetado de sustancias químicas armonizado a nivel mundial.

¿Por qué la Organización de Naciones Unidas desarrolló el SGA?

Con el fin de evitar que para una misma sustancia química se proporcionen informaciones diferentes acerca de las propiedades físicas,

los peligros sobre la salud y sobre el ambiente. También para facilitar los intercambios comerciales de los productos, los cuales debían etiquetarse diferente según el país al que se exportaban porque los criterios que se empleaban para la clasificación eran distintos.

La armonización para la clasificación y etiquetado de productos ya se había logrado en el sector de transporte para los peligros físicos (por ejemplo, inflamabilidad, corrosividad) y para la toxicidad aguda, mediante el trabajo del comité


de expertos de las Naciones Unidas para el transporte de mercancías peligrosas. El objetivo fue ampliar el alcance de la armonización a los trabajadores y consumidores.

El sistema a desarrollarse debía tomar en cuenta los sistemas de clasificación ya existentes y emplear símbolos de fácil comprensión.

¿Cómo se encaró la tarea de desarrollo del SGA?

En el año 1999 el Comité de Expertos en Transporte de Mercancías

Tabla 1. Criterios para la clasificación de sustancias como peligrosas para el ambiente acuático y elementos que deben figurar en las etiquetas. Adaptado de SGA.

	Categoría 1	Categoría 2	Categoría 3
CE₅₀/CL₅₀/CI₅₀ mg/l	< 1	1 < CE ₅₀ < 10	10 < CE ₅₀ < 100
Símbolo		Sin símbolo	Sin símbolo
Palabra de advertencia	ATENCIÓN	Sin palabra de advertencia	Sin palabra de advertencia
Indicación de peligro	Muy tóxico para los organismos acuáticos	Tóxico para los organismos acuáticos	Nocivo para los organismos acuáticos

Peligrosas de Naciones Unidas se dividió en dos subcomités: el de expertos en transporte y el (nuevo) de expertos del SGA. Este nuevo subcomité trabajó en la redacción del documento, con la colaboración de la Organización Internacional del Trabajo (OIT), Organización para el Desarrollo Económico (OCDE) y el Subcomité de Transporte de Mercancías Peligrosas de Naciones Unidas entre otros. Dentro del subcomité, las decisiones se toman por consenso entre los países que forman parte del mismo y del cual Argentina es miembro pleno. La primera edición del documento es del año 2003. El documento se revisa en forma periódica cada dos años y se publica una nueva edición revisada. En este momento se encuentra vigente la 5ta edición revisada publicada en el año 2013 y durante el año 2015 aparecerá la 6ta edición revisada. Se lo conoce como "Libro Violeta" o "Libro púrpura".

¿Cómo está organizado el Libro?

El SGA considera tres grupos de peligros: peligros físicos, peligros para la salud y peligros para el ambiente. Dentro de cada grupo, distingúese **clases** de peligro.

¿Cómo es el procedimiento de clasificación?

Para cada **clase** de peligro, el SGA establece las propiedades intrínsecas que debe presentar una sustancia para incluirla dentro de esa clase y, según el grado de peligrosidad de la sustancia, la categoría dentro de la clase

¿Cómo es el procedimiento de clasificación de los peligros sobre el ambiente?

El SGA considera dos clases de peligros para el ambiente, "peligros para el medio ambiente acuático"

y "peligros para la capa de ozono". La **clase** "peligros para el medio ambiente acuático" incluye tres categorías de peligro agudo y cuatro categorías de peligro a largo plazo.

¿Cuáles son las propiedades intrínsecas que se utilizan para incluir una sustancia dentro de alguna de las categorías de peligro agudo para el medio ambiente acuático?

La propiedad clave que define este peligro es la toxicidad aguda sobre organismos acuáticos, determinada mediante los ensayos que describimos anteriormente, realizados sobre dafnias, peces y algas.

Los valores de CE_{50} , CL_{50} y CI_{50} obtenidos mediante estos ensayos permiten incluir y categorizar la sustancia dentro de la clase, como se puede ver en la Tabla 1.

Para definir el peligro a largo plazo, además de la toxicidad se debe tomar en cuenta el tiempo que esa sustancia va a permanecer en el ambiente. Una sustancia que "desaparece" rápidamente no podrá causar efectos a largo plazo sobre los organismos. Por lo tanto, la degradación rápida de una sustancia es una propiedad clave para definir el peligro a largo plazo; una sustancia no degradable tiene potencial para causar efectos a largo plazo. Los resultados de ensayos de toxicidad crónicos en conjunto con las propiedades de degradabilidad de una sustancia se consideran para incluirla o no dentro de alguna categoría de peligro a largo plazo. El potencial de bioacumulación se tiene también en cuenta; si bien la bioacumulación no es un peligro en sí misma, va a resultar en una mayor carga del tóxico en el organismo.

¿Es un documento cerrado?

Como señalamos anteriormente,

el libro se actualiza cada dos años, no es un documento cerrado. En lo que concierne a peligros sobre el ambiente, por ejemplo en la tercera edición se incluyó una nueva clase "peligros para la capa de ozono". Clases de peligro que podría incluirse a futuro serían: peligros para los organismos del suelo y peligros relacionados con sustancias que afectan el sistema endocrino de peces.

¿El documento contiene clasificación de las sustancias?

No, proporciona un procedimiento para clasificarlas según sus propiedades intrínsecas, es método para clasificar peligros. El SGA utiliza la expresión "clasificación de peligro" para indicar que sólo se consideran las propiedades intrínsecas peligrosas de la sustancia.

¿Es de cumplimiento obligatorio?

Es de aplicación voluntaria en cada país. Muchos países ya lo han implementado, incorporando el documento a su normativa (Canadá, EE.UU., la Unión Europea, Brasil, Chile, Uruguay). En Argentina, la Resolución 801 de abril del 2015 obliga a rotular, confeccionar las hojas de seguridad de productos químicos según el SGA en el ámbito laboral. Se dispone de normas voluntarias para la confección de hojas de seguridad y etiquetado que siguen los lineamientos del SGA (IRAM 41400 e IRAM 41401). Asimismo, Argentina recibió apoyo internacional de la Unión Europea a través del Proyecto Econormas y del Banco Interamericano de Desarrollo (BID) para la implementación del sistema.

¿El SGA incluye procedimientos para autorizar el uso de productos?

No. La autorización para los usos la establece la autoridad de aplicación correspondiente: por ejemplo,

SENASA para pesticidas, ANMAT para productos desinfectantes.

Como puede verse, en el procedimiento desarrollado en el SGA para la clasificación de sustancias y productos químicos se han incluido los conocimientos brindados por la ecotoxicología respecto de las propiedades relevantes de las sustancias y productos químicos desde el punto de vista ambiental.

■ BIBLIOGRAFÍA

- Agencia del agua Sena-Normadía (Agence de l'eau Seine-Normandie) www.eau-seine-normandie.fr/. Consultado 2015.
- Bertoletti E, Zagatto PA. (2008). *Ecotoxicología Acuática, Principios e Aplicações*, Ed. Rima, 472 páginas.
- Bigatti G, Averbuj A, Primost MA, Cledón M, Zabala S, Teso S, Cumplido M, Penchaszadeh PE. (2011). Contaminación costera en la Argentina: compuestos órgano-estañosos (TBT) y malformaciones sexuales (imposex) en caracoles marinos. En: *Problemática de los ambientes costeros: Sur de Brasil, Uruguay y Argentina*, Marcomini & López (Eds.), pp. 161-178.
- Bigatti G, Primost MA, Cledón M, Averbuj A, Theobald N, Gerwinski W, Arntz W, Morriconi E, Penchaszadeh PE. (2009). Biomonitoring of TBT contamination and imposex incidence along 4700 km of Argentinean shoreline. (SW Atlantic: From 38S to 54S). *Mar. Pollut. Bull.* 58: 695-701.
- Calow P, Forbes V. (2003). Does ecotoxicology inform Ecological Risk Assessment? *Environ. Sci. Technol.* 37: 146A-151A.
- Calow P, Forbes VE. (2014). *Ecotoxicology*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd.
- Causa Mendoza. Centro de Información Judicial, especial Riachuelo - (www.cij.gov.ar/adj/expedientes_riachuelo01.pdf). Consultado enero 2015.
- Jorgensen SE. (editor). (2010). *Ecotoxicology, a derivative of Encyclopedia of Ecology*. New York: Elsevier-Academic Press, 402 pp.
- Maxim L., Van der Sluijs J. (2013). Seed-dressing systemic insecticides and honeybees. Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation. *European Environmental Agency Report 1/2013*, pp. 369-406.
- Newman, M. (2001). *Fundamentals of Ecotoxicology*. Boca Raton: Lewis/CRC Publishers.
- Penchaszadeh, PE. (2011). Efectos contra-natura por contaminación con estaño en zonas portuarias. *Agencia de Ciencia, Tecnología y Sociedad, Universidad de La Matanza*, 15 de agosto del 2011. (<http://www.ctys.com.ar/index.php?idPage=20&idArticulo=1160>).
- Penchaszadeh, PE. (2011). Sustancias tóxicas provocan la masculinización de hembras en zonas de alto tráfico marítimo. *Centro de Divulgación Científica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA. La Nación* 30/06/09.
- PNUMA. (2014). *El convenio de Minamata sobre el mercurio y su implementación en la región de América Latina y el Caribe*, folleto, versión abril 2014.
- Prefectura Naval Argentina Tomo 6. Régimen para la protección del medio ambiente, Ordenanza N° 4/1998 Normas para la prevención de la contaminación de las aguas proveniente de embarcaciones deportivas y de placer. Disposiciones para los clubes náuticos, guarderías, puertos recreativos y astilleros de embarcaciones. http://www.prefectura-naval.gov.ar/web/es/html/dpla_ordenanzas.php
- Real Decreto 9/2005, del 14 de enero del 2005, BOE número 15, N° 895. (Legislación española).
- Román Sánchez IM., Carra I, Sánchez Pérez JA. (2013). El uso sostenible del agua: tributos medioambientales y nuevos procesos de descontaminación mediante energías renovables. *Estudios de Economía Aplicada* 31: 197-216.
- Santillo D, Johnston P, Langston W. (2004). Agents antisalissures au tributyletain (TBT): histoire de navires, d'escargots et d'imposex. Signaux précoces et leçons tardives: Le principe de precaution 1896 – 2000. *Série sur les problemes environnementaux* N° 22, Institut français de l'environnement, pp. 221-237.
- Sarasola JH, Galmes MA, Santillán MA. (2007). *Ecología y conservación del Aguilucho Langostero (Buteo swainsoni) en Argentina. Hornero* 22: 173-184.
- Seigneur G, Picotti G, Villamil E. (2014). Análisis de contaminantes en peces del Río Uruguay. *Comisión Administradora del Río Uruguay, Informe bianual 2010-2011, Programa de Conservación de la Fauna Íctica y de los Recursos Pesqueros del Río Uruguay, Capítulo 7*, 172-185.

- SGA, Sistema Globalmente Armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos, 4ta revisión. (2013). (http://www.unece.org/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev02/02files_s.html).
- SSRHN. (2003). Marco conceptual para el establecimiento de Niveles Guía Nacionales de calidad de agua ambiente. Metodología para el establecimiento de Niveles Guía de calidad de agua ambiente para la protección de la biota acuática. Subsecretaría de Recursos Hídricos, Argentina.
- Stephan CE, Mount DI, Hansen DJ, Gentile JH, Chapman GA, Brungs WA. (1985). Guidelines for deriving numerical water quality criteria for the protection of aquatic organisms and their uses. U.S. Environmental Protection Agency, National Technical Information Service-PB 85 - 227049.
- Werner I, Hitzfeld B. (2012). 50 years of ecotoxicology since Silent Spring - A review. *Gaia* 3: 217-225.
- Wright D, Welbourn P. (Editores) (2002). *Environmental toxicology*. Cambridge Environmental Chemistry Series/11. Cambridge: University Press, 621 pp.
- Yorifuji T, Tsuda T, Harada M. (2013). Minamata disease: a challenge for democracy and justice, Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation. Environmental European Agency Report N° 1/2013, 92 -130.
- Zaccagnini ME. (2004). Por qué monitoreo ecotoxicológico de diversidad de aves en sistemas productivos. Larrea, E. (Ed.) INTA expone 2004, Volumen III INTA, Buenos Aires, pp. 69-89.

■ AGRADECIMIENTOS

A la Lic. Graciela Seigneur, Lic. Carlos Gómez y Lic. Leonardo Pflüger.

Al Instituto Nacional de Tecnología Industrial, a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, CONICET, ANPCyT y UBA.

ALGUNAS RESPUESTAS SOBRE LOS IMPACTOS DEL USO DE PLAGUICIDAS PARA EL CONTROL DE PLAGAS EN AGROECOSISTEMAS DE LA REGIÓN PAMPEANA

Palabras clave: plaguicidas, ecosistemas, concentraciones ambientales, evaluación de efectos, evaluación de riesgo.
Key words: pesticides, ecosystems, environmental concentrations, effects assessment, risk assessment.

Reflexionar sobre lo aprendido en el transcurso de las dos últimas décadas sobre las investigaciones realizadas por el equipo de trabajo respecto al destino y los efectos biológicos de plaguicidas en nuestros ecosistemas, permitió reconocer la relevancia de los logros y sus limitaciones, particularmente teniendo en cuenta la magnitud y escala del problema. Ello se relaciona con una gran variedad y tipo de compuestos (en gran parte sintéticos) que se incorporan en la estrategia del control químico de plagas, la extensión regional, la intensidad y frecuencia de uso, junto al escaso conocimiento de las concentraciones ambientales en la región y los impactos en los ecosistemas.

Alicia E. Ronco

Centro de Investigaciones del Medio Ambiente,
Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacio-
nal de La Plata- Consejo Nacional de Investiga-
ciones Científicas y Técnicas.

cima@quimica.unlp.edu.ar

Thinking on what we learned in the course of the last two decades on the research conducted by the team regarding the fate and biological effects of pesticides in our ecosystems, allowed us to recognize the relevance of the achievements and limitations, particularly given the magnitude and scale of the problem. This is related to a variety and type of compounds (largely synthetic part) which are incorporated in the strategy of chemical control of pests, the regional extension, the intensity and frequency of use, as well as with the limited knowledge of the environmental concentrations in the region and impacts on ecosystems.

■ ANTECEDENTES

Desde fines del siglo XIX, la agricultura constituye uno de los pilares fundamentales de la economía Argentina, no sólo por la exportación directa de materias primas, sino también por la amplia cantidad de empresas de agroinsumos que se han instalado en el país para sustentar la demanda del sector (Girbal-Blacha, 2001). Si bien desde los '70 se trabaja a nivel internacional para conjugar estrategias químicas

y biológicas en el manejo integrado de plagas, el control químico mediante plaguicidas sigue siendo la herramienta de control más difundida en nuestro país, al igual que en otras regiones del mundo (Satorre, 2005). Por otra parte, en las últimas décadas se consolidó tanto en otras regiones como en nuestro país un modelo intensificado de producción, tendiente hacia una agricultura continua, con incorporación de cultivos genéticamente modificados y la siembra directa (Leguizamón,

2014). Aumentó en Argentina el consumo de plaguicidas en hasta el 900% en poco más de dos décadas, acompañado de un aumento de la superficie cultivada sólo en un 120% (CASAFE, 2012).

La incorporación de plaguicidas al ambiente en esta estrategia intensificada lleva a diversos cuestionamientos, que es necesario poner en contexto y realizar evaluaciones de riesgo asociados. En un marco histórico los plaguicidas comenzaron a

ser considerados contaminantes ambientales emblemáticos, tal como se refleja en la publicación de Carson (1962) quien decía: "... Estas pulverizaciones, polvos y aerosoles son ahora aplicados universalmente en campos, jardines, bosques y casas -compuestos no selectivos que tienen el poder de matar cada insecto, los 'buenos' y los 'malos', acallar el sonido de pájaros y el salto de peces en ríos, cubrir hojas con películas letales, que permanecen en los suelos -todo esto a pesar de que el objetivo pueda ser sólo algunas pocas malezas o insectos. ¿Puede alguien creer que el bombardeo de tales venenos sobre la superficie de la tierra no va a hacer ningún daño a todas las formas de vida? No deberían ser llamados 'insecticidas' sino mas bien 'biocidas'...". Sin embargo, el término plaguicida está más ampliamente difundido que el nombre genérico biocida (que mata o destruye la vida). El término plaguicida sugiere que las plagas pueden ser distinguidas de los organismos no nocivos, que los plaguicidas no los matarán, y que las plagas son totalmente indeseables. En este contexto se define a un plaguicida como "cualquier sustancia, preparación u organismo usado para controlar o destruir plagas" (COPR, 1997).

¿Qué plaguicidas se utilizan en la actualidad? Si analizamos primeramente los aspectos relacionados con la diversidad de formulaciones y cantidades en uso, se puede verificar rápidamente en medios de información pública, como por ejemplo el SENASA (2014), que provee un listado actualizado al año 2014 con límites máximos recomendados (LMR) por ingrediente activo (i.a.) y cultivo correspondiente a un total de 3.357 registros, para alrededor de 400 i.a. Estos productos pueden aparecer bajo 79 tipos de formulaciones (ej. cebos, aerosoles, polvo de contacto, fumígeno, gránulos so-

lubles, etc.) que incluyen en su composición, además del propio plaguicida, un conjunto de aditivos. Se destaca entre estos compuestos a los surfactantes de agroquímicos (por ejemplo alquilfenoles etoxilados, polioxietilaminas), que en promedio alcanzan un 5% de la composición de los formulados, información sobre la composición específica y sus proporciones menos alcanzables, que en algunos casos puede aportar la mayor proporción de la toxicidad al formulado y sus consecuentes impactos sobre la biota (Martin, 2011; Demetrio y col., 2012, 2014; Sobrero, 2012).

Una base de datos actualizada que se ofrece a través de redes de comunicación es la del Centro Nacional de Información sobre Plaguicidas (NPIC), de la Oficina de Programas sobre Plaguicidas de la Agencia de Protección Ambiental de los EE.UU. (USEPA), que contiene información con base científica sobre plaguicidas, propiedades químicas, salud humana, síntomas de intoxicación, ambiente (USEPA, 2015). La base de datos de la división Destino Ecológico y Efectos, que realiza una actualización continua sobre puntos finales de evaluación de los efectos ecotóxicos de los plaguicidas registrados anteriormente y los actuales, cuenta con datos de toxicidad de más de 800 ingredientes activos (i.a.), metabolitos y mezclas multi-ingredientes, con 21.000 registros sobre puntos finales agudos y crónicos de organismos terrestres y acuáticos, cubriendo plantas, invertebrados y vertebrados.

¿Es esta información suficiente y pertinente? ¿Se puede generalizar para distintas regiones? ¿Cuánto conocemos sobre el problema en nuestro país? Algunas respuestas a estas preguntas podrían relacionarse con una búsqueda de información en publicaciones científicas, comu-

nicaciones en congresos de la especialidad, informes técnicos; recursos humanos formados y en formación, inversiones en investigación sobre el tema.

La información sobre el consumo de plaguicidas en Argentina (CASAFE, 2012) indica para el año 2011 un total de 317 millones de L/Kg que se corresponden con 2.381,2 millones de dólares, equivalente a unos 23.900 millones pesos. Habrá que preguntarse qué porcentaje de las inversiones en consumo anual de plaguicidas utilizados en la producción basada en el control químico de plagas se corresponde con las inversiones en investigación sobre el tema en particular. Una simple estimación indica que está muy por debajo (0,001% de lo que se factura anualmente). Sin embargo, es importante destacar que se ha incrementado significativamente en la última década la cantidad de proyectos de investigación que se desarrollan tanto en el sistema académico científico como en los organismos de gestión, particularmente en aspectos relacionados con monitoreo ambiental asociado a zonas productivas.

■ ESTUDIOS REALIZADOS EN EL CIMA

Estudios a escala local y de laboratorio con organismos acuáticos.

A partir de la convocatoria a proyectos de investigación científica y tecnológica (PICT), de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, se inició en el año 2000 una serie de estudios en el lugar de trabajo y en colaboración con investigadores de otros grupos, con un enfoque multidisciplinario, basados en distintas líneas de evidencia, para el diagnóstico ambiental de plaguicidas en zonas agrícolas bonaerenses. El mismo abordó el pro-

blema de los plaguicidas asociados a cultivos transgénicos (soja, maíz, sorgo), en la zona núcleo productiva (particularmente la cuenca del Pergamino-Arrecifes), articulando el monitoreo químico de plaguicidas (exposición) en aguas y sedimentos de cursos superficiales de primer y segundo orden, en relación a las prácticas agrícolas en la zona aledaña a los mismos (escala local y regional). Simultáneamente se realizaban estudios de valoración de efectos biológicos sobre poblaciones de organismos nativos del curso de agua (ej., abundancia, crecimiento, malformaciones) a nivel de invertibrados, peces, plantas vasculares, junto a experimentos de campo con organismos situados en dispositivos que los contenían (limnocorales), estudiando y comparando efectos

observados en escenarios de exposición (previo a aplicaciones, durante y luego de las mismas). Esto se complementaba con estudios en condiciones controladas de laboratorio (biensayos de toxicidad), con especies representativas (Ronco y col., 2008).

Los métodos analíticos para la evaluación de la exposición a plaguicidas (concentración en aguas, material particulado en suspensión, sedimentos de fondo, suelos, biota) estaban principalmente basados en la estrategia de aislamiento y purificación de analitos por métodos convencionales (por ejemplo: extracción líquido-líquido o sólido-líquido con solventes orgánicos, seguido de evaporación y "clean-up" en columna, derivatización cuando se

requería, seguidos de separación y detección por técnicas cromatográficas (cromatografía gaseosa – GC- con detector de captura electrónica –ECD- o nitrógeno/ fósforo –NPD-, o cromatografía líquida –HPLC- con detector UV). Estos métodos convencionales aplicados inicialmente permitieron detectar insecticidas en aguas y sedimentos en zonas cercanas a cultivos, en estudios a escala local, en concentraciones entre no detectables hasta 72,5 µg/L y 361,4 µg/Kg de cipermetrina; 5,1µg/L y 12,9 µg/Kg de clorpirifos; 29,0 µg/L y 193,3 µg/Kg de endosulfán, respectivamente (Marino y Ronco, 2005; Peruzzo y col., 2008; Demetrio, 2012). A su vez los monitoreos preliminares del herbicida glifosato (HPLC-UV) desde no detectable y hasta 700 µg/L en aguas y desde no

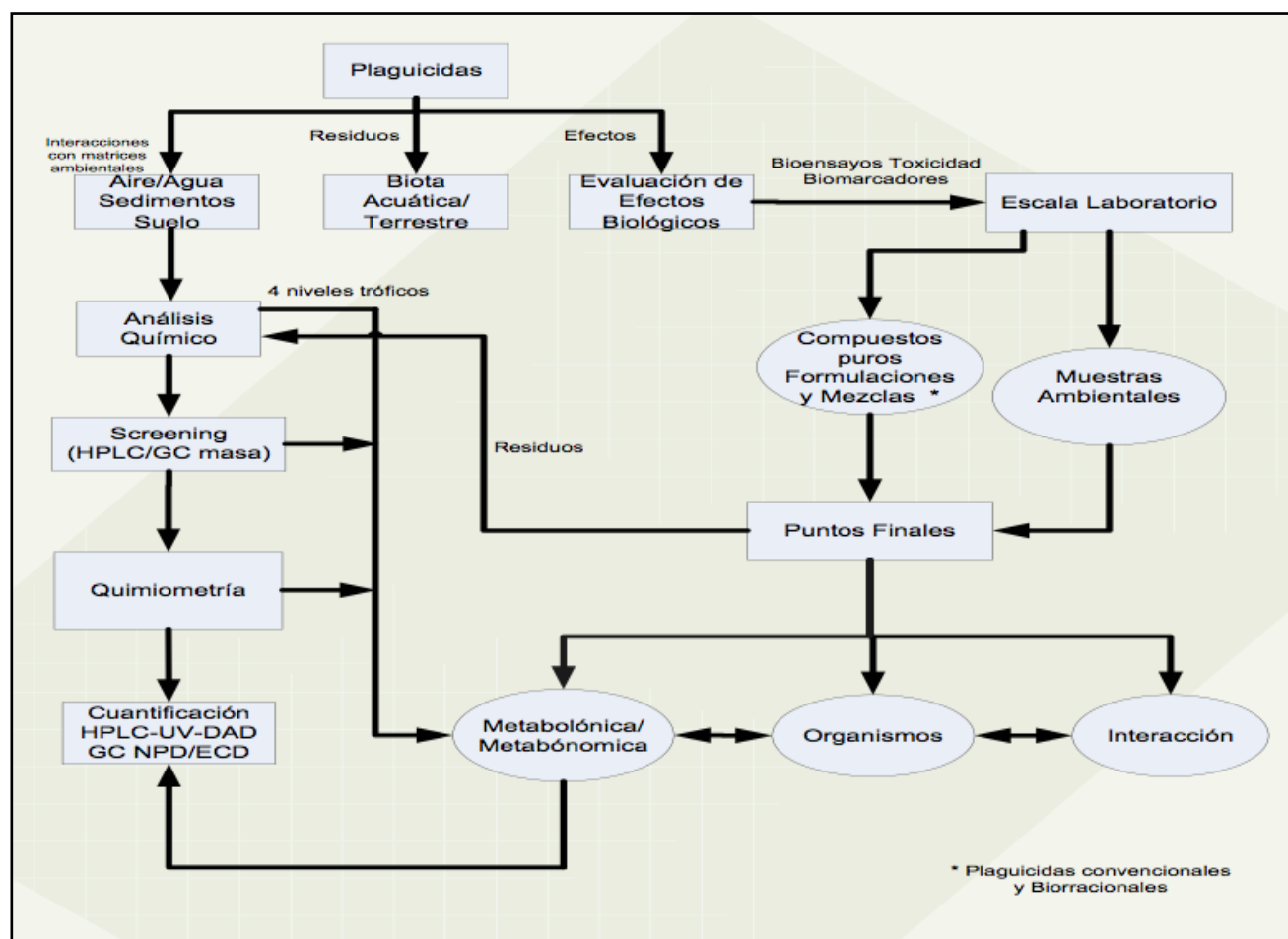


Figura 1: Estrategia de evaluación de la exposición, los efectos y el riesgo asociado al uso de plaguicidas en agroecosistemas.

detectable hasta 1840 µg/kg en sedimentos en estos mismos ambientes mostraron niveles de concentración preocupantes del herbicida en esos mismos ambientes.

Esta estrategia general reveló el impacto de pulsos de toxicidad aguda (efectos letales y subletales) en la biota acuática (microcrustáceos, peces, larvas de anfibios, plantas acuáticas flotantes y riparias) a escala local asociado a la práctica agrícola, luego de aplicaciones aéreas o terrestres y posterior escorrentía por lluvias, el alcance y persistencia de las mismas (Carrquiriborde y col., 2007; Sobrero y col., 2007; Ronco y col., 2008; Mugni y col., 2011) y el efecto incremental de mezclas de plaguicidas (Martin y Ronco, 2006; Ronco y col., 2008; Demetrio y col., 2012).

■ ESTRATEGIAS DE EVALUACIÓN

Las respuestas a las preguntas de investigación planteadas aportaron nuevos enfoques y estrategias, que continuaron en estudios posteriores a escala local y regional, asociados a la producción extensiva e intensiva. En la Figura 1 se esquematiza un esquema de evaluación que se ha venido utilizando en estudios posteriores que incluye nuevas líneas de evidencia en la valoración de la exposición y los efectos de plaguicidas a distinta escala de complejidad.

Por otra parte, se estudiaron patrones de sensibilidad diferencial de componentes de la comunidad a distintos plaguicidas (Ronco y col., 2008); la influencia de la contaminación preexistente en sitios contaminados sobre la sensibilidad de especies de anfibios (Ruiz de Arcaute y col., 2012); disminución de las condiciones de salud y el incremento de la frecuencia de malformaciones en poblaciones de anuros que habitan en charcas temporarias localiza-

das en agroecosistemas pampeanos (Brodeur y col., 2009, 2011, 2012; Agostini, 2013; Agostini y col., 2013), que demuestran el impacto adverso de la agricultura sobre poblaciones y comunidades.

■ ESTUDIOS A ESCALA REGIONAL

A partir del año 2004 y hasta el 2012 se realizaron siete campañas de monitoreo de calidad de aguas, sedimentos y biota en la desembocadura de los principales afluentes que vierten sus aguas en los ríos Paraná, Paraguay, Uruguay (sólo una campaña en este último) y en el cauce principal de los mismos. Estos estudios se realizaron inicialmente en el marco de convenios entre la UNLP, la Prefectura Naval Argentina -PNA-, la Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, junto a la Organización Panamericana de la Salud y, posteriormente, entre la UNLP y la PNA. Se cubrieron entre 23 y 42 sitios de estudio. Como producto del relevamiento se generó información de base sobre los problemas ambientales en los distintos tramos de la cuenca argentina, se identificaron sitios críticos asociados a fuentes múltiples de contaminación (OPS, SAyDS, PNA, UNLP, 2007; Ronco y col., 2011; Peluso y col., 2014) y estudiaron niveles de plaguicidas en aguas, material particulado en suspensión y sedimentos (Etchegoyen, 2014). En particular y en relación al interés del presente análisis, los resultados obtenidos muestran una distribución generalizada y una gran variabilidad en las concentraciones detectadas tanto de los plaguicidas organoclorados, organofosforados como de los piretroides a lo largo de toda la cuenca del Paraguay-Paraná, en concordancia con la expansión de zonas cultivadas que explican la presencia de plaguicidas en toda la cuenca. Los endosulfanes, cipermetrina y clorpirifos se caracterizaron

por su ubicuidad en la cuenca en todos los compartimientos ambientales estudiados y cuantitativamente los más importantes, ya que exhibieron las concentraciones más elevadas. En cuanto a su partición en los ambientes estudiados a nivel de la cuenca Paraguay-Paraná (23 sitios de muestreo), estos tres últimos plaguicidas se reparten preferencialmente en los compartimientos material en suspensión y en sedimentos, siendo para los endosulfanes del 98% en material en suspensión, 1,5% en sedimentos, 0,1% en agua total; el clorpirifos del 96% en material en suspensión, 3,9% en sedimentos y 0,1% en agua total y la cipermetrina se encontró mayoritariamente repartida entre el agua total (8,3%) y los sedimentos (92,3%). Las concentraciones máximas y medias detectadas en aguas de 0,31 y 0,20 µg/L de endosulfanes; 0,38 y 0,013 µg/L de clorpirifos; 0,25 y 0,16 µg/L de cipermetrina, respectivamente. Los niveles de concentración máximos y media en sedimentos de los mismos sitios fueron para los tres compuestos de 1,95 y 0,47 µg/kg de endosulfanes, 291,1 y 21,9 µg/kg de clorpirifos y 366,0 y 90,8 µg/kg de cipermetrina, respectivamente (Etchegoyen, 2014). Estos datos muestran la concordancia relativa en relación al uso actual de estos plaguicidas. Estudios realizados en sedimentos de fondo de los mismos sitios de muestreo, valorando composición de la matriz ambiental, contaminantes, efectos letales y subletales sobre el anfípodo *Hyalella curvispina* y estado de las comunidades bentónicas resaltan la relevancia de los sedimentos como sumidero de contaminantes en la cuenca, detectando efectos severos en los tramos medio e inferior de la cuenca, donde se desarrollan las mayores actividades productivas de la región (Peluso y col., 2014).

■ **ESTUDIOS CON ORGANISMOS TERRESTRES**

Los estudios en ecotoxicología terrestre se orientaron mayoritariamente a evaluar los efectos de plaguicidas en artrópodos, ya sea sobre plagas, o enemigos naturales, o la relación plaga-enemigo natural en colaboración con especialistas de otros grupos de investigación. Entre ellos se destacan trabajos sobre los efectos a nivel individual o poblacional sobre el crisópido predador generalista *Chrysoperla externa* a plaguicidas convencionales (cipermetrina, endosulfán, glifosato) y bioracionales (metoxifenocida y espinosad) en ensayos de exposición en condiciones controladas de laboratorio (Rimoldi, 2009; Rimoldi y col., 2008; Schneider y col., 2009). Los estudios detectaron efectos letales y subletales (fecundidad, fertilidad, desarrollo, como a nivel demográfico), siendo comparativamente más

tóxicos los plaguicidas convencionales. Por otra parte, Fogel y colaboradores (2009) estudiaron efectos de los insecticidas bioracionales teflubenzuron y clorfenapir sobre otro grupo de enemigos naturales de presencia común en cultivos hortícolas, contribuyendo con información relevante para programas de manejo integrado de plagas.

■ **RESULTADOS MÁS RECIENTES.**

La aplicación de nuevas técnicas analíticas separativas y de análisis instrumental (HPLC-MS o MS-MS, GC-MS) nos han permitido realizar perfiles más complejos de caracterización en lo que hace a diversidad química de compuestos y una mejora en los niveles de detección. Por ejemplo, la determinación de plaguicidas en aguas de la zona hortícola- florícola del cinturón del Gran La Plata, provincia de Buenos Aires, reveló un perfil de compues-

tos diferente a los encontrados en zonas de producción extensiva antes mencionada y que pueden visualizarse en la Figura 2, en un intervalo de concentraciones desde no detectable hasta los 125 ng/L. Otros relevamientos en la región demuestran la presencia de 70 compuestos, siendo los más relevantes en aguas Metsulfuron, Atrazina, Permetrina, Imzetapir, 2,4-D, Dietiltoluamida, Diazinon, Tiram, Clorpirifos, Imzamox, Epoxiconazol, Triticonazol, Malation, Carbofuran, Carbaril, Cipermetrina, Glifosato, AMPA e Imzetapir, 2,4-D, Cipermetrina, Clorpirifos, Plaguicidas Organoclorados (HCB, Aldrin, DDTs, Endosulfan), con alta frecuencia de aparición Atrazina, Metsulfuron e Imzetapir (Marino, comunicación personal).

Con referencia a la detección del herbicida glifosato y metabolito AMPA, se destaca, para unas

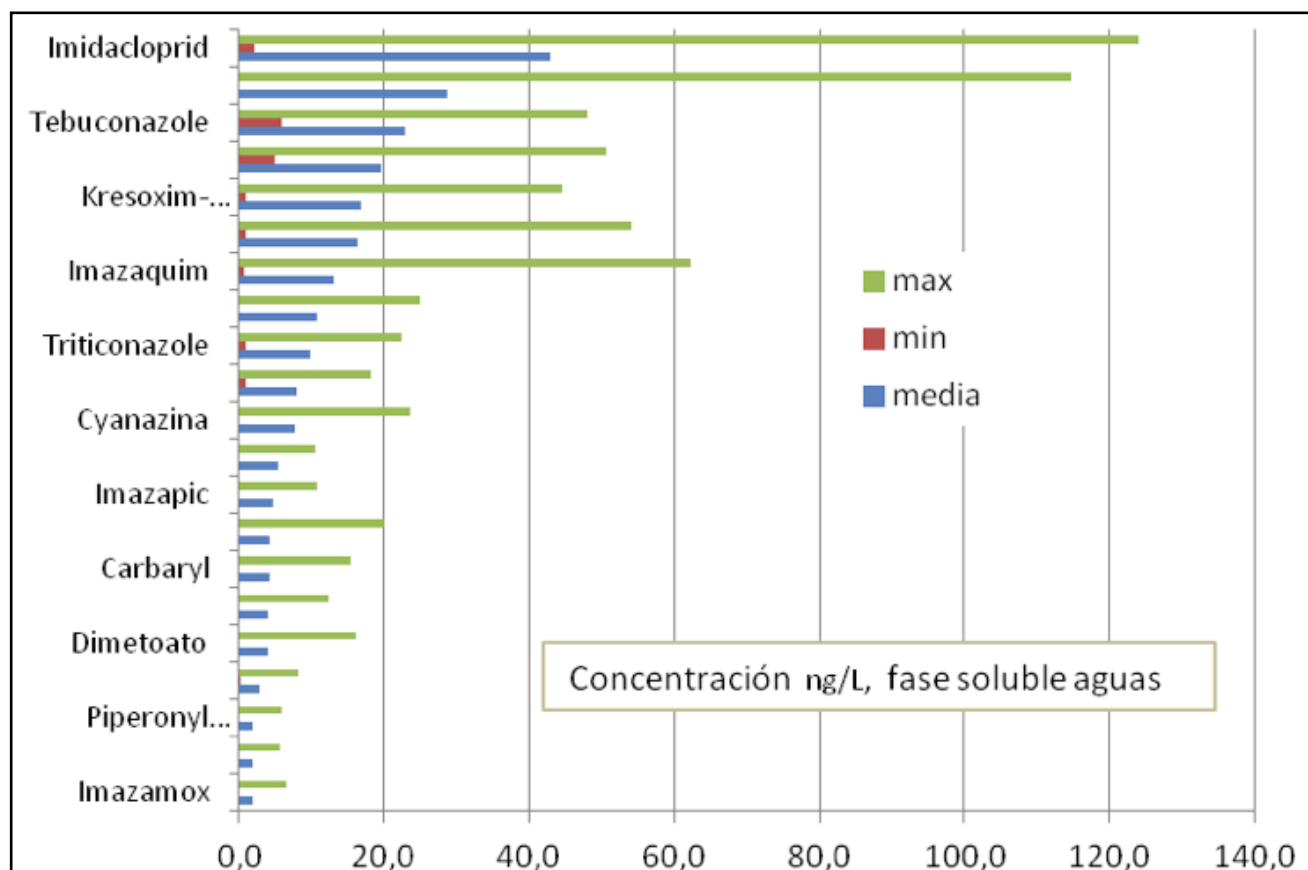


Figura 2: perfil de compuestos detectados en aguas superficiales de zona hortícola

300 muestras analizadas de aguas superficiales provenientes de la región pampeana, que el 50% de las mismas están por debajo del límite de detección, un 30 % se encuentran en concentraciones inferiores a 1 µg/L y un 20% en concentraciones entre 1 y 500 µg/L (Marino, comunicación personal, Primost, 2013). Por otra parte, el estudio del contenido de herbicidas en agua de lluvia de zonas rurales y urbanas ha sido documentado en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos y Santa Fe, revelando que la atmósfera es un reconocido sumidero de estos compuestos, con detección en alrededor de un 80 % de los sitios estudiados y concentraciones en el intervalo desde no detectable hasta 67 µg/L (promedio 4,5 µg/L) (Alonso, 2015).

Por otra parte, la investigación de residuos de plaguicidas o metabolitos en fluidos biológicos de organismos expuestos en laboratorio permitió abrir nuevas estrategias de estudio y conocer compuestos asociados a respuestas metabólicas globales. En el estudio realizado por Carriquiriborde y colaboradores (2011) se identificó en bilis de *Odonthestes bonariensis* (pejerrey) expuestos a cipermetrina en comparación con grupo control, una respuesta característica, reconociéndose dos compuestos más representativos, el reconocido glucurónido de 4'-hidroxi-cipermetrina y el 4'-hidroxi-cipermetrina sulfato basado en HPLC-MS metabolómica.

■ EVALUACIÓN DE RIESGO DE PLAGUICIDAS

La Evaluación de Riesgo Ecológico (ERA) es un proceso que evalúa la probabilidad de que efectos ecológicos adversos puedan ocurrir como resultado de la exposición a uno o más agentes (USEPA, 1992). Es necesario relacionar escenarios

de exposición (concentraciones en el ambiente) y efectos biológicos considerados en la evaluación. El paradigma suele realizarse en un proceso escalonado, a niveles de complejidad creciente, tendiendo a cubrir el mayor posible realismo ecológico de la evaluación. Sobre la base de estudios realizados en ambientes representativos de agroecosistemas sojeros, Demetrio (2012), realizó una estimación del riesgo asociado para invertebrados de agua dulce, para tres plaguicidas (cipermetrina, clorpirifos y glifosato), en un escenario característico postaplicación, además de estimar el riesgo asociado para las mezclas binarias y la mezcla ternaria de los plaguicidas, utilizando modelos probabilísticos de estimación. Los cálculos indican, estimando el riesgo ecológico esperado promedio como el área bajo la curva de probabilidad conjunta (fracción de especies afectadas vs distribución de la concentración) de 67,0% para cipermetrina, 34,7 para clorpirifos y 0,62% para glifosato, alcanzando para la mezcla ternaria un valor del 78,52%. El estudio demuestra un elevado riesgo en escenarios post aplicación de cipermetrina o la mezcla de los plaguicidas para los invertebrados de agua dulce que habitan agroecosistemas pampeanos.

■ RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN ALIMENTOS

Muy recientemente, investigadores del CIMA acompañados de estudiantes de grado han encarado proyectos de extensión universitaria tendientes a la construcción de un espacio multidisciplinario de interacción socio-ambiental enfocado al uso de plaguicidas. Uno de los objetivos centrales está orientado a la aplicación de herramientas de análisis que provee la química ambiental, para aportar conocimiento de base necesario hacia la resolución

de conflictos ambientales derivados de ese marco. En este marco se han logrado poner a punto técnicas analíticas para la determinación de residuos de plaguicidas en alimentos (frutas y verduras), en particular realizando muestreos en el área de recepción y recupero de alimentos del Banco Alimentario de la ciudad de La Plata. Los primeros informes de análisis realizados recientemente muestran que casi un 77% de las muestras analizadas (n=47) dieron resultados positivos, siendo los endosulfanes los de mayor frecuencia de detección (43%), seguido por clorpirifos y lambda-cilotrina, siendo los cítricos, alimentos de hoja verde, morrón y zanahoria los que exhiben mayores cantidades relativas entre los plaguicidas analizados (Marino y Peluso, comunicación personal). Los integrantes del equipo de trabajo destacan que el consumo de frutas y verduras es una potencial fuente de exposición a plaguicidas, poniendo de manifiesto la necesidad de contar con valores máximos permitidos para algunos productos y compuestos, además de contar con un efectivo sistema de control local y regional.

■ REFLEXIONES FINALES

Se ha podido demostrar la presencia de plaguicidas en ambientes de la región, tanto a nivel local como regional, en zonas de cultivos intensivos y extensivos, en aguas, sedimentos de fondo, atmósfera, además de residuos en alimentos que consume la población.

Por otra parte se ha podido determinar a escala de laboratorio como a nivel de estudios de campo los efectos adversos en la biota nublado, acuática y terrestre, a nivel individual y poblacional y el efecto incremental de mezclas y de formulaciones.

Se han detectado impactos de insecticidas asociados a cultivos extensivos, que indican efectos agudos, letales sobre la biota acuática y riparia, de características pulsátiles, a escala local, que se extienden temporal y espacialmente luego de aplicaciones y escorrentía asociada a las lluvias posteriores.

Se han realizado evaluaciones de riesgo sobre comunidades de invertebrados por exposición a concentraciones ambientales de plaguicidas que indican un elevado riesgo asociado a los insecticidas de mayor uso a nivel extensivo (cipermetrina, clorpirifos) sobre esos componentes de la biota acuática.

Si bien se ha detectado presencia de plaguicidas en grandes cuencas de la región, no se han podido realizar evaluaciones de riesgo a dicha escala, teniendo en cuenta exposiciones prolongadas en el tiempo, a distintos niveles de organización de los componentes de la biota, siendo una de las mayores limitantes el escaso conocimiento de las concentraciones ambientales de los plaguicidas, su compartimentalización y biodisponibilidad.

Se han encontrado residuos de plaguicidas en alimentos para consumo humano con alta frecuencia de detección en frutas y verduras, en una frecuencia similar a la encontrada en otros países de América Latina, aunque superior a lo observado en la Comunidad Europea, señalando la necesidad de contar con relevamientos continuos y niveles referenciales de riesgo asociado a esa ruta de exposición en humanos.

Se registra una elevada percepción negativa de la comunidad sobre el uso de plaguicidas, lo cual indica la necesidad de un estudio exhaustivo, sistemático y minucioso de seguimiento y control, con estudios

básicos y aplicados que permitan consolidar un sistema productivo sustentable, frente a las necesidades de la comunidad y hacia un manejo permanente del ambiente y la calidad de vida.

■ AGRADECIMIENTOS:

A los estudios que realizan los investigadores, becarios, estudiantes de grado y posgrado del CIMA y equipos asociados y a los organismos de financiamiento que han permitido los logros mencionados.

■ GLOSARIO

Crisópido: Los crisópidos (Chrysopidae) son una familia de insectos del orden Neuroptera; reciben los nombres comunes de crisopas, crisopas verdes, crisopas de alas verdes, ojos dorados, león de áfidos, alas de encaje y moscas hediondas, entre otros. Los adultos son de cuerpo verde a pardo pálido, su venación alar contrasta en sus dos pares de alas transparentes y sus ojos son dorados o amarillos cobrizos. Esta familia es cosmopolita, sus miembros habitan especialmente en zonas de gran vegetación y agrícolas. Sus larvas son depredadores de otros artrópodos de cuerpo blando y son también caníbales, y unos pocos adultos son depredadores, como *Chrysopa*. La mayoría se alimenta de secreciones proteínicas.

Limnocorales: Mantenedos a flote por un sistema especialmente diseñado, los limnocorales se ubican idealmente en el ambiente de un lago, permitiendo a los investigadores aislar completamente sus muestras de agua. Se fabrican con distintos materiales plásticos, los que mejor se adaptan para ensayar cuerpos de agua dulce. Se extienden hasta el fondo del cuerpo de agua y una vez fijados al suelo se sellan para prevenir filtraciones.

Riparia: Lo relativo a la ribera, especialmente la vegetación de ribera (bosque ripario o de ribera).

■ BIBLIOGRAFÍA

Agostini MG. (2013). Estudio Ecotoxicológico de Anfibios Anuros en Agroecosistemas del Nordeste de la Región Pampeana. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

Agostini MG, Kacolis F, Demetrio P, Natale GS, Bonetto C, Ronco AE. (2013). Abnormalities in amphibian populations inhabiting agroecosystems from Northeastern of Buenos Aires province, Argentina. *Dis Aquat Org.* 104: 163–171.

Alonso L. (2015). Estudio de los niveles de concentración de herbicidas en agua de lluvia y material particulado sedimentable en aire de zonas con distinta influencia de actividad agrícola de la región Pampeana. Trabajo Final de Licenciatura, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. 80 pp.

Brodeur JC, Vera Candioti J, Soloneski S, Larramendy ML, Ronco AE. (2012). Evidence of reduced feeding and oxidative stress in common tree frogs (*Hypsiboas pulchellus*) from an agroecosystem experiencing severe drought. *J Herpetol.* 46: 72–78.

Brodeur JC, Svartz G, Perez-Coll CS, Marino DJG, Herkovits J. (2008). Comparative susceptibility to atrazine of three developmental stages of *Rhinella arenarum* and influence on metamorphosis: Non-monotonous acceleration of the time to climax and delayed tail resorption. *Aquat Toxicol.* 91: 161–170.

- Brodeur JC, Suárez RP, Natale GS, Ronco AE, Zaccagnini ME. (2011). Reduced body condition and enzymatic alterations in frogs inhabiting intensive crop production areas. *Ecotoxicol Environ Safety* 74: 1370-1380.
- Carriquiriborde P, Díaz J, Mugni H, Bonetto C, Ronco AE. (2007). Impact of cypermethrin on stream fish populations under field use in biotec-soybean production. *Chemosphere* 68: 613-621.
- Carriquiriborde P, Marino DJ, Giachero G, Castro EA, Ronco AE. (2012). Global metabolic response in the bile of pejerrey (*Odontesthes bonariensis*, Pisces) sublethally exposed to the pyrethroid cypermethrin. *Ecotoxicol Environ Safety* 76: 46-54.
- Carson R. (1962). *Silent Spring*. Boston: Houghton Mifflin.
- CASAFA. (2012). Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes. En línea: www.casa-safe.org.ar.
- COPR (1997). *The Control of Pesticides Regulations (COPR)*, Gran Bretaña. *The Biocidal Products Regulations*. <http://www.hse.gov.uk/biocides/copr/>
- Demetrio PM, Bulus Rossini G, Bonetto C, Ronco A. (2012). Effects of Pesticide Formulations and Active Ingredients on the Coelenterate *Hydra attenuata* (Pallas, 1766). *Bull Environ Contam Toxicol* 88: 15-19.
- Demetrio P, Bonetto C, Ronco A (2014). The Effect of Cypermethrin, Chlorpyrifos, and Glyphosate Active Ingredients and Formulations on *Daphnia magna* (Straus). *Bull Environ Contam Toxicol* 93: 268-273.
- Demetrio PM. (2012). Estudio de efectos biológicos de plaguicidas utilizados en cultivos de soja RR y evaluación de impactos adversos en ambientes acuáticos de agroecosistemas de la región pampeana. Tesis Doctoral, La Plata, 146pp.
- Etchegoyen A. (2014). Distribución de plaguicidas en aguas y sedimentos de fondo, en los principales afluentes de la cuenca del Paraguay-Paraná. Trabajo Final de Licenciatura, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, 84 pp.
- Fogel M, Rimoldi F, Pineda S, Schneider M, Ronco A. (2009). Side Effects of teflubenzuron and chlorfenapyr in *Eriopsis connexa* eggs (Coleoptera: Coccinellidae). *Comm Appl Biol Sci*. 74: 419-424.
- Fogel MN. (2012). Selectividad de insecticidas utilizados en cultivos hortícolas del Cinturón Hortícola Platense sobre el depredador *Eriopsis connexa*, en el marco del Manejo Integrado de Plagas". Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.
- Girbal-Blacha NM. (2002). Políticas públicas para el agro se ofrecen. *Llamar al estado peronista (1943-1955)*. *Mundo Agrario* 3: 1-17.
- Leguizamón A. (2014). Modifying Argentina: GM soy and socio-environmental change. *Geoforum* 53: 149-160.
- Marino D, Ronco A. (2005). Cypermethrin and chlorpyrifos concentration levels in surface water bodies of the Pampa Ondulada, Argentina. *Bull Environ Contam Toxicol*. 75: 820-826.
- Martin ML, Ronco AE. (2006). Effects of Mixtures of Pesticides Used in the Direct Seeding Technique on Non-Target Plant Seeds. *Bull Environ Contam Toxicol*. 77: 228-236.
- Martin ML. (2011). Impacto del uso de plaguicidas asociados al cultivo de soja transgénica sobre especies no blanco de la flora riparia y acuática. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP.
- Mugni H, Ronco A, Bonetto C. (2011). Insecticide toxicity in runoff and stream water within a soybean field (Buenos Aires, Argentina). *Ecotoxicol Environ Safety* 74: 350-354.
- OPS, SAyDS, PNA, UNLP. (2007). Caracterización Sanitaria y Ambiental de las Aguas en Tramos Específicos de los Ríos Paraná, Paraguay. Uruguay y sus Afluentes (Tres campañas). Informe Técnico. Organización Panamericana de la Salud, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Prefectura Naval Argentina, Universidad Nacional de La Plata, 90 pp.
- Peluso ML, Abelando M, Apartín CD, Almada P, Ronco AE. (2013). Integrated quality assessment of bottom sediments from the Paraná basin. *Ecotoxicol Environ Safety* 98: 179-186.
- Peruzzo PJ, Porta AA, Ronco AE. (2008). Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in North pampasic region of Argentina. *Environ Pollut*. 156: 61-66.
- Primost JE. (2013). Estudio de niveles ambientales de glifosato y AMPA

- en una zona modelo de intensa actividad agrícola en los alrededores de Urdinarrain, Entre Ríos. Trabajo Final de Licenciatura. Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, Argentina. 80 pp.
- Rimoldi F. (2009). Evaluación ecotoxicológica de pesticidas usados en el paquete tecnológico Soja RR, sobre el sistema *Rachiplusia nu* – *Chrysoperla externa*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.
- Rimoldi F, Schneider M, Ronco A. (2008). Susceptibility of *Chrysoperla externa* eggs (Neuroptera: Chrysopidae) to conventional and biorational insecticides. *Environ Entomol* 37: 1252-1257.
- Ronco A, Almada P, Apartin C, Marino D, Abelando M, Bernasconi C, Primost J, Santillán JM, Amoedo P, Bulus Rossini G. (2011). Monitoreo ambiental de los principales afluentes de los Ríos Paraná y Paraguay, Actas III Congreso Internacional sobre Cambio Climático y Desarrollo Sustentable, UNLP, La Plata, 7 pp.
- Ronco A, Carriquiriborde P, Natale GS, Martín ML, Mugni H, Bonetto C. (2008). Integrated approach for the assessment of biotech soybean pesticides impact on low order stream ecosystems of the Pampasic Region. En: *Ecosystem Ecology Research*, Nova Publishers. ISBN 978-1-604561-83-8, p. 209-239.
- Ruiz de Arcaute C, Salgado Costa C, Demetrio PM, Natale GS, Ronco AE. (2012). Influence of existing site contamination on sensitivity of *Rhinella fernandae* (Anura, Bufonidae) tadpoles to Lorsban®48E formulation of chlorpyrifos. *Ecotoxicology* 21: 2338-2348.
- Satorre EH. (2005). Cambios tecnológicos en la agricultura argentina actual. *Ciencia Hoy* 15: 24-31.
- Schneider M, Sánchez N, Pineda S, Chi H, Ronco A. (2009). Impact of glyphosate on the development, fertility and demography of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): Ecological approach. *Chemosphere* 76: 1451-1455.
- SENASA (2014). Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. <http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=524&io=2956>.
- Sobrero C, Martín ML, Ronco A (2007). Efecto del herbicida Roundup® Max sobre especies de plantas acuáticas no blanco. *Hidrobiologica* 17: 1-10.
- Sobrero MC (2010). Estudio de la fitotoxicidad de metales pesados y del herbicida glifosato en ambientes acuáticos. Bioensayos con plantas vasculares como organismo diagnóstico. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP.
- USEPA (1992). Framework for Ecological Risk Assessment, Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC 20460.
- USEPA (2015). Environmental Protection Agency, National Pesticide Information Center. Data bases for Chemical Information, <http://npic.orst.edu/ingred/cheminfo.html>

¿REPRESENTAN NUESTROS EFLUENTES CLOACALES UN RIESGO PARA LOS ECOSISTEMAS ACUÁTICOS Y LA SALUD?

Palabras clave: efluentes cloacales, contaminantes emergentes, perturbación endocrina.
Key words: wastewaters, emerging pollutants, endocrine disruption.

El aumento de las poblaciones humanas y la concentración de las mismas en núcleos urbanos han llevado a que los desechos que éstas generan sean dispuestos de una forma u otra en el ambiente circundante. En los últimos años se ha demostrado que los efluentes cloacales colectan no sólo los desechos fisiológicos provenientes de esas poblaciones, sino también los metabolitos de los fármacos que se consumen, los productos relacionados con el cuidado personal, los productos de limpieza, los plaguicidas, los herbicidas, etc. Todos estos residuos se vuelcan, tratados o no, en los sistemas acuáticos superficiales próximos, que paradójicamente luego sirven como fuente de agua de bebida.

El presente trabajo resume en forma esquemática los fármacos encontrados en los cuerpos de agua superficiales de distintas partes del mundo y los primeros trabajos realizados en la temática en nuestro país. Como ejemplo se toma la detección y actividad biológica del 17 α -etinilestradiol, componente de las pastillas anticonceptivas y su efecto sobre la biología de especies de peces autóctonas.

Pedro Carriquiriborde^{1*} y Gustavo Manuel Somoza²

¹Centro de Investigaciones del Medio Ambiente (CIMA). Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata-CONICET. Calle 47 y 115 S/N. (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina.

E-mail: pcarriqu@quimica.unlp.edu.ar

²IIB-INTECH. Universidad Nacional de San Martín-CONICET. Av. Intendente Marino Km 8,2. (7130). Chascomús, Buenos Aires, Argentina.

The growth of human populations and their concentration in urban areas have led to the fact that the wastes they generate are disposed into the surrounding environment. In recent years it has been shown that the sewage discharges contain not only the physiological waste from these populations, but also the metabolites of drugs consumed, personal care products, cleaning products, pesticides, herbicides etc. All of these wastes are dumped, treated or not, in the surrounding surface water systems, which paradoxically are used as source of drinking water.

This paper schematically summarizes the pharmaceutical products found in surface water bodies around the world and the studies done on this respect in our country. As an example the detection and biological activity of 17 α -ethinylestradiol, component of birth control pills, is described and its effects on the biology of native fish species.

En términos de calidad de vida, el desarrollo de la civilización puede definirse como el conjunto de las acciones que el ser humano realiza con los recursos disponibles para mejorar las condiciones de vida de los individuos. Sin embargo, a pesar de que este concepto lleva implícita la idea de bienestar y la mejora en la calidad de vida, está asociado también con los efectos adversos vinculados con el mal uso de los re-

ursos naturales y el descarte de los productos de desecho.

El desarrollo ha llevado también al aumento de la expectativa de vida, al aumento de las poblaciones humanas y también a la concentración de las mismas en núcleos urbanos. Los desechos (gaseosos, líquidos y sólidos) que éstas generan son dispuestos de una forma u otra en el ambiente circundante. En particular,

los efluentes cloacales colectan no sólo los desechos fisiológicos, sino también los metabolitos de los fármacos que se consumen, los productos relacionados con el cuidado personal, productos de limpieza, plaguicidas, herbicidas, etc. volcándose, tratados o no, en los sistemas acuáticos superficiales próximos, que paradójicamente luego sirven como fuente de agua de bebida. Esto llevó, por ejemplo, a que en el

año 2010, 1.800 millones de personas tuvieron acceso a agua insegura desde un punto de vista sanitario y 1.200 millones más estuvieron expuestos a agua potencialmente no segura (Onda y col., 2012).

En la Figura 1 puede verse, de forma esquemática, un diagrama de las vías de llegada de metabolitos endógenos (ej. hormonas) y productos de uso medicinal y veterinario, a los cuerpos de agua asociados con las poblaciones humanas. De esta

forma, estos productos no sólo llegan, como muchas veces se presupone, por medio de desagües clandestinos provenientes de las fábricas que los utilizan, sino también desde los desagües hospitalarios y los desagües domiciliarios.

Hoy es sabido que muchos de los productos farmacéuticos no son completamente metabolizados por el organismo y de esta forma son excretados por heces y orina tanto en su forma original como sus formas metabolizadas (Boxall y col., 2012). El mismo tipo de razonamiento puede usarse para nuestras propias hormonas ya que muchas de ellas son excretadas en su forma natural o conjugadas (Ankley y col., 2007; Kamrath y col., 2014). Estos compuestos son comúnmente agrupados en siete grupos: 1) antibióticos, 2) hormonas esteroideas, 3) anti-inflamatorios no esteroideos y analgésicos, 4) neurofármacos, fármacos cardioactivos, reguladores del metabolismo de lípidos y diuréticos (Boxall y col., 2012; Fabbrì, 2015). Por consiguiente, todos estos compuestos terminarán, finalmente, desechados a través de los desagües cloacales domiciliarios.

■¿PUEDEN ENTONCES ESTOS COMPUESTOS ALCANZAR LOS RÍOS, LAGOS Y MARES?

En la última década, estudios realizados principalmente en Norteamérica, Europa y Asia, han demostrado que, efectiva-

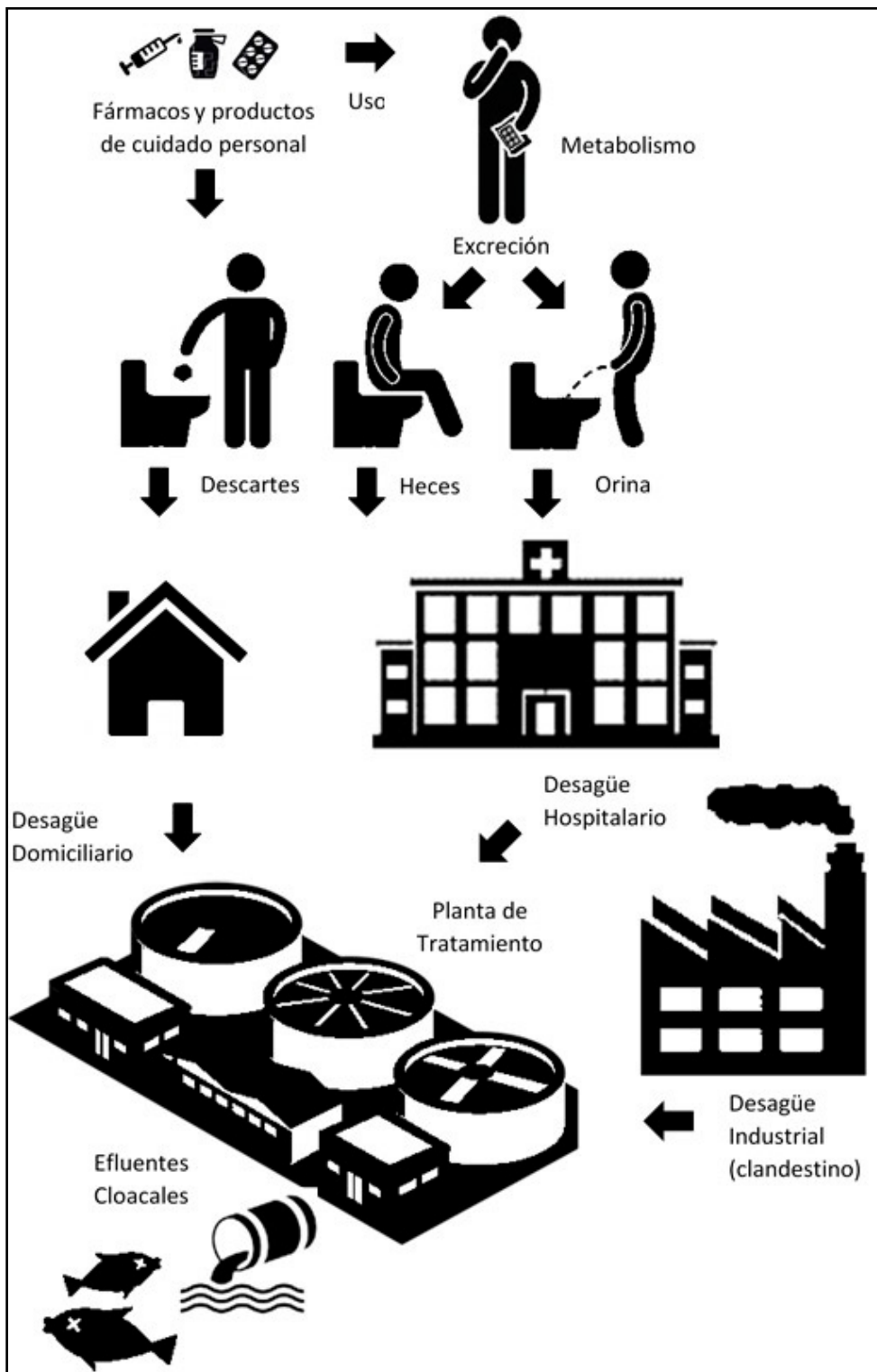


Figura 1

mente, estos compuestos se hallan presentes en los efluentes cloacales y, aún más, que las plantas de tratamiento convencionales son ineficientes en la remoción de este tipo de sustancias (Ternes y col., 1998). Tales estudios revelan que tanto en los efluentes cloacales crudos y tratados, como en las aguas superficiales son detectados un gran número de compuestos farmacéuticos, productos para el cuidado personal (PPCPs, de acuerdo a su nombre en inglés: Pharmaceuticals and Personal Care Products), productos de uso veterinario, así como hormonas naturales y sintéticas (Liu y col., 2009; Gall y col., 2011; Boxall y col., 2012; Blair y col., 2013; Fabbri, 2015). Incluso, últimamente se han encontrado evidencias de la presencia de estos compuestos en aguas marinas costeras (Zou y col., 2011; Munaron y col., 2012; McEneff y col., 2014; Rocha y col., 2014). Este tipo de sustancias son liberadas continuamente por las plantas de tratamientos cloacales y reciben el nombre de contaminantes pseudo-persistentes

(Daughton, 2002). Estudios recientes, demuestran que estos compuestos están presentes en los efluentes cloacales y aguas superficiales de distintas localidades de las provincias de Buenos Aires y Córdoba, en Argentina (Elorriaga y col., 2013a; 2013b; Valdés y col., 2014a; 2014b) en niveles comparables a los publicados para otras partes del mundo (Tabla 1).

■ ¿REPRESENTAN UN RIESGO PARA LA SALUD DE LOS ECOSISTEMAS?

Una de las primeras evidencias sobre el potencial efecto que los efluentes cloacales podrían tener sobre los ecosistemas acuáticos surgió en Inglaterra hace ya más de treinta años atrás cuando pescadores deportivos notaron que los ejemplares de un pez emparentado con la carpa común, *Rutilus rutilus*, que se pescaban en una pileta de estabilización de efluentes cloacales y en el río Támesis, aguas abajo del sitio de descarga, presentaban gónadas que

tenían tanto tejido testicular como ovárico, condición que se conoce como "intersexos" (Sweeting, 1981). Este hecho no sólo causó un fuerte impacto y preocupación en la opinión pública sobre el volcado de los efluentes cloacales a los ríos, sino que también mostró la importancia de los peces como organismos centinela.

Posteriormente, una gran cantidad de estudios ha confirmado que los peces expuestos a efluentes cloacales desarrollaban alteraciones en determinadas funciones asociadas con la reproducción. Otro de los efectos observados ha sido la inducción, en machos, de la síntesis y secreción de una proteína producida normalmente por el hígado de las hembras, la vitelogenina (Sumpter, 1995; Sumpter y Jobling, 1995). La exposición de peces, colocados en jaulas en distintos sectores de ríos del Reino Unido inducía la producción de tal proteína y los niveles séricos de esta proteína en machos guardaban relación con la distancia

Tabla 1. Concentraciones detectadas de diferentes fármacos hallados en efluentes cloacales y aguas superficiales de Argentina y otras partes del mundo.

Acción	Fármaco	Efluente (µg/L)				Agua superficial (µg/L)				
		Argentina ¹		Otros países ²		Argentina ¹		Otros países ²		
		Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	
<i>Anticonceptivo</i>										
	EE ₂	0,03	0,19	0,001	0,010	---	0,043	0,001	0,015	
<i>Anticonvulsivo, antineurálgico y antimaniaco</i>										
	Carbamazepina	0,08	0,71	0,15	6,3	0,01	0,77	0,014	1,1	
<i>Beta-bloqueante (tratamiento de deficiencias cardíacas)</i>										
	Atenolol	0,07	1,74	0,01	0,13	0,00	0,32	0,017	0,24	
<i>Analgésico antiinflamatorio</i>										
	Ibuprofeno	0,10	11,2	0,002	85,0	0,56	8,16	---	3,1	
	Diclofenac	0,15	0,50	0,81	33,9	0,01	0,56	0,006	1,8	

¹Elorriaga y col., 2012; Elorriaga y col., 2013; Valdés y col., 2014a; Valdés y col., 2014b.

²Atkinson y col., 2012; Corcoran y col., 2010; Gracia-Lor y col., 2011; Halling-Sørensen y col., 1998; Kaplan, 2013; Manickum y John, 2013; Ternes, 1998.

de la jaula al sitio de descarga del efluente (Sumpter, 1995; Harries y col., 1997). Éstos, junto con otros tipos de alteraciones, fueron luego demostrados en otras especies y en distintas localidades en diversas partes del mundo (Bahamonde y col., 2013)

En el momento en el que se descubrieron los efectos mencionados, el agente causante del mismo no era conocido. Como primera aproximación para su identificación, se ensayaron distintos fármacos con reconocida actividad estrogénica en mamíferos y posteriormente se verificó que lo eran también en peces y que se hallaban presentes en los efluentes cloacales (Sumpter y Jobling, 1995). Gracias a estos estudios, el proceso de feminización hallado, fue atribuido directamente a la presencia de estrógenos en el ambiente como el estradiol (E_2) y estrona (E_1), productos de la excreción fisiológica normal y, fundamentalmente, el 17α -etinilestradiol (EE_2) que es el principio activo de las pastillas anticonceptivas y que posee mayor potencia biológica que los estrógenos naturales (Desbrow y col., 1998).

Posteriormente, un estudio de campo de siete años de duración, realizado en el área de lagos experimentales de Canadá (del inglés, ELA) en la provincia de Ontario, demostró que exposiciones crónicas del pez *Pimephales promelas*, a concentraciones ambientales de EE_2 (entre 5 y 6 ng/L) son capaces de conducir al colapso de la población de dicha especie (Kidd y col., 2007). Ensayos en laboratorio también han demostrado que la exposición a EE_2 o efluentes no diluidos puede llevar a la feminización de los individuos de una población, demostrando también que estos efluentes pueden afectar también el proceso de diferenciación sexual en peces (Lange y col., 2008; 2011).

Existen aún muy pocos datos sobre las concentraciones de fármacos como el EE_2 en efluentes cloacales y aguas superficiales de Argentina (Tabla 1). La concentración hallada para este compuesto en zonas próximas a la descarga cloacal de Chascomús, por ejemplo, arrojó valores de 43 ng/L, valores relativamente altos si se los compara con los publicados para otras zonas del mundo. Igualmente son escasos los estudios realizados con especies autóctonas. En tal sentido estudios realizados con el "tosquerito" (*Jenynsia lineata*), muestran que concentraciones de E_2 de 50 ng/L pueden inducir alteraciones en la expresión del gen que codifica para una variante cerebral de la aromatasa (Guyón y col., 2012), enzima que convierte la testosterona en estradiol y que se sospecha está involucrada en procesos de diferenciación sexual de ese órgano. Por otro lado, estudios realizados en el pejerrey bonaerense (*Odontesthes bonariensis*), una especie muy apreciada por los pescadores deportivos de la región pampeana, y que presenta una determinación genética del sexo muy lábil (el sexo es principalmente determinado por la temperatura a la que son expuestas las larvas durante las primeras 6 semanas de vida), demuestran que 50 $\mu\text{g/g}$ de E_2 y 0,1 $\mu\text{g/g}$ de EE_2 en el alimento son capaces de aumentar la expresión génica de la variante gonadal de la aromatasa, enzima relacionada con la diferenciación ovárica e inhibiendo la de 11β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa, enzima relacionada con la diferenciación testicular, hecho que condujo a la feminización de la mayor parte de los individuos (Pérez y col., 2012). Otros experimentos realizados recientemente también en condiciones de laboratorio con las llamadas madre-citas, *Cnesterodon decemmaculatus* demuestran, para esta especie, la inducción de intersexos cuando se los expone a concentraciones de EE_2

en el agua de 100 ng/L o mayores (Young y col., datos no publicados). Tomados en su conjunto, estos datos indican la vulnerabilidad de las especies autóctonas a la presencia de EE_2 en el ambiente y por tanto el riesgo que los efluentes cloacales pudieran representar para los ambientes acuáticos.

■ ¿HAY ALGO QUE PODAMOS HACER?

En resumen, todos los estudios expuestos muestran evidencias concretas que los efluentes cloacales representan un riesgo para los ecosistemas acuáticos y que los peces o cualquier otra grupo animal que tenga un ciclo de vida acuático, resultan un blanco sensible a la acción de las hormonas o fármacos presentes en esos efluentes. En los países desarrollados, se han invertido grandes esfuerzos en estudiar los efectos que los efluentes cloacales pueden inducir sobre los ecosistemas acuáticos. De esta forma, el tratamiento de los efluentes cloacales ataca específicamente a la eliminación de micro-contaminantes con demostrados efectos adversos, permitiendo una reducción sensible del impacto en los cuerpos de aguas receptores (Eggen y col., 2014).

■ BIBLIOGRAFÍA

- Ankley GT, Brooks BW, Huggett DB, Sumpter JP. (2007). Repeating history: pharmaceuticals in the environment. *Environ Sci Technol.* 41: 8211-8217.
- Atkinson SK, Marlatt VL, Kimpe LE, Lean DRS, Trudeau VL, Blais JM. (2012). The occurrence of steroidal estrogens in south-eastern Ontario wastewater treatment plants. *Sci Total Environ.* 430: 119-125.
- Bahamonde P, Munkittrick KR, Mar-

- tyniuk CJ. (2013). Intersex in teleost fish: Are we distinguishing endocrine disruption from natural phenomena? *Gen Comp Endocrinol.* 192: 25-35.
- Blair BD, Crago JP, Hedman CJ, Klapper RD. (2013). Pharmaceuticals and personal care products found in the Great Lakes above concentrations of environmental concern. *Chemosphere* 93: 2116-2123.
- Boxall ABA, Rudd MA, Brooks BW, Caldwell DJ, Choi K, Hickmann S, Innes E, Ostapyk K, Staveley JP, Verslycke T, et al. (2012). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: What are the big questions? *Environ Health Perspect.* 120: 1221-1229.
- Corcoran J, Winter MJ, Tyler CR. (2010). Pharmaceuticals in the aquatic environment: A critical review of the evidence for health effects in fish. *Crit Rev Toxicol.* 40: 287-304.
- Daughton CG. (2002). Environmental stewardship and drugs as pollutants. *Lancet* 360: 1035-1036.
- Desbrow C, Routledge EJ, Brighty GC, Sumpter JP, Waldock M. (1998). Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. *Environ Sci Technol.* 32: 1549-1558.
- Eggen RIL, Hollender J, Joss A, Schärer M, Stamm C. (2014). Reducing the discharge of micropollutants in the aquatic environment: The benefits of upgrading wastewater treatment plants. *Environ Sci Technol.* 48: 7683-7689.
- Elorriaga Y, Marino DJ, Carriquiriborde P, Ronco AE. (2013a). Screening of pharmaceuticals in surface water bodies of the Pampas region of Argentina. *Int J Environ Health* 6: 330-339.
- Elorriaga Y, Marino DJ, Carriquiriborde P, Ronco AE. (2013b). Human pharmaceuticals in wastewaters from urbanized areas of Argentina. *Bull Environ Contam Toxicol.* 90: 397-400.
- Fabbri E. (2015). Pharmaceuticals in the environment: expected and unexpected effects on aquatic fauna. *Ann N Y Acad Sci.* 1340: 20-28.
- Gall HE, Sassman SA, Lee LS, Jafvert CT. (2011). Hormone discharges from a midwest tile-drained agroecosystem receiving animal wastes. *Environ Sci Technol.* 45: 8755-8764.
- Gracia-Lor E, Sancho JV, Hernández F. (2011). Multi-class determination of around 50 pharmaceuticals, including 26 antibiotics, in environmental and wastewater samples by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1218: 2264-2275.
- Guyón NF, Roggio MA, Amé MV, Hued AC, Valdés ME, Giojalas LC, Wunderlin DA, Bistoni MA. (2012). Impairments in aromatase expression, reproductive behavior, and sperm quality of male fish exposed to 17 β -estradiol. *Environ Toxicol Chem.* 31: 935-940.
- Halling-Sørensen B, Nors Nielsen S, Lanzky PF, Ingerslev F, Holten Lützhøft HC, Jørgensen SE. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. *Chemosphere* 36: 357-393.
- Harries JE, Sheahan DA, Jobling S, Matthiessen P, Neall M, Sumpter JP, Taylor T, Zaman N. (1997). Estrogenic activity in five United Kingdom rivers detected by measurement of vitellogenesis in caged male trout. *Environ Toxicol Chem.* 16: 534-542.
- Jobling S, Nolan M, Tyler CR, Brighty G, Sumpter JP. (1998). Widespread sexual disruption in wild fish. *Environ Sci Technol.* 32: 2498-2506.
- Kamrath C, Wudy SA, Krone N. (2014). Steroid biochemistry. *Endocr Dev.* 27: 41-52.
- Kaplan S. (2013). Review: Pharmaceutical pollution in water. *Crit Rev Environ Sci Technol.* 43: 1074-1116.
- Kidd KA, Blanchfield PJ, Mills KH, Palace VP, Evans RE, Lazorchak JM, Flick RW. (2007). Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104: 8897-8901.
- Lange A, Katsu Y, Ichikawa R, Paull GC, Chidgey LL, Coe TS, Iguchi T, Tyler CR. (2008). Altered sexual development in roach (*Rutilus rutilus*) exposed to environmental concentrations of the pharmaceutical 17 α -ethinylestradiol and associated expression dynamics of aromatases and estrogen receptors. *Toxicol Sci.* 106: 113-123.
- Lange A, Paull GC, Hamilton PB, Iguchi T, Tyler CR. (2011). Implications of persistent exposure to treated wastewater effluent for breeding in wild roach (*Rutilus rutilus*) populations. *Environ Science Technol.* 45: 1673-1679.

- Liu Z, Kanjo Y, Mizutani S. (2009). Urinary excretion rates of natural estrogens and androgens from humans, and their occurrence and fate in the environment: a review. *Sci Total Environ.* 407: 4975-4985.
- Manickum T, John W. (2013). Occurrence, fate and environmental risk assessment of endocrine disrupting compounds at the wastewater treatment works in Pietermaritzburg (South Africa). *Sci Total Environ.* 468-469: 584-597.
- McEneff G, Barron L, Kelleher B, Paull B, Quinn B. (2014). A year-long study of the spatial occurrence and relative distribution of pharmaceutical residues in sewage effluent, receiving marine waters and marine bivalves. *Sci Total Environ.* 476-477: 317-326.
- Munaron D, Tapie N, Budzinski H, Andral B, Gonzalez JL. (2012). Pharmaceuticals, alkylphenols and pesticides in Mediterranean coastal waters: Results from a pilot survey using passive samplers. *Estuar Coast Shelf Sci.* 114: 82-92.
- Onda K, LoBuglio J, Bartram J. (2012). Global access to safe water: Accounting for water quality and the resulting impact on MDG progress. *Int J Environ Health Res Public Health* 9: 880-894.
- Pérez MR, Fernandino JI, Carriquiriborde P, Somoza GM. (2012). Feminization and altered gonadal gene expression profile by ethinylestradiol exposure to pejerrey, *Odontesthes bonariensis*, a South American teleost fish. *Environ Toxicol Chem.* 31: 941-946.
- Rocha MJ, Cruzeiro C, Peixoto C, Rocha E. (2014). Annual fluctuations of endocrine-disrupting compounds at the lower end of the Lima River, Portugal, and in adjacent coastal waters. *Arch Environ Contam Toxicol.* 67: 389-401.
- Sumpter JP, Jobling S. (1995). Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. *Environ Health Perspect.* 103(Suppl 7): 173-178.
- Sumpter JP. (1995). Feminized responses in fish to environmental estrogens. *Toxicol Lett.* 82/83: 737-742.
- Sweeting RA. (1981). Hermaphrodite roach in the River Lee. Hertfordshire (United Kingdom): Thames Water, Lea Division.
- Ternes TA. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res.* 32: 3245-3260.
- Valdés ME, Marino DJ, Wunderlin DA, Somoza GM, Ronco AE, Carriquiriborde P. (2014a). Screening Concentration of E₁, E₂ and EE₂ in sewage and surface waters of the "Pampas" region and the "Río de la Plata" estuary (Argentina). *Bull Environ Contam Toxicol.* 94: 29-33.
- Valdés ME, Amé MV, Bistoni MDLA, Wunderlin DA. (2014b). Occurrence and bioaccumulation of pharmaceuticals in a fish species inhabiting the Suquía River basin (Córdoba, Argentina). *Sci Total Environ.* 472: 389-396.
- Zou S, Xu W, Zhang R, Tang J, Chen Y, Zhang G. (2011). Occurrence and distribution of antibiotics in coastal water of the Bohai Bay, China: Impacts of river discharge and aquaculture activities. *Environ Pollut.* 159: 2913-2920.



**34 CENTROS DE INVESTIGACIÓN PROPIOS, ASOCIADOS,
VINCULADOS O EN RED**

INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

- CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO**
- CARRERA DEL PERSONAL DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO**
- PROGRAMA DE BECAS**
 - Becas de entrenamiento para alumnos universitarios
 - Becas de estudio
 - Becas de perfeccionamiento
- SUBSIDIOS**
 - Para la Realización de Reuniones Científicas y Tecnológicas y Asistencia a Reuniones
 - Para Publicaciones Científicas y Tecnológicas
 - Para Proyectos de Investigación de Interés Provincial

**INNOVACIÓN, TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA Y CULTURA
EMPREDEDORA**

- PROGRAMA DE MODERNIZACIÓN TECNOLÓGICA**
- PROGRAMA EMPRECIC**
- CRÉDITO FISCAL**
- PROGRAMA DE FORMACIÓN DE FORMADORES EN
EMPREDEDORISMO**

Ciencia Tecnología Innovación

 *comisionedeinvestigaciones.
cientificas*

www.cic.gba.gov.ar

REFLEXIONES ACERCA DE LA ECOTOXICOLOGÍA QUE VIENE

Palabras clave: Toxicología - Toxicología Ambiental - Ecotoxicología: evolución histórica, perspectivas y tendencias futuras - Omicas - Ecotoxicología cuantitativa - Ecotoxicogenómica.
Key words: Toxicology - Environmental Toxicology - Ecotoxicology: historical evolution, future perspectives and tendencies - Omics - Quantitative Ecotoxicology - Ecotoxicogenomics.

Las pruebas de toxicidad basadas en cambios en niveles celulares, fisiológicos y bioquímicos de las especies test seleccionadas han sido útiles como indicadores de impactos ambientales adversos de los contaminantes. No obstante, los ensayos uniespecíficos en condiciones de laboratorio no permiten extrapolaciones confiables para la descripción de los impactos de los tóxicos sobre complejas comunidades bióticas naturales que pueden interactuar tanto con otras comunidades y con sus entornos físicos. La perspectiva ecosistémica de la Ecotoxicología fue esencial para la comprensión integrada de los diferentes efectos de los compuestos peligrosos (antropogénicos o naturales). En este trabajo se describe brevemente el recorrido histórico de los objetivos y métodos de la Toxicología clásica hasta los puntos de vista y métodos modernos, anticipando la importante contribución que se espera de nuevas técnicas y herramientas que permitirán evaluaciones más realistas de los riesgos ambientales y sanitarios asociados a las crecientes interacciones de las actividades humanas con los ecosistemas.

Alfredo Salibián

Departamento de Ciencias Básicas. Universidad Nacional de Luján.
Programa de Ecofisiología Aplicada (PRODEA)
Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES)

E-mail: salibian@mail.unlu.edu.ar

Toxicity tests based on changes in cellular, physiological and biochemical levels of selected test species have been useful as indicators of adverse environmental impacts of pollutants. Notwithstanding, unispecific tests under laboratory conditions do not allow confidently extrapolations to describe the impacts of the toxics upon complex natural biotic communities that may interact both with other communities and with their physical environments. The ecosystem-level perspective of Ecotoxicology was essential for the integrated understanding of the different effects of hazardous compounds (anthropogenic or natural). This paper discussed briefly the historical journey of the classical Toxicology up to modern views and methods, anticipating the significant contribution of the new techniques and tools that will allow a more realistic evaluation of the environmental and health risks associated to the growing interactions between human activities and ecosystems.

■ INTRODUCCIÓN

La Toxicología (de los vocablos griegos *Toxicon* y *logos*) es una especialidad científica cuyo nacimiento y posterior desarrollo puede ubicarse aproximadamente en el Siglo XV. El período previo estuvo caracterizado en forma excluyente por estudios referidos a las propiedades de tóxicos de origen natural o antrópico (*venenos*, *toxinas*). Recién a partir de entonces -y hasta fines del XVIII- se inició una etapa caracterizada por el desarrollo de lo que, con el transcurso del siglo siguiente, afianzará las bases de la Toxicología científica gracias a los aportes pioneros de

numerosos investigadores, entre los cuales se destaca la figura del médico alemán Paracelso (1493-1541).

La Edad Contemporánea de la Toxicología corresponde al período en el que se registraron los avances posteriores, desde el Siglo XIX en adelante, los que como fruto de interacciones con otras disciplinas científicas y culturales, contribuyeron a su diversificación en varias especialidades; ese proceso de "especialización" fue coincidente con el momento en que los biólogos, fisiólogos, farmacólogos y bioquímicos, entre otros, confluyeron aportando sus métodos y resultados, contribu-

yendo significativamente a sentar las bases para una interpretación mecanístico-organísmica y para la expresión cuantitativa de los efectos de los tóxicos de origen diverso, en una senda que permitió el desarrollo de la Toxicología básica moderna (Paoliello y De Capitani, 2000).

A comienzos del siglo XIX la Toxicología se visualizaba principalmente como una rama integrante de las Ciencias Médicas (o Toxicología Clínica) y, como tal, su estructura teórica y práctica apuntaba al abordaje de los problemas sanitarios ligados a los venenos y secreciones animales y vegetales.

Con el tiempo, la Toxicología incluyó en sus áreas de incumbencia lo referente a las consecuencias adversas asociadas a las actividades productivas (industriales) que paulatinamente se expandían y diversificaban, utilizando una variedad de compuestos químicos, acoplado al mismo tiempo un aumento de los riesgos para los seres vivos, mayormente los humanos y sus entornos, por contaminación de los compartimientos ambientales. Este escenario abrió paso a nuevos ámbitos como la Toxicología Industrial, Ambiental, Bromatológica, Genética y Farmacológica, entre otros (Repetto Jiménez y Repetto Kuhn, 2009).

Es posible, pues, que la Toxicología sea una de las disciplinas científicas que resultó afectada positivamente por mayor número de cambios e innovaciones en un lapso relativamente breve, con impactos profundos y amplificadas gracias a los avances, conocimientos, herramientas químico y bioanalíticas y estadísticas aportados desde otras Ciencias auxiliares, que le permitieron ampliar significativamente sus fronteras científicas y sociales, en un proceso continuo de adaptación y ajuste para entender nuevas problemáticas ambientales (por ejemplo, las recientes asociadas con las perturbaciones que se registran en el marco del Cambio Climático Global) con impactos en su dinámica intrínseca y en relación a los contaminantes; tal es el caso de los procesos de simplificación ecológica que se están constatando en numerosos ecosistemas icónicos de alta biodiversidad.

Es interesante incorporar a esta discusión la propuesta que han formulado algunos autores (ver Gowdy y Krall, 2013); que desde fines del Siglo XVIII el ser humano habría ingresado a una nueva Era denominada *Antropoceno* (término acuñado

por el Premio Nobel de Química, el holandés Paul Crutzen). La misma habría seguido al Holoceno, luego de adoptar definitivamente la agricultura, estableciendo conectividades económicas y sociales por vía de un dominio de los procesos biofísicos básicos del Planeta, con impactos negativos en los procesos evolutivos de las especies, control sobre un 80% de la parte terrestre de la Biosfera mediante estrategias de interacciones e interferencias: un conjunto de complejas acciones con consecuencias globales, adversas e irreversibles, sobre las dinámicas de los entornos ambientales (en particular sobre la biodiversidad, estabilidad ecológica, clima, usos de la tierra y los servicios ecosistémicos).

■ EL ENCUENTRO DE LA TOXICOLOGÍA CON LA TOXICOLOGÍA AMBIENTAL

Históricamente, las temáticas de lo "ambiental" hicieron su ingreso al escenario de la Toxicología de manera menos que "tímida". La primera reunión internacional sobre ese tema en el marco de un enfoque global se llevó a cabo en Estocolmo, en 1972 (el mismo año en que se constituyó la Asociación Argentina de Ecología: una coincidencia anticipatoria de la nueva senda, que desde una modesta coexistencia inicial avanzó estructurándose, en un cuadro más complejo, de interacciones mutuamente enriquecedoras).

El conocimiento crecientemente detallado de las estructuras bióticas y abióticas de los ambientes y sus relaciones dinámicas, fue ampliándose con los aportes de la Ecología que contribuyeron al descubrimiento de nuevos vínculos inter e intraespecíficos, hasta entonces desconocidos o apenas sospechados, propios de sistemas complejos como son los naturales. No obstante, el lazo inicial entre ambas, Ecología y Toxicología,

no fue simétrico: la naciente Ecología era el componente débil frente a la "solidez" que exhibía la por entonces "añeja" Toxicología (Cairns, 1989).

Cabe destacar también que el encuentro ocurrió en un momento particular de la historia de la ciencia caracterizado por notables desarrollos tecnológicos que promovieron vínculos mutuamente enriquecedores, echando las bases de lo que pronto conformaría la Ecotoxicología (ver Depledge, 1993; Salibián, 1995).

Además, surgían nuevas perspectivas en los puntos de contacto adicionales con otras disciplinas, lo que confluía positivamente, brindando una mayor precisión y riqueza a las descripciones, marcando la senda para una comprensión profunda de los fenómenos bajo estudio; se acercaba el tiempo del conocimiento de la dinámica de las relaciones y de la co-evolución de sistemas biológicos (individuos, poblaciones, comunidades) afectados morfológica, funcional y comportamentalmente por los tóxicos (Killen y col., 2013), entreabriendo la puerta a la comprensión más profunda de las interacciones ambiente-organismo así como al análisis de las dinámicas de sus perturbaciones (Ribeyre, 1985), todo lo cual habría de proveer la posibilidad de predicciones de eventos intermedios (Genoni, 1997; Jorgensen, 1998; Ankley y col., 2010).

Si fuera necesario determinar la fecha de "nacimiento" de la Ecotoxicología (como una rama de la Toxicología) es probable que debamos citar el texto pionero de Truhaut (1977) quien acuñó ese término para identificar aquellos encuentros que eran cada vez más frecuentes y diversos, generando nuevas áreas pluriespecíficas; los tóxicos ya no se visualizarían limitados a sus efectos sobre los humanos, y se extenderían

a los componentes bióticos y abióticos de los ecosistemas: animales (incluidos los humanos), vegetales y bacterias, en un contexto integrado.

Truhaut advirtió, además, que algunos componentes normales de los ecosistemas naturales pueden devenir en contaminantes ambientales; el progreso científico posterior confirmó y documentó sobradamente esa observación.

Es justo reconocer la influencia previa de otros antecedentes que fueron significativos para el afianzamiento de esa "ecotoxicología temprana"; entre ellos no se puede obviar la mención al trabajo de Raquel Carson ("Primavera Silenciosa") que a mediados del Siglo pasado fue una temprana y precisa descripción y advertencia de las crisis ambientales asociadas al uso masivo e indiscriminado de pesticidas.

Actualmente, la Ecotoxicología es reconocida como una disciplina "sintética" (ver Ferrari, 2006) que está encaminándose hacia la categoría de ciencia "madura", cuyo objetivo es la organización e integración del conocimiento referido al destino y los variados efectos de los tóxicos en los ecosistemas (Moriarty, 1983; Newman, 1996; Newman y Clements, 2008).

Uno de los aspectos que recientemente ha concitado la atención de los ecotoxicólogos es el del "efecto infoquímico" que describe lo que ocurre cuando las sustancias antropogénicas (incluidos tóxicos) llegan a los medios provocando alteraciones en los delicados mecanismos de comunicación e información química intra e interespecífica (no las tróficas) de las especies y comunidades residentes, especialmente en los acuáticos (Klaschka, 2008; 2009); se dispone de registros recientes que muestran la existencia de efectos

comparables al mencionado, como consecuencia de cambios globales en la temperatura ambiente (Sentis y col., 2015).

El devenir de interrelaciones entre la Toxicología (a la que ahora, gracias a su sólido vínculo con la Ecología moderna, podríamos adosarle sin reservas lo de "ambiental") aportó una nueva visión de la estructura de los compartimentos ambientales, ratificando además la "sospecha" preexistente de la compleja red de factores de coordinación funcional que subyace en los ecosistemas (Moriarty, 1983) y de su sensibilidad a los factores físico-químicos de origen antropogénico (o natural).

Así, la Ecotoxicología fue desarrollándose y generando nuevos conceptos y métodos que enriquecieron el conocimiento de la dinámica ambiental de los tóxicos de diverso origen, en variados entornos y contextos, permitiendo la interpretación causal (y predicción) de las perturbaciones que se detectan en las propiedades de sus componentes abióticos y en el comportamiento registrado en los bióticos, resultantes de interacciones de complejidad creciente, generando los elementos relevantes para la evaluación de riesgo.

Es en el marco de aquella temprana definición de Truhaut que hoy podríamos ubicar a la Ecotoxicología, esto es, el desarrollo y la efectiva aplicación de herramientas y procedimientos conducentes a una acabada comprensión del destino y de los efectos de los tóxicos una vez que desde los compartimentos ambientales se incorporan a los de los organismos y, en una fase posterior, a los de ecosistemas. En relación a estos aspectos, es interesante el trabajo de Glaholt (2012) quien propuso un interesante protocolo (AID: *Adaptive Iterative Design*) para

el examen integrado de las interrelaciones de los estresores ambientales, mediante una metodología más simple.

Al detenernos en las interrelaciones tóxicos-organismos-ambiente que someramente describimos, hemos anticipado que nos enfrentamos a nuevos problemas que demandan soluciones; tal es el caso de los costos energéticos de los efectos de los tóxicos para los organismos afectados así como de sus implicancias ecológicas, desde los niveles de complejidad simples (individuos) hasta los más complejos como los poblacionales y comunitarios (Tomlinson y col., 2014). Y también ha de considerarse la comprensión de la capacidad de los organismos y ecosistemas para adaptarse y/o resistir perturbaciones extremas (Cairns y Niederlemer, 1989; Schaffer y col., 2015); en fecha reciente se han incorporado a la problemática ecotoxicológica estudios que versan sobre las consecuencias de los procesos de urbanización (ver Kominkowa, 2012; Pintos y Narodowski, 2012; Donihue y Lambert, 2014) y de los crecientes impactos asociados a los eventos del Cambio Climático Global.

De allí la opinión de quienes sostienen que el desarrollo de la Ecotoxicología abrió la puerta para extrapolar a la Ecología los conceptos de *stress* (Boonstra, 2013; van Straalen, 2003) y el de *riesgo* y su evaluación, como herramientas útiles en el análisis de todos los eventos de perturbación de las condiciones ambientales de balance y estabilidad.

■ ALGUNOS PROBLEMAS DE LA ECOTOXICOLOGÍA CUANTITATIVA

En el siglo XX los protocolos de monitoreo para la evaluación de los peligros y riesgos (estos últimos,

como un parámetro probabilístico) asociados al uso, dispersión y consecuente exposición a las sustancias químicas (*estresores*, antropogénicos o naturales) por parte de las especies habitantes en los compartimientos ambientales estuvieron orientados, mayormente, a los bioensayos de toxicidad de laboratorio. Ellos permitían generar expresiones cuantitativas que cubrían una extendida escala de intensidad de variados efectos adversos subletales, adoptados como “puntos finales” (comportamentales, metabólicos, reproductivos, etc.), aunque inicialmente sin aportes significativos referentes o contribuyentes al conocimiento de sus mecanismos de acción.

Esos protocolos exhibían algunas limitaciones: en los ensayos ecotoxicológicos acuáticos en particular los resultados se alcanzaban mediante modelos principalmente uniespecíficos, utilizando especies *test* diferentes de las típicas de la biota del sistema estudiado, bajo condiciones controladas, muy distantes de las reales; por ello, su utilidad era (y es) limitada, preliminar y orientativa; otro tanto puede afirmarse para los bioensayos multiespecíficos en sus diferentes modalidades, también con limitadas posibilidades de simular eventos naturales.

La diversidad de los resultados dificultaba (o no permitía) la posibilidad de su comparación con los alcanzados en otras especies *test* y, menos aún, a las condiciones de los ambientes mundo real, caracterizado por una cantidad de factores de complejidad, incertidumbre y variabilidad que, a su vez, obligaban a considerar supuestos o a incorporar en los cálculos factores de corrección más o menos arbitrarios, en intentos por estimar e integrar las incertezas inherentes al método utilizado (véase Monk, 1983; Jager y col., 2006; Péry y col., 2002);

cabe señalar que mediante estos protocolos puede ser muy difícil distinguir las múltiples perturbaciones ambientales antrópicas de baja intensidad de las fluctuaciones naturales, esto es, determinar la “normalidad ecotoxicológica” de un perfil ambiental (Depledge, 1990). Estos aspectos particulares de la Ecotoxicología se hallan actualmente bajo intenso debate (ver Ankley y col., 2010; Segner y col., 2014).

No obstante lo antedicho, es innegable que esas técnicas bioanalíticas, a pesar de sus limitaciones, jugaron un importante papel en el desarrollo temprano de algunas ramas de Ecotoxicología como la acuática, generando el interés de numerosos investigadores de nuestra región (ver Carriquiriborde y Dias Bainy, 2012; Geracitano y col., 2009; Salibián, 2009).

■ LAS PROFECÍAS DE PURCHASE

Es interesante que en el VIII Congreso de la International Union of Toxicology (IUTOX), celebrado en París en las postrimerías del siglo XX (1998), su Presidente el Dr. Ian F.H. Purchase, advertía en la conferencia inaugural, que en los años por venir los toxicólogos serían testigos de algunos eventos tales como: rápidos avances científicos, aumento en la demanda de evaluación de riesgo ambiental de la biotecnología, crecimiento de la preocupación pública por los riesgos asociados a las sustancias químicas y a las técnicas de ingeniería genética, y que la evaluación de riesgo ambiental y sanitario sería reclamada internacionalmente. Para el ámbito de la Toxicología en particular anticipaba que se esperaban transformaciones tecnológicas gracias a los avances en la Genómica y la Biología Molecular y que la interpretación mecanística de la toxicidad sería la norma.

Con el transcurso del tiempo desde entonces, hemos añadido a esa lista las consecuencias de los cambios en las técnicas de producción agrícola y -como anticipamos- de los fenómenos de urbanización que afectaron significativamente el perfil ecotoxicológico de los ecosistemas periféricos intervenidos, agrícolas y urbanos (Kominkova, 2012). En este marco, la atención de algunos ecotoxicólogos acuáticos se está orientando al estudio de entidades químicas genéricamente rotuladas como “contaminantes emergentes”, caracterizados por su enorme diversidad química así como por la variedad de sus impactos ambientales sobre la biota de cada ambiente (Brooks y col., 2012; Salibián, 2014), incorporadas a los medios por la actividad humana.

Confirmando algunos de los anticipos de Purchase, los métodos disponibles para evaluar los impactos de los tóxicos están ganando en precisión y predictibilidad gracias a los avances que aportan variados desarrollos tecnológicos que abrieron las puertas para diseñar e incorporar nuevas técnicas, de mayor capacidad, sensibilidad y precisión hasta niveles suborganísmico y subcelular, así como a nuevos conocimientos complementarios aportados desde numerosas relaciones transversales entre diferentes ramas de la ciencia básica (por ejemplo, evaluación de los efectos epigenéticos -o diferidos- de las diferentes categorías de tóxicos) (Groh y col., 2015).

Sin embargo, hemos de reconocer que a nivel de individuos carecemos aún de antecedentes suficientes y firmes que permitan entender cabalmente el modo en que los cambios adversos subletales que se registran en las variables celulares o tisulares pueden ser extrapolados a niveles de organización biológica mayores (por ejemplo, organismo o

población) (véase Celander y col., 2011). Resolver esta limitación de la Ecotoxicología no se presenta como tarea sencilla pero sí crítica para abordar evaluaciones de riesgos ambientales con mayor precisión.

■ LAS ÓMICAS Y LA ECOTOXICOGENÓMICA

Las ciencias bioquímicas y biológicas en particular, especialmente la primera, proveyeron las bases para un conocimiento más detallado de la naturaleza básica y la comprensión más acabada de los mecanismos subyacentes en los niveles primarios de organización que pueden ser blancos de tóxicos y contaminantes, sean éstos naturales o xenobióticos. Este avance se logró con los aportes de nuevas especialidades que adquirieron identidad definitiva en fechas recientes, genéricamente agrupados como *ómicas*, principalmente las involucradas en la transferencia subcelular de información; entre ellas destacamos la genómica, transcriptómica, proteómica, y metabolómica (Afshari y Hamadeh, 2000; García-Reyero y Perkins, 2011; García-Reyero y col., 2014; Simmons y col., 2015). Consideradas en conjunto, podemos afirmar que ellas están contribuyendo significativamente a una más acabada comprensión de los mecanismos de la toxicidad de los contaminantes y de las causas primeras de sus efectos adversos (Hahn, 2011).

En breve, la *genómica* se enfoca en los efectos de los tóxicos sobre el ADN nuclear de interés en los ensayos de *ecogenotoxicidad*; la *transcriptómica* describe y explica los impactos de los tóxicos en la síntesis y transporte de los ARNm; la *proteómica* apunta a los efectos de los proteotóxicos sobre la dinámica (abundancias relativas, cambios estructurales, interferencias e interacciones) de los eventos que ocurren

en el *pool* de proteínas subcelulares, especialmente las de detoxificación. La *metabolómica* completa el cuadro, con el balance complementario global de lo referente a las alteraciones metabólicas de las células, secundarias a su exposición a un tóxico, entre las cuales se destacan los cambios en la dinámica energética (celular o tisular) (véase Johnson y col., 2012; Kaddurah-Daouk y col., 2008).

En este punto no se puede obviar la mención a los avances registrados en la Bioquímica de los receptores nucleares de xenobióticos que monitorean selectivamente el medio intracelular y coordinan los cambios y respuestas compensatorias requeridas (por ejemplo, de la expresión génica) para abordar los efectos de la exposición a mezclas de xenobióticos (Omiecinski y col., 2011).

Las *ómicas* se han constituido en los soportes de una rama relativamente nueva de la Ecotoxicología, la *Ecotoxicogenómica* que propone transitar caminos alternativos a los frecuentados hasta ahora (como la Bioenergética, la Fisiología Bioquímica o la Toxicología Molecular). Se trata de describir ciertos nodos (genes, proteínas o metabolitos) y funciones biológicas clave, ordenados en redes de interacción que pueden ser impactados por estresores ambientales, habilitando elementos que se integran y reconocen como el fundamento de la *reverse-engineering*, esta última una técnica que incorpora métodos estadísticos para inferir redes de conectividad asociadas a efectos adversos expresados en complejos conjuntos de datos (Perkins y col., 2011).

Complementando a la Ecotoxicogenómica, están los aportes de la Bioinformática y la Biología Computacional (Afshari y col., 2011) con las cuales si bien la relación

todavía es distante, vislumbramos que contribuirán a mejorar significativamente la capacidad operativa de los ecotoxicólogos para acumular y ordenar, analizar, integrar, diagnosticar y organizar en forma racional conjuntos de datos experimentales, algunos disponibles con anterioridad (y posiblemente subutilizados), cada vez mayores y más complejos, facilitando sus posibles interpretaciones, mejorando su confiabilidad y reproductibilidad así como el diseño de *modelos predictivos* (Gozalbes y col., 2014) con los consiguientes ahorros de tiempo y recursos.

En el mismo contexto, se contará con el aporte de las simulaciones de modelos estructurados en base a datos seleccionados del mundo real: se trata de lo que se conoce como "experimentación *in silico*" (véase Raunio, 2011), que también permite predecir, con mayor precisión y rapidez, los efectos adversos de los tóxicos.

■ LA NANOECOTOXICOLOGÍA

Si bien se ha adelantado en la capacidad de caracterizar, entender y clasificar con más precisión los mecanismos bioquímicos subyacentes en la toxicidad de muchas entidades químicas, la realidad actual nos enfrenta con un desbalance cuantitativo originado en el incremento exponencial de la cantidad y variedad estructural de las sustancias que se detectan en los múltiples compartimientos ambientales, en la diversidad y simultaneidad de los impactos que se deben monitorear y en la insuficiente masa de datos disponibles referidos a sus riesgos ecotoxicológicos.

Tal es el caso, por ejemplo, del explosivo desarrollo de la *Nanotoxicología* (Kahru y Dubourguier, 2010), una nueva disciplina derivada de la *Nanotecnología*, que por

ahora se localiza en la intersección de la Ciencia de los Materiales, con aportes de la Física, la Química, la Biología, la Medicina y la Toxicología (en sus diversas vertientes), orientada al estudio de los impactos sanitarios adversos de los *nanomateriales*. Cuando consideramos a estos materiales en el marco ambiental, esto es, cuando los detectamos en los compartimentos ecosistémicos, incluido el aire, advertimos la necesidad de estar preparados para abordar nuevas problemáticas y técnicas analíticas que por ahora las ubicaremos en la carpeta de la *Nanoecotoxicología*, advirtiéndolo que por sus características, propiedades fisicoquímicas y cinéticas (ambientales y biológicas), pueden desencadenar efectos adversos y tóxicos que recién estamos entendiendo y aprendiendo cómo atenderlos; cabe mencionar que la presencia de nanomateriales en el ambiente puede ser una de las consecuencias de su utilización en tecnologías de remediación de ecosistemas alterados.

■ LO QUE VIENE

Entre sus anticipos, Purchase advirtió que no podremos obviar la presión social en torno a los temas de la contaminación ambiental y que ella sería creciente. Es esperable que los avances que la Ecotoxicología, con el aporte imprescindible de otras especialidades como las que mencionamos más arriba, permitirán a los funcionarios de gestión ambiental, legisladores y políticos, asumir sus responsabilidades y decisiones con mayor precisión y confiabilidad.

El escenario que asoma en este tiempo de transición, anticipa y advierte que aquél paradigma inicial de la evaluación de riesgo ambiental y sanitario debe ser revisitado y revisado incorporando el aporte de las nuevas herramientas y la información aportadas por las diversas y

nuevas disciplinas confluyentes en los objetivos de la Ecotoxicología. Es que estamos asistiendo al nacimiento de un nuevo paradigma innovador que apuntará, por lo menos, a replantear la información mecanística, integrando los datos que hemos generado y utilizado hasta ahora, con *datos alternativos*, como los efectos bioquímicos de toxicidad a nivel suborganísmico, respuestas *in vitro*, nuevos biomarcadores, o los mecanismos que pueden describir y aportar las diferentes *ómicas*. Por ejemplo: la activación de factores nucleares de transcripción puede estimular una coordinada síntesis de enzimas, *binding proteins*, y transportadores de membrana que detoxifican, secuestran y/o eliminan sustancias extrañas; otro tanto puede ocurrir cuando se trata de daños celulares que pueden ser reparados.

Sabemos ahora la importancia de los polimorfismos genéticos condicionantes de susceptibilidades diferenciales para tóxicos particulares (por ejemplo, los casos del Pb y el As) o, como contrapartida, la homología entre varias especies del aparato genético asociado a mecanismos críticos como la síntesis de esteroides.

Necesitaremos esforzarnos para entender, en pormenorizado detalle, cómo un estresor tóxico ambiental desencadena en el sistema ecológico afectado una secuencia de efectos adversos, interfiriendo en procesos celulares básicos y, en una fase posterior, cuál es el impacto amplificado de esas perturbaciones en los niveles de organización biótica mayores, cuáles son y cómo cuantificar con rigor las incertezas, cuáles son los mecanismos de *acomodación* como respuesta a un estresor externo que puede operar a diversos niveles (celular, organismo, población) con el posible resultado de restaurar un particular sistema al-

terado a su condición basal, aún a pesar de no interrumpirse el contacto con el tóxico (estos mecanismos son diferentes de los de *adaptación* que son considerados en un marco evolutivo (ver Nichols y col., 2011; Stapley y col., 2010).

Al respecto, cabe señalar que las evaluaciones ecotoxicológicas mediante bioensayos demandan conocer previamente los mecanismos de *homeostasis* y de *alostasis* en condiciones de normalidad los que, con frecuencia, pueden ser afectados por los tóxicos en sus fases estresoras iniciales. Los primeros hacen referencia a los precisos controles neurofisiológicos que regulan cualidades fisicoquímicas del medio interno del organismo *test* (por ej. osmolaridad o presión parcial de oxígeno) o la concentración de sustancias endógenas (por ej. glucosa); la *alostasis* (Schultner y col., 2013; De Nicola, 2015) se refiere a las alteraciones estabilizadoras que pueden ocurrir en los mecanismos regulatorios subcelulares como los cambios en la concentración de una molécula endógena (por ej. el de un ligando específico para una macromolécula receptora) o en el *set-point* de parámetros fisiológicos particulares (por ej. presión sanguínea, frecuencia cardíaca).

Entre los objetivos futuros de la Ecotoxicología incluiremos la necesidad de recurrir a nuevas herramientas y modelos simulados (que se añadirán o actualizarán a los preexistentes (como los QSAR, *quantitative structure-activity relationships*) que permitirán extrapolaciones confiables y anticipaciones predictivas. Se abrirá un nuevo Capítulo de la Ecotoxicología que integrará la información provista por los modelos farmacocinéticos y toxicocinéticos complementarios como los *biologically based dose-responses* (BBDR), *physiologically based toxicogenetics*

(PBTK) y *physiologically based pharmacokinetic modelling* (PBPK).

Todos ellos, a su vez, se robustecen cuando se los acopla a otras herramientas bioquímicas más recientes, como el secuenciamiento y los catálogos de ADN, o la precisa identificación de proteínas reguladoras clave de las fases dinámicas y las cinéticas de los tóxicos (Blauboer, 2003); en línea con esto, ya disponemos de elementos que están abriendo el paso a la *Ecotoxicología predictiva* (Helma y col., 2000; Villeneuve y García-Reyero, 2011).

■ FINALMENTE

Entendemos que los ecotoxicólogos debemos prepararnos para involucrarnos en la comprensión íntima, suborganísmica, de los mecanismos de acción de los tóxicos. Alcanzar este objetivo no será fácil, pero podrán venir en nuestro auxilio datos acumulados en el pasado, o los provistos por el comportamiento, debidamente contextualizados, de biomarcadores seleccionados, específicos, de exposición o efecto, así como de aquéllos modelos predictivos antes mencionados.

El escenario en el que nos tocará actuar exhibe actualmente una tendencia creciente a la complejización; uno de los factores críticos que contribuyen a esta realidad está estrechamente ligado al Cambio Climático Global (cuyos impactos ecotoxicológicos postergamos para otro texto futuro).

En suma, hemos de estar preparados para contribuir al estudio básico de la secuencia de eventos tóxicos a partir de las fases moleculares iniciales hasta la manifestación final del efecto adverso, procurando describir el mapa de un camino que es largo y, a veces, tortuoso, desde su inicio temprano hasta el final,

describiendo y procurando asociar todos los eventos intermedios que puedan ser registrados entre esos extremos.

Es oportuno añadir en este punto que no se trata solamente de interpretar cuali y cuantitativamente, toda la gama de las interferencias funcionales atribuibles a la toxicidad de una sustancia (natural o antropica) o de una mezcla de ellas; también será importante transitar el camino en dirección inversa, esto es, investigar los mecanismos subyacentes para la recuperación de las funciones que han sido afectadas, determinar los grados de reversibilidad de los efectos adversos, para la restauración de las condiciones originales o para descubrir mecanismos de adaptación que pueden habilitarse secundariamente a la exposición al tóxico o cuando la misma ha cesado.

Debe quedar claro que el estudio innovador de algunas de las problemáticas de la Ecotoxicología moderna demanda la multi- e interdisciplinariedad de sus enfoques, lo que acortará el camino para alcanzar las metas científicas que hemos analizado como contribuciones al desarrollo y vitalidad futura de la Ecotoxicología (científica y práctica). Será uno de los aportes sociales a los que hizo referencia el Dr. Purchase en París, seguramente con impactos en otros ámbitos tales como los referentes a las normas regulatorias ambientales y sanitarias. En otras palabras, se asoma ante nosotros la *Ecotoxicología Translacional*, un área que pretende cubrir los espacios de carencia que se pueden detectar entre la información generada en los laboratorios académicos y la demanda de otros sectores (salud pública, industrias) (ver Ossés de Eicker y col., 2010) o los organismos regulatorios ambientales.

■ BIBLIOGRAFÍA

- Afshari CA, Hamadeh H. (2000). Les promesses de la Toxicogénomique. *Biofutur* 2000: 40-43.
- Afshari CA, Hamadeh HK, Bushel PR. (2011). The evolution of Bioinformatics in Toxicology: Advancing toxicogenomics. *Toxicol Sci* 120 (S1): S225-S237.
- Ankley GT, Bennett RS, Erickson RJ, Hoff DJ, Hornung MW, Johnson RD *et al.* (2010). Adverse outcome pathways: a conceptual framework to support ecotoxicology research and risk assessment. *Environ Toxicol Chem* 29: 730-741.
- Blauboer BJ. (2003). The integration of data on physico-chemical properties, in vitro-derived toxicity data and physiologically based kinetic and dynamic as modeling a tool in hazard and risk assessment. A commentary. *Toxicol Lett* 138: 161-171.
- Boonstra R. (2013). Reality as the leading cause of stress: rethinking the impact of chronic stress in nature. *Funct Ecol* 27: 11-23.
- Brooks BW, Berninger JP, Kristofco LA, Ramirez AJ, Stanley JK, Valenti TW. (2012). Pharmaceuticals in the environment: Lessons learned for reducing uncertainties in environmental risk assessment. En: Hodgson E. (Editor), *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, Vol. 112, Academic Press, pp. 231-258.
- Cairns J (Jr). (1989). Where is the ecology in toxicology? *Curr Pract Environ Sci Eng* 4: 21-40.
- Cairns J (Jr), Niederlehner BR. (1989). Adaptation and resistance of ecosystems to stress: a

- major knowledge gap in understanding anthropogenic perturbations. *Speculations Sci Technol* 12: 23-30.
- Carriquiriborde P, Dias Bainy AC. (2012). Environmental Toxicology and Chemistry in Latin America. *Environ Toxicol Chem* 31: 931-934.
- Celander MC, Goldstone JV, Denslow ND, Iguchi T, Kille P, Meyerhoff RD, Smith BA, Hutchinson TH, Wheeler JR. (2011). Species extrapolation for the 21st century. *Environ Toxicol Chem* 30: 52-63.
- De Nicola AF. (2015). Mecanismos neuroendocrinos de respuesta durante el estrés y la carga alostática. *Ciencia e Investigación* 65: 17-26.
- Depledge MH. (1990). New approaches in Ecotoxicology: can inter-individual physiological variability be used as a tool to investigate pollution effects? *Ambio* 19: 251-252.
- Depledge MH. (1993). Ecotoxicology: a science or a management tool? *Ambio* 22: 51-52.
- Donihue CM, Lambert MR. (2014). Adaptive evolution in urban ecosystems. *Ambio* 44: 194-203.
- Ferrari L. (2006). Generalidades sobre Ecotoxicología. En: Mudry MD y Carballo MA. (Editoras), *Genética Toxicológica*. Editorial De los Cuatro Vientos, Buenos Aires, pp. 393-421.
- García-Reyero N, Perkins EJ. (2011). Systems Biology: leading the revolution in Ecotoxicology. *Environ Toxicol Chem* 30: 265-273.
- García-Reyero N, Tingaud-Sequeira A, Cao M, Zhu Z, Perkins EJ, Hu W. (2014). Endocrinology: Advances through omics and related technologies. *Gen Comp Endocrinol* 203: 262-273.
- Genoni GP. (1997). Towards a conceptual synthesis in Ecotoxicology. *Oikos* 80: 96-106.
- Geracitano LA, Soares Chaves I, Monserrat JM. (2009). Scientometric analysis of Latin American environmental studies. *Int J Environ Health* 3: 427-437.
- Glaholt SP, Chen CY, Demidenko E, Bugge DM, Folt CL, Shaw JR. (2012). Adaptive iterative design (AID): a novel approach for evaluating the interactive effects of multiple stressors on aquatic organisms. *Sci Total Environ* 432: 57-64.
- Gowdy J, Krall L. (2013). The ultrasonic origin of the Anthropocene. *Ecol Econ* 95: 135-147.
- Gozalbes R, de Julián-Ortiz JV, Fito-López C. (2014). Métodos computacionales en Toxicología predictiva: aplicación a la reducción de ensayos con animales en el contexto de la legislación comunitaria REACH. *Revista de Toxicología* 31: 157-167.
- Groh KJ, Carvalho RN, Chipman JK, Denslow ND, Halder M, Murphy CA *et al.* (2015). Development and application of the adverse outcome pathway framework for understanding and predicting chronic toxicity: I. Challenges and research needs in ecotoxicology. *Chemosphere* 120: 764-777.
- Hahn ME. (2011). Mechanistic research in aquatic toxicology: Perspectives and future directions. *Aquat Toxicol* 105: 67-71.
- Helma C, Kramer S, Pfahringer B, Gottmann E. (2000). Data quality in Predictive Toxicology: identification of chemical structures and calculation of chemical properties. *Environ Health Perspect* 108: 1029-1033.
- Jager T, Heugens EHW, Kooijman SALM. (2006). Making sense of ecotoxicological test results: Towards application of process-based models. *Ecotoxicology* 15: 305-314.
- Johnson CH, Patterson AD, Idle JR, González FJ. (2012). Xenobiotic metabolomics: major impact on the metabolome. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 52: 37-56.
- Jorgensen SE. (1998). Ecotoxicological research. Historical development and perspectives. En: Shürman G., Markert B. (Editors), *Ecotoxicology. Ecological fundamentals, chemical exposure and biological effects*. John Wiley & Sons, pp.3-15.
- Kaddurah-Daouk R, Kristal BS, Weinshilboum RM. (2008). Metabolomics: a global biochemical approach to drug response and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 48: 653-683.
- Kahru A, Dubourguier HC. (2010). From Ecotoxicology to Nanoecotoxicology. *Toxicology* 269: 105-119.
- Killen SS, Marras S, Metcalfe NB, McKenzie DJ, Domenici P. (2013). Environmental stressors alter relationships between physiology and behavior. *Trends Ecol Evol* 28: 651-658.
- Klaschka U. (2008). The Infochemical Effect. A new chapter in Ecotoxicology. *Environ Sci Pollut Res* 15: 448-458.

- Klaschka U. (2009). A new challenge-development of test systems for the infochemical effect. *Environ Sci Pollut Res* 16: 370-388.
- Komínková D. (2012). The urban stream syndrome. A mini-review. *Open Environ Biol Monitor J* 5 (Suppl 1: M2): 24-29.
- Monk DC. (1983). The uses and abuses of Ecotoxicology. *Mar Pollut Bull* 14: 284-288.
- Moriarty F. (1983). The study of pollutants in ecosystems. London: Academic Press.
- Newman MC. (1996). Ecotoxicology as a Science. En: Newman M.C., Jagoe C.H. (Eds), *Ecotoxicology. A hierarchical treatment*. Boca Raton: CRC-Lewis Publishers, pp. 1-9.
- Newman MC., Clements WH. (2008). *Ecotoxicology. A Comprehensive Treatment*. Boca Raton: CRC Press.
- Nichols JW, Breen N, Denver RJ *et al.* (2011). Predicting chemical impacts on vertebrate endocrine systems. *Environ Toxicol Chem* 30: 39-51.
- Omicinski CJ, van den Heuvel JP, Perdew GH, Peters JM. (2011). Xenobiotic metabolism, disposition, and regulation by receptors: from biochemical phenomenon to predictors of major toxicities. *Toxicol Sci* 120 (S1): S49-S75.
- Ossés de Eicker M, Hischer R, Hurri H, Zah R. (2010). Using non-local databases for the environmental assessment of industrial activities: the case of Latin America. *Environ Impact Assess Rev* 30: 145-157.
- Paoliello MMB, De Capitani EM. (2000). Saber y Ciencia: Los desafíos de la Toxicología. *Revista de Toxicología* 17: 55-60.
- Perkins EJ, Chipman JK, Edwards S, Habib T, Falciani F, Taylor R, Van Aggelen G. (2011). Reverse engineering adverse outcome pathways. *Environ Toxicol Chem* 30: 22-38.
- Péry ARR, Flammarion P, Vollat B, Bedaux B, Kooijman SALM, Garric J. (2002). Using a biology-based model (DEBTOX) to analyze bioassays in ecotoxicology: opportunities and recommendations. *Environ Toxicol Chem* 21: 459-465.
- Pintos P, Narodowski P. (Coordinadores) (2012). *La privatopía sacrílega. Efectos del urbanismo privado en humedales de la cuenca baja del río Luján*. Buenos Aires: Ediciones Imago Mundi.
- Raunio H. (2011). *In silico* toxicology-Non testing methods. *Front Pharmacol* 2: 1-8.
- Repetto Jiménez M, Repetto Kuhn G. (2009). *Toxicología Fundamental*. Ediciones Díaz de Santos, España.
- Ribeyre F. (1985). Problems and methodologies in Ecotoxicology: Biological models and experimental plans. *Ecotoxicol Environ Saf* 9: 346-363.
- Salibián A. (1995). *Toxicología y Medio Ambiente*. *Acta Toxicol Argent* 3: 27.
- Salibián A. (2009). Editorial. Special issue: Freshwater ecotoxicology in Southern Latin America. *Int J Environ Health* 3: 331-333.
- Salibián A. (2014). Los fármacos como contaminantes emergentes de los ambientes acuáticos. *Revista Farmacéutica-Reviews (Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica, Argentina)* 156: 76-92.
- Schäfer S, Buchmeier G, Claus E, Dueter L, Heining P, Körner A *et al.* (2015). Bioaccumulation in aquatic systems: methodological approaches, monitoring and assessment. *Environ Sci Eur* 27: 1-10.
- Schultner K, Kitaysky AS, Welcker J, Hatch S. (2013). Fat or lean: adjustment of endogenous energy stores to predictable and unpredictable changes in allostatic load. *Funct Ecol* 27: 45-35.
- Segner H, Schmitt-Jansen M, Sabater S. (2014) Assessing the impact of multiple stressors on aquatic biota: the receptors side matters. *Environ Sci Technol* 48: 7690-7696.
- Sentis A, Ramon-Portugal F, Brodeur J, Hemptinne J-L. (2015). The smell of change: warming affects species interactions mediated by chemical information. *Global Chang Biol*. DOI: 10.1111/gcb.12932.
- Simmons DBD, Benskin JP, Crosgrave JR, Duncker BP, Ekman DR, Martyniuk CJ, Sherry JP. (2015). Omics for aquatic ecotoxicology; Control of extraneous variability to enhance the analysis of environmental effects. *Environ Toxicol Chem*. DOI: 10.1002/etc.3002.
- Stapley J, Reger J, Feulner PG, Smadja C, Galindo J, Ekblom R, Benison C *et al.* (2010). Adaptation

- genomics: the next generation. *Trends Ecol Evol* 25: 705-712.
- Tomlinson S, Arnall SG, Munn A, Bradshaw SD, Maloney SK, Dixon KW, Didham RK. (2014). Applications and implications of ecological energetics. *Trends Ecol Evol* 29: 280-290.
- Truhaut R. (1977). Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. *Ecotoxicol Environ Saf* 1: 151-173.
- van Straalen NM. (2003). Ecotoxicology becomes Stress Ecology. *Environ Sci Technol* 37: 324-330.
- Villeneuve DL, Garcia-Reyero N. (2011). Predictive Ecotoxicology in the 21st Century. *Environ Toxicol Chem* 30: 1-8.

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

Revista CIENCIA E INVESTIGACION

Ciencia e Investigación, órgano de difusión de la Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias (AAPC), es una revista de divulgación científica y tecnológica destinada a educadores, estudiantes universitarios, profesionales y público en general. La temática abarcada por sus artículos es amplia y va desde temas básicos hasta bibliográficos: actividades desarrolladas por científicos y tecnólogos, entrevistas, historia de las ciencias, crónicas de actualidad, biografías, obituarios y comentarios bibliográficos. Desde el año 2009 la revista tiene difusión en versión on line (www.aargentinapciencias.org)

PRESENTACIÓN DEL MANUSCRITO

El artículo podrá presentarse vía correo electrónico, como documento adjunto, escrito con procesador de texto word (extensión «doc») en castellano, en hoja tamaño A4, a doble espacio, con márgenes de por lo menos 2,5 cm en cada lado, letra Time New Roman tamaño 12. Las páginas deben numerarse (arriba a la derecha) en forma corrida, incluyendo el texto, glosario, bibliografía y las leyendas de las figuras. Colocar las ilustraciones (figuras y tablas) al final en página sin numerar. Por tratarse de artículos de divulgación científica aconsejamos acompañar el trabajo con un glosario de los términos que puedan resultar desconocidos para los lectores no especialistas en el tema.

La primera página deberá contener: Título del trabajo, nombre de los autores, institución a la que pertenecen y lugar de trabajo, correo electrónico de uno solo de los autores (con asterisco en el nombre del autor a quién pertenece), al menos 3 palabras claves en castellano y su correspondiente traducción en inglés. La segunda página incluirá un resumen o referencia sobre el trabajo, en castellano y en inglés, con un máximo de 250 palabras para cada idioma. El texto del trabajo comenzará en la tercera página y finalizará con el posible glosario, la bibliografía y las leyendas de las figuras. La extensión de los artículos que traten temas básicos no excederá las 10.000 palabras, (incluyendo título, autores, resumen, glosario, bibliografía y leyendas). Otros artículos relacionados con actividades científicas, bibliografías, historia de la ciencia, crónicas o notas de actualidad, etc. no deberán excederse de 6.000 palabras.

El material gráfico se presentará como: a) figuras (dibujos e imágenes en formato JPG) y se numerarán correlativamente (Ej. Figura 1) y b) tablas numeradas en forma correlativa independiente de las figuras (Ej. Tabla 1). En el caso de las ilustraciones que no sean originales, éstas deberán citarse en la leyenda correspondiente (cita bibliográfica o de página web). En el texto del trabajo se indicará el lugar donde el autor ubica cada figura y cada tabla (poniendo en la parte media de un renglón Figura... o Tabla..., en negrita y tamaño de letra 14). Es importante que las figuras y cualquier tipo de ilustración sean de buena calidad. La lista de trabajos citados en el texto o lecturas recomendadas, deberá ordenarse alfabéticamente de acuerdo con el apellido del primer autor, seguido por las iniciales de los nombres, año de publicación entre paréntesis, título completo de la misma, título completo de la revista o libro donde fue publicado, volumen y página. Ej. Benin L.W., Hurste J.A., Eigenel P. (2008) The non Lineal Hypercycle. Nature 277, 108 – 115.

Se deberá acompañar con una carta dirigida al Director del Comité Editorial de la revista Ciencia e Investigación solicitando su posible publicación (conteniendo correo electrónico y teléfono) y remitirse a cualquiera de los siguientes miembros del Colegiado Directivo de la AAPC: abaladi@dna.uba.ar - nidiabasso@yahoo.com - miguelblesa@yahoo.es – xammar@argentina.com - sarce@cnea.gov.ar y con copia a secretaria@aargentinapciencias.org

Quienes recepcionen el trabajo acusarán recibo del mismo y lo elevarán al Comité Editorial. Todos los artículos serán arbitrados. Una vez aprobados para su publicación, la versión corregida (con las críticas y sugerencias de los árbitros) deberá ser nuevamente enviada por los autores.

El artículo 41 de la Constitución Nacional expresa:

Todos los habitantes gozan del derecho a un ambiente sano, equilibrado, apto para el desarrollo humano, y para que las actividades productivas satisfagan las necesidades presentes, sin comprometer las de las generaciones futuras.

Para ello, trabajamos en el Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental (3iA) en docencia, investigación y desarrollo tecnológico.

3iA



UNIVERSIDAD
NACIONAL DE
SAN MARTÍN



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN E INGENIERÍA AMBIENTAL
www.unsam.edu.ar