

SITUACIÓN AMBIENTAL POR AGROQUÍMICOS E HIDROCARBUROS EN EL ALTO VALLE DE RÍO NEGRO Y NEUQUÉN

Informe: LIBIQUIMA-CITAAC, Universidad Nacional del Comahue-CONICET, Agosto de 2016

La región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén produce el 80 y 90% respectivamente de las manzanas y peras de Argentina, a lo que se ha incorporado en los últimos años la producción de fruta fina, olivos, frutos secos la horticultura y las actividades agroindustriales asociadas en un área de 700 km². El plan Argentina Innovadora 2020 ha incorporado las demandas de estos núcleos socio-productivos, buscando **“un desarrollo regional crecientemente intensivo en tecnología, generador de bienestar social y capaz de mitigar el impacto que supone la concentración de empleo en las grandes ciudades”**. En nuestro caso particular, se busca también mitigar el impacto que generan las actividades hidrocarburíferas en franca expansión en Neuquén y Río Negro.

La producción y procesamiento de productos frutihortícolas requiere del desarrollo de conocimientos y tecnologías para el control de plagas y la adaptación a los requerimientos internacionales de trazabilidad, calidad e inocuidad. Para evitar pérdidas en la producción frutícola y obtener la sanidad y calidad de la fruta que consumimos, se utilizan diversas estrategias para combatir las plagas. Entre ellas, la aplicación de múltiples familias de plaguicidas durante un período que se extiende desde septiembre a febrero todos los años. Los más utilizados en la actualidad son los provenientes de las familias de los organofosforados (OF) carbamatos (CB), piretroides (PIR) y los neonicotinoides (NN). En el siglo pasado y hasta principios del siglo XXI también se utilizaron insecticidas organoclorados (OC) como el DDT y el endosulfán. Los monitoreos ambientales realizados por nuestro laboratorio indican la presencia de residuos de OF y OC en suelos y aguas subterráneas de zonas rurales de esta región a la que se suma la presencia de algunos hidrocarburos alifáticos (HA) y aromáticos (HPA).

Aspectos relacionados con la dinámica ambiental de contaminantes.

En nuestro laboratorio abordamos la temática relacionada a la contaminación ambiental por plaguicidas e hidrocarburos desde un enfoque multidisciplinario que incluye, además del monitoreo químico, el biomonitoreo, el uso de modelos, el estudio de interacciones plaguicida-suelo y la evaluación de riesgo. Varios estudios demostraron la presencia de una amplia variedad de residuos de plaguicidas en aguas subterráneas y superficiales, algunos con altas frecuencias de detección tanto de origen puntual como difuso (Loewy y col., 1999; Loewy y col., 2006; Tosi y col., 2009). Otras investigaciones que abarcaron el uso de indicadores ambientales para la evaluación de las prácticas agrícolas en una microcuenca de la región, demostraron además la migración fuera del sitio de aplicación de agroquímicos, detectando la presencia de residuos de plaguicidas en suelo, agua superficial y agua subterránea. Las mayores frecuencias de detección en agua (superficial y subterránea) fueron para metilazinfos y clorpirifos (>70%). En términos de concentración los mayores niveles encontrados fueron para metilazinfos (22,5 µg/L) y carbarilo (45,7 µg/L). En el suelo, aún antes del período de aplicación, se detectaron residuos acumulados de períodos anteriores, aumentando estas concentraciones durante la aplicación. Se pudo confirmar también que la deriva es una vía significativa de entrada de plaguicidas al agua superficial mientras que la percolación y los flujos preferenciales constituyen las principales vías de transporte que contribuyen a la contaminación sub-superficial (Loewy y col., 2011). En cuanto al biomonitoreo, se observó que la riqueza taxonómica de los macroinvertebrados es inherente

a cada sitio y que la abundancia relativa de especies decrece en relación a los valores de las unidades tóxicas calculadas en los sitios expuestos (Figura 1).

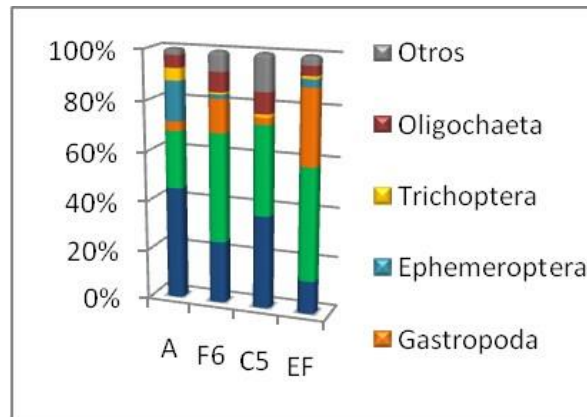


Figura 1: Distribución de macroinvertebrados en el sitio A (referencia) y sitios F6, C5 y EF (impactados por plaguicidas)

El transporte de los contaminantes estuvo relacionado con la materia orgánica del suelo y las correspondientes constantes de adsorción, que expusieron la capacidad de atenuación de la zona no saturada del suelo. Esto permite inferir que la presencia de plaguicidas no iónicos en aguas subterráneas poco profundas puede atribuirse, en gran parte, al flujo y transporte en macroporos. Consecuentemente, un modelo de simulación aplicado (MACRO 5.0) permitió demostrar la existencia de flujos preferenciales como mecanismo de lixiviación de plaguicidas al acuífero libre (Dufilho y col., 2012).

Monitoreos recientes evidenciaron que la frecuencia de detección de los plaguicidas fue variando a lo largo del periodo estudiado, disminuyendo para el OF metilazinfos y manteniéndose para clorpirifos en el orden del 30%. Esta tendencia es coherente con la prohibición de uso de metilazinfos en fruticultura a partir del año 2016. Los resultados de evaluación de riesgo para la microcuenca agrícola procesados con ARC GIS permitieron evidenciar la distribución de probabilidades de riesgo, aplicado para el OF clorpirifos en el organismo modelo *Daphnia magna*. Se observa un riesgo superior en las proximidades del canal colector del excedente de riego. Este resultado se explica en parte por el patrón de aplicación y también por la topografía del terreno. Los sitios ubicados aguas arriba, presentan una probabilidad de riesgo menor, mientras que en el sitio control la probabilidad de riesgo es menor que la del umbral más bajo (Figura 2).

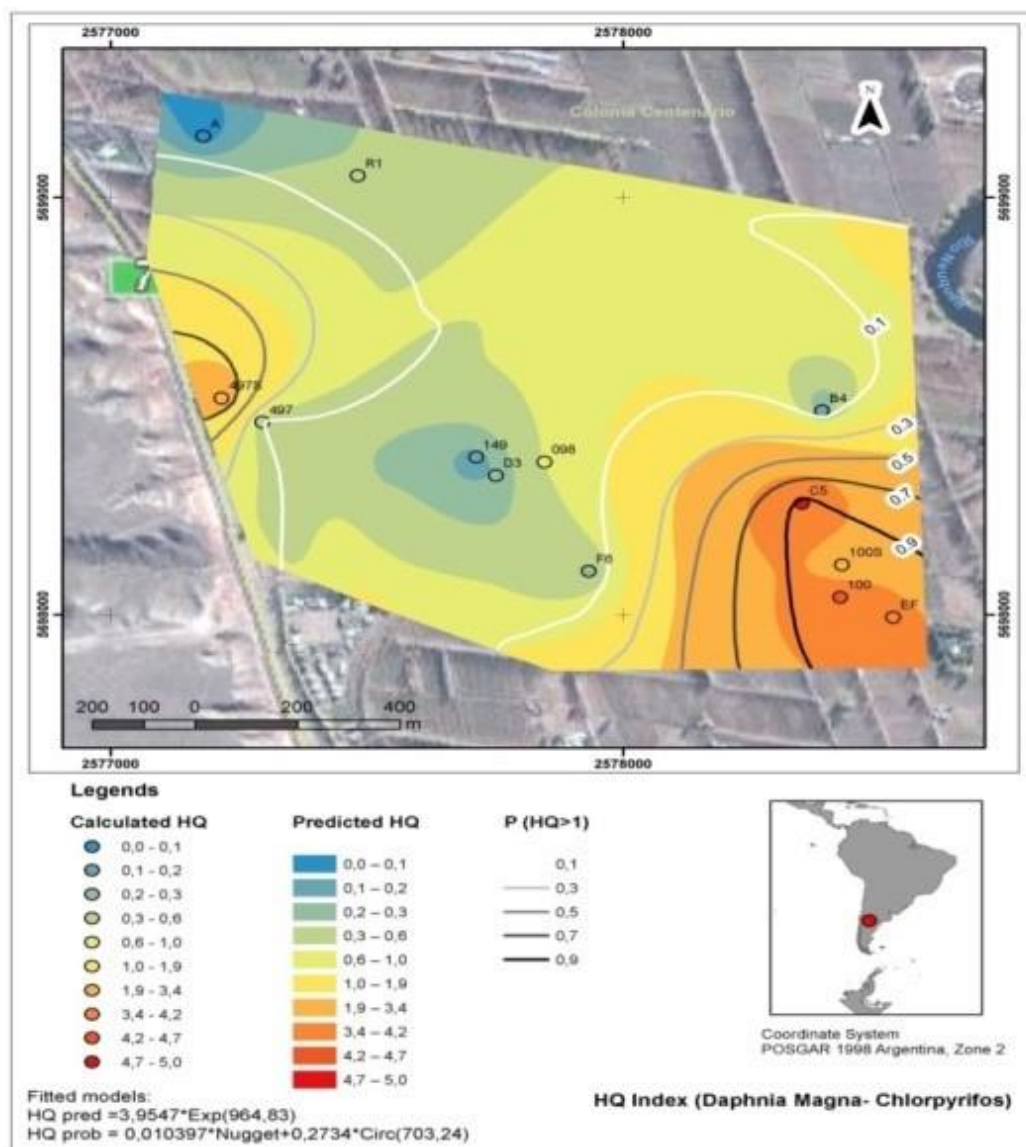


Figura 2: Distribución espacial del riesgo ecotoxicológico debido a clorpirifos en la microcuenca adyacente al Río Neuquén.

Aspectos relacionados con la ecotoxicidad de los contaminantes y calidad de aguas.

La Región Norpatagónica cuenta con un recurso hidrológico de altísima calidad, cuya preservación merece una atención especial. Los contaminantes presentes en el agua afectan de manera muy sensible a diversos organismos acuáticos. Antes de visualizarse las alteraciones a nivel poblacional y ecológico, se producen impactos en distintos blancos moleculares y bioquímicos de los organismos. Dado que la presencia de residuos suele no ser ni estable ni constante, sino que está sometida a factores periódicos o estacionales relativos a su descarga, movilización a través de aire-suelo-agua, velocidad de dilución, bioabsorción y/o degradación, es fundamental contar con otras herramientas complementarias al análisis químico de aguas para evaluar su riesgo.

Los biomarcadores, definidos como las respuestas bioquímicas, fisiológicas y/o moleculares producidas en los organismos expuestos a contaminantes, integran en una matriz spatiotemporal distintos episodios de exposición a uno o múltiples tóxicos (Figura 3). Los biomarcadores a nivel bioquímico y molecular son los de respuesta más sensible y temprana, mostrando en general un efecto a concentraciones muy por debajo de las que provocan alteraciones fisiológicas y letales. La posibilidad de contar con una batería de biomarcadores bioquímicos y moleculares, estudiados en organismos acuáticos de la región y cuya respuesta sea sensible y específica a los contaminantes producidos por las principales actividades económicas regionales, es una meta a lograr en la transferencia de nuestros resultados. Se espera de esta manera contribuir a preservar de manera temprana la calidad de las aguas y los ecosistemas en la Patagonia Norte.

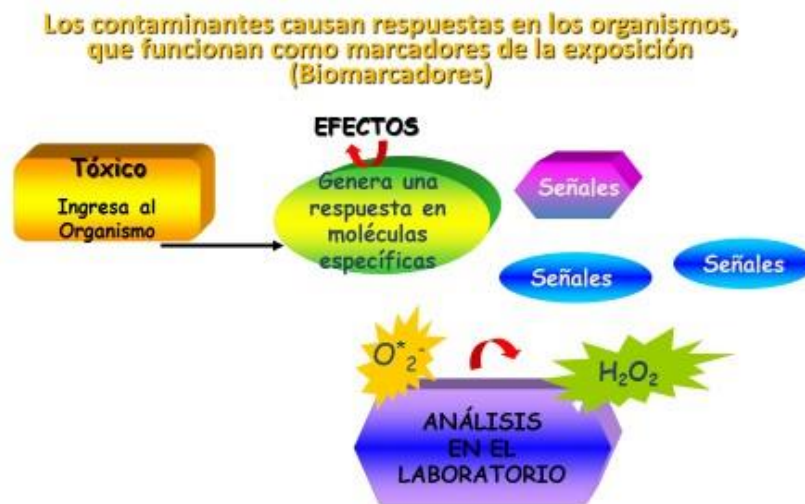


Figura 3: Diagrama ilustrativo de los mecanismos de respuesta a tóxicos sobre los biomarcadores.

La mayor carga de agroquímicos aplicados en las últimas décadas en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén ha sido para combatir la principal plaga de la agricultura: la carpocapsa (*Cydia pomonella*), estimándose en alrededor de 900 toneladas anuales los plaguicidas aplicados en la región desde el año 2000 (Anguiano y Pechen, 2007). El 70% de esa masa de agroquímicos correspondió únicamente al OF metilazinfos, seguido por el CB carbarilo y el OF clorpirifos. En la década pasada se redujo en un 40% el uso de OF gracias a la implementación del Programa Nacional de Supresión de Carpocapsa, que contemplaba un manejo integrado en Grandes Áreas basado en la técnica de confusión sexual con feromonas y la aplicación de otros plaguicidas alternativos de última generación (Villarreal y col., 2010). Actualmente, el metilazinfos se encuentra en proceso de prohibición de uso, siendo reemplazado por clorpirifos y nuevas moléculas como los Neonicotinoides.

Como mencionamos anteriormente, un 50% de los plaguicidas aplicados se dispersa en el ambiente sin llegar a los blancos pretendidos, dispersando una proporción muy alta en canales, lagunas y arroyos por deriva, esorrentía, lavado por lluvias y riego. Estos resultados indican la necesidad de conocer y controlar los niveles de residuos y el impacto sobre la biota, para lo cual el biomonitoreo mediante especies autóctonas resulta preferencial por su relevancia ecológica.

El principal modelo de estudio en el grupo ha sido desde sus comienzos el desarrollo embrionario del sapo común argentino *Rhinella arenarum*, habida cuenta de que numerosas especies de anfibios se encuentran en declinación y que los plaguicidas han sido asociados a este evento (Pechen de D' Angelo y Venturino, 2005). Los OF, entre ellos metilazinfos y clorpirifos, exhiben una marcada teratogenicidad en anfibios, que en particular fue descrita en la especie autóctona *R. arenarum* (Lascano y col., 2011; Sotomayor y col., 2012). Hemos encontrado respuestas en biomarcadores bioquímicos y moleculares en embriones y larvas de esta especie, no solamente a nivel de los blancos clásicos de esterases por exposición a OF, sino también de marcadores de estrés oxidativo, respuesta antioxidante y de marcadores moleculares relacionados a proliferación celular (activación de MAPK, inducción de factores de transcripción como Jun y Fos). Evaluando el impacto a campo de la exposición potencial a agroquímicos durante el periodo de aplicación, pudimos observar respuestas de biomarcadores bioquímicos de neurotoxicidad, detoxificación y estrés oxidativo (Rosenbaum y col 2012), sugiriendo episodios de exposición con una probable recuperación posterior.

Los crustáceos también fueron incluidos en nuestros estudios, por ser altamente sensibles a la exposición a plaguicidas y excelentes bioindicadores de la salud del ecosistema acuático. Se han identificado subpoblaciones de la especie autóctona *Hyalella curvispina* provenientes de canales de riego con distintos niveles de resistencia a plaguicidas cuando se los compara con los provenientes de áreas prístinas (Anguiano y col., 2008; 2014). Este incremento en la resistencia es demostrado por valores de CL50 1000 veces mayores para OF y CB en gamáridos que se encuentran en canales de riego, siendo una clara evidencia del impacto producido por el uso de agroquímicos en la región.

En nuestros estudios con peces autóctonos, o que habitan aguas superficiales de Patagonia Norte, hallamos una alta sensibilidad hacia OP expresada en valores de LC50 del orden de $\mu\text{g/L}$, contrastando con otros peces utilizados como especies modelo. Entre los peces de la región se encuentran aquellos de interés económico o deportivo, como la trucha arcoíris y el pejerrey patagónico (*Odontesthes hatcheri*), que es una especie autóctona de gran importancia. Resultados de nuestro laboratorio detallan los efectos negativos que posee en la supervivencia de la especie, los largos tiempos de recuperación post-exposición a OF de la enzima acetilcolinesterasa (Ferrari y col., 2004; 2007) que altera el comportamiento del pez. En estudios comparativos desarrollados con *O. hatcheri* y *J. multidentata* encontramos diferencias importantes en cuanto a mecanismos de toxicidad que estarían subyaciendo la mortalidad frente a OF, a través del análisis de la respuesta de distintos biomarcadores (Guerreño y col., 2016). En tal sentido, mientras que en *J. multidentata* estaría afectado el blanco clásico: las enzimas colinesterasas, en *O. hatcheri* serían más afectadas las enzimas antioxidantes. Realizando un análisis de riesgo sobre estas especies, encontramos que para el pejerrey patagónico hay una alta probabilidad de impacto en general en aguas del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, con un riesgo muy alto para canales colectores. En contraste, el riesgo de impacto por OF es menor para *J. multidentata*, aunque también merece atención desde el punto de vista ambiental. En adición a estas observaciones, el uso de biomarcadores para establecer las concentraciones de contaminantes que indican riesgo ambiental presenta mucha mayor sensibilidad que el uso de las concentraciones letales que representan además un efecto irreparable. Por ejemplo, el índice de impacto para *O. hatcheri* resulta 70 veces mayor si se utilizan biomarcadores en lugar de la CL50, o sea que el impacto a nivel metabólico-molecular es mucho más sensible como centinela.

Aplicamos un análisis probabilístico de riesgo en especies acuáticas autóctonas o residentes para metilazinfos como ejemplo del OF más empleado en el Alto Valle hasta el presente año. Las especies relevadas (Tabla 1) muestran una curva de probabilidad de riesgo de ser afectadas con un buen ajuste (Figura 4). Los resultados sugieren además una mayor sensibilidad a OF para la biota en el Alto Valle comparada con especies acuáticas en general (Tosi y col. 2009), siendo un 12% mayor la probabilidad de ser afectadas por concentraciones ambientales de OF. De acuerdo a los distintos valores indicadores de concentraciones ambientalmente relevantes (según nuestros propios registros) encontramos una tasa de impacto agudo que va desde un 20% a un 40% de especies potencialmente afectadas.

Especie	(Sub)Filo-Clase o Familia	CL50 (µg/L)
<i>H. curvispina</i> (Lago Barreales)	Crustacea-Malacostraca	0,43
<i>H. curvispina</i> (Canal Riego, sensible)	Crustacea-Malacostraca	0,77
<i>O. mykiss</i>	Peces-Salmonidae	7.00
<i>O. hatcheri</i>	Peces-Atherinopsidae	7,02
<i>J. multidentata</i>	Peces-Anablepidae	29,86
<i>H. curvispina</i> (Canal Riego, resistente)	Crustacea-Malacostraca	166,7
<i>B. glabrata</i>	Mollusca-Gastropoda	5000
<i>C. auratus</i>	Peces-Cyprinidae	7200
<i>R. arenarum</i>	Amphibia-Bufonidae	10440

Tabla 1: Toxicidad aguda para metilazinfos en diversas especies acuáticas halladas en la región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén.

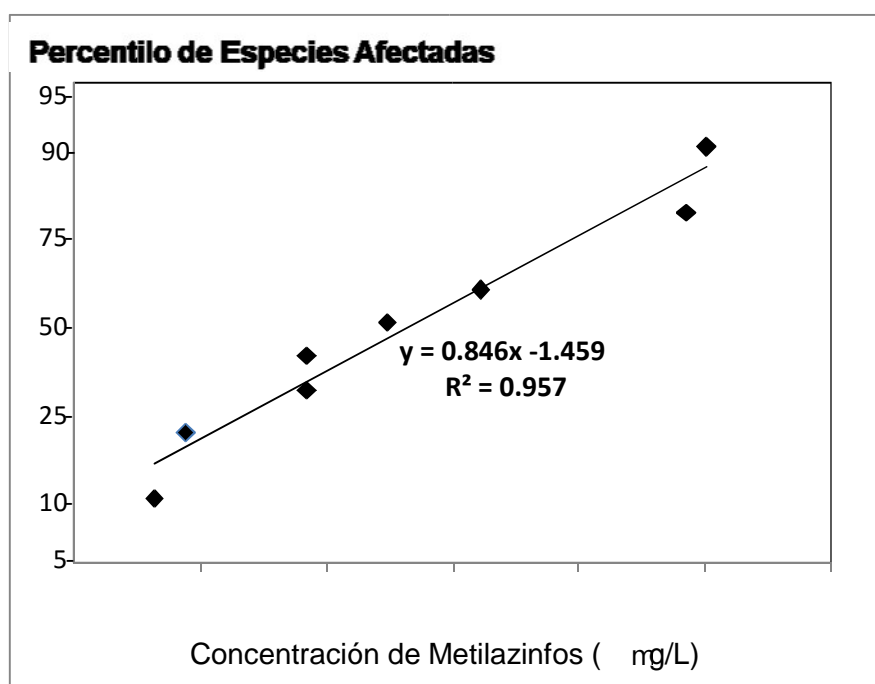


Figura 4: Análisis probabilístico de Riesgo para el OF metilazinfos sobre el porcentaje de especies acuáticas habitantes del Alto Valle de Río Negro y Neuquén.

Aspectos relacionados con la aparición de resistencia en plagas regionales.

La aparición de resistencia en las plagas regionales ha sido motivo permanente de preocupación de técnicos y productores. A lo largo del último siglo, cientos de especies de insectos han desarrollado resistencia a una o más medidas de control, impactando severamente en la economía de la producción de los cultivos. La mayoría de los casos de resistencia de insectos hasta la fecha involucra insecticidas químicos sintéticos, pero también se ha desarrollado resistencia a algunos agentes microbianos, tales como las formulaciones para rociado con toxina Bt. El objetivo del manejo de la resistencia es retrasar la evolución de la resistencia en las poblaciones de la plaga, lo cual solo puede lograrse con la detección temprana de los mecanismos que la gobiernan.

Hacia fines del año 2000, cuando los piretroides eran los más utilizados para el control de carpocapsa, Cichón y Fernández del INTA Alto Valle demostraron resistencia a esfenvalerato y λ -cialotrina en adultos de *C. pomonella*, colectados en diferentes montes frutales como se ilustra en la Figura 5. Para entonces, las mismas poblaciones muestreadas no presentaron diferencias de respuesta al OF metilazinfos respecto a la población susceptible de laboratorio. Sin embargo, en monitoreos posteriores realizados durante los años 2003-2005 en larvas diapausantes de la misma especie se determinaron porcentajes de mortalidad significativamente menores en algunas poblaciones sujetas a control químico con respecto a poblaciones bajo tratamiento orgánico y las susceptibles de laboratorio. Los porcentajes de mortalidad en dichas poblaciones mostraron una importante asociación con la actividad de esterasas (EST) y, en menor medida, con la actividad de glutatión S-transferasas (GST) (Soleño y col., 2008). El mayor grado de resistencia (GR) determinado a nivel de la CL50 (CL50 población de campo/CL50 población de laboratorio) fue de 11. El 70% de las poblaciones mostraron GR superiores a 2, indicando que la resistencia a metilazinfos se encuentra establecida en esta especie. La mayoría de las poblaciones procedentes de chacras bajo control de insecticidas convencionales mostraron actividades significativamente mayores de EST y GST que las determinadas en las poblaciones de referencia y susceptible de laboratorio.



Figura 5: Colección a campo de larvas de carpocapsa.

Se evaluó con posterioridad la toxicidad a acetamiprid y tiacloprid, observándose que todas las poblaciones de campo presentaban porcentajes de mortalidad significativamente menores que la cepa susceptible (Cichón y col., 2013), con actividades de EST y oxidasas de función mixta significativamente mayores que la población de laboratorio y la de tratamiento orgánico (Soleño y col., 2008; 2012). La respuesta de las poblaciones estuvo relacionada con la historia de aplicación de insecticidas en los montes frutales, tanto en el tipo de tratamiento (orgánicas vs. convencionales) como con la localización de los mismos (aislamiento geográfico, etc.). Recientemente observamos un aumento en la actividad de carboxilesterasas luego de la exposición a bajas dosis de clorpirifos tanto en la población susceptible de laboratorio como la población de campo.

Por otra parte, una nueva consideración en el modelo en estudio señala que el estadio fisiológico de la población de insectos puede no ser uniforme al momento de su control. La capacidad de detoxificación puede variar en los diferentes estadios de la especie. Por lo tanto, una proporción de la plaga que resulta estresada por el insecticida puede ser capaz de sobrevivir. En los insectos sobrevivientes pero igualmente estresados por la presión del insecticida, se pueden presentar aumentos en la tasa de mutaciones y en la actividad del sistema detoxificante, fenómenos estos vinculados fuertemente al desarrollo de resistencia. La forma en que la plaga responde se vincula con la zona de estudio, habiéndose reportado cambios en la actividad, tanto disminuciones como inducciones, de una misma enzima y mutaciones en los blancos de acción en diversas regiones del mundo. Actualmente, en el laboratorio se está poniendo énfasis en el estudio de patrones de expresión de genes de enzimas metabólicas como citocromo P450, esterases y glutatión-S-transferasas dado que se han reportado trabajos, que les asignan un rol importante en los procesos de detoxificación de insecticidas. Asimismo hemos incluido su modulación por mecanismos epigenéticos los cuales generan cambios químicos o estructurales en el ADN transmisibles a la progeñe y representan nuevos desafíos a dilucidar.

Las investigaciones descritas nos han permitido ahondar en los mecanismos de resistencia de la principal plaga regional, con el objeto de ajustar o corregir los mecanismos de control de la misma y lograr fruta de calidad e inocua, minimizando el uso de agroquímicos de acuerdo a lo que requieren los mercados internacionales.

Aspectos relacionados con efectos sobre la salud de la población humana expuesta.

La preocupación por la calidad del ambiente que habitan los productores, especialmente en una región donde la producción familiar está muy difundida y donde las familias viven en las áreas rurales, ha motivado la profundización de nuestros estudios sobre el efecto de plaguicidas en habitantes de la zona y especialmente en etapas sensibles del desarrollo como es el embarazo y crecimiento fetal.

Las poblaciones rurales estudiadas se encuentran en un área donde se detectaron residuos de organofosforados en suelos, en aguas destinadas al consumo humano (Santagni 2006) y en aguas superficial y subterránea poco profunda (Loewy y col 2011). Los factores climáticos son también determinantes en la exposición ambiental por plaguicidas ya que el periodo de aplicación de los mismos coincide con la temporada de fuertes vientos y la existencia de conductas de riesgo socio-ambientales, que hemos observado en la población (Rovedatti y col 2006), que contribuyen a magnificar el problema.

Las poblaciones del Alto Valle incluidas en los monitoreos pertenecen a General Roca, Cinco Saltos, Centenario, Allen, El Chañar, Cipolletti y Neuquen. El análisis de indicadores de exposición a plaguicidas anticolinesterasicos (principalmente organofosforados y carbamatos) practicado, durante los meses de Septiembre a Diciembre, demostró en las mujeres embarazadas una inhibición de la acetil y butirilcolinesterasas sanguínea y en los niños en edad pre-escolar una inhibición de la carboxilesterasa salival en el periodo de aplicación intensiva de estos insecticidas (Souza y col 205, Bulgaroni y col 2012, Cecchi y col 2012, Vera y col 2012, Chiapella y col 2013, Rivero-Osimani y col 2016).

El impacto en el biomarcador de exposición no fue el único hallazgo, también se detectó cambios en los niveles de cortisol (Cecchi 2012) y disminución de los niveles de progesterona en la placenta del embarazo a término (Rivero-Osimani 2016). Lo que confirmaría una posible disrupción endocrina.

Los agroquímicos más utilizados en esta región poseen ciertas características químicas, como su grado de liposolubilidad, que favorecen su adsorción desde el ambiente hacia el interior del cuerpo. Tal es así que una vez que los plaguicidas han alcanzado la sangre materna, los residuos tienen una alta probabilidad de llegar a la placenta y desde allí al feto. Hecho que hemos demostrado con la afectación de la actividad de la colinesterasa placentaria.

El funcionamiento apropiado de la placenta es un pre-requisito para un embarazo saludable; las sustancias que interfieran con las funciones de este órgano podrían representar un riesgo para la madre y el feto (Figura 6). Un embarazo exitoso requiere de una adecuada cooperación entre los compartimentos materno, placentario y fetal. Una placenta bien desarrollada con una óptima interacción materno-fetal asegura la llegada de nutrientes al feto, la remoción de productos de deshecho y la producción de hormonas esenciales para el mantenimiento del embarazo, la mantención de un ambiente inmunológico benéfico para el desarrollo fetal. Recientemente en el CITAAC se demostró que la placenta de las mujeres expuestas muestran cambios en la expresión de componentes inmunes, como las citoquinas, la actividad de enzimas que participan de la reparación de tejidos (Bulgaroni y col. 2013), cambios en la composición de las membranas (Vera y col. 2012), así como en los niveles de progesterona en la placenta (Rivero-Osimani y col. 2016). La disminución en los niveles de progesterona, a su vez, se correlaciona con un menor peso en los neonatos provenientes de población rural, aunque los parámetros fetales se mantienen en el rango normal (Rivero-Osimani y col. 2016).

Debido a la complejidad y diversidad de las funciones desarrolladas por la placenta, se ha propuesto a este órgano como herramienta para biomonitorear, investigar y predecir aspectos de la toxicidad durante el desarrollo (Myllynen y col. 2005). Nuestros resultados abalan la utilización de la placenta como un órgano modelo para estudiar la exposición a xenobióticos y sus efectos sobre el desarrollo fetal.

Una de las dificultades que se enfrenta al realizar estudios que involucran exposición en humanos, es la dificultad para lograr asociaciones entre la exposición y sus efectos, sobre todo cuando se trata de exposiciones a contaminantes que se encuentran a bajos niveles en el ambiente. Una excelente herramienta que permite indagar sobre posibles efectos a bajas concentraciones, son los modelos de exposición *in vitro* de líneas celulares humanas. Estos

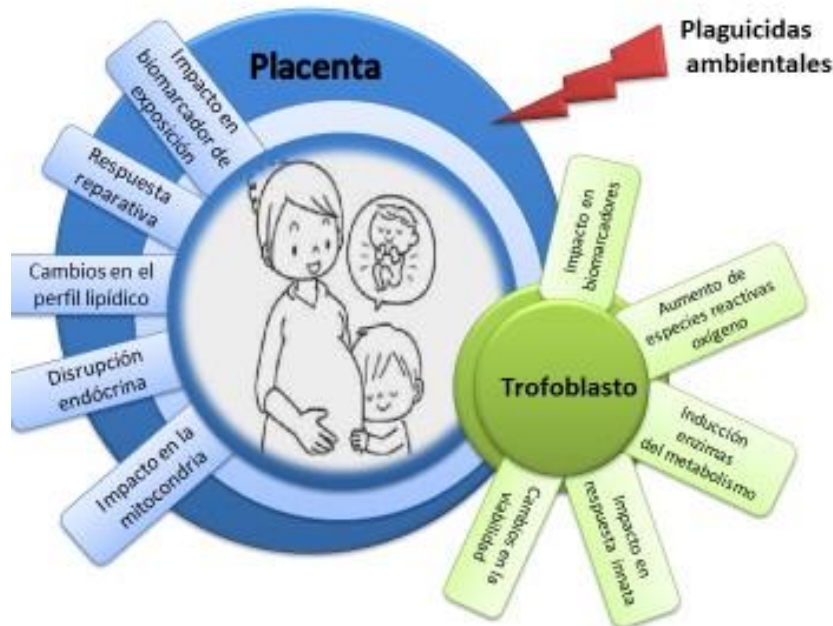


Figura 6: Diagrama de la exposición ambiental a plaguicidas y efectos potenciales durante el embarazo.

modelos brindan un escenario controlado de exposición, que complementan el estudio de la exposición ambiental de poblaciones. En nuestro laboratorio se caracterizaron los efectos de distintos principios activos de la familia de los organofosforados, como clorpirifos, fosmet y metilazinfos, demostrando que los mismos son citotóxicos para trofoblastos JEG-3 y que uno de los mecanismos de muerte celular que inducen es la apoptosis (Guiñazú y col. 2012). En este modelo de exposición se observó incremento en los niveles de especies reactivas de oxígeno las cuales podrían estar involucradas en la disminución de la viabilidad celular (Chiapella y col. 2013).

Múltiples funciones son afectadas por los OF a nivel celular en los trofoblastos JEG-3, la expresión de citoquinas (Guiñazú y col. 2012), la actividad de enzimas (Espinoza y col. 2016), la función mitocondrial y la expresión de enzimas metabólicas P450.

En conjunto, el estudio poblacional y el modelo in vitro, indican que los plaguicidas OF afectan diversas funciones de la placenta y su célula específica el trofoblasto.

Aspectos ambientales emergentes en la región en relación a la explotación hidrocarburífera y materias pendientes de avance.

Si bien la explotación hidrocarburífera y gasífera de las provincias de Río Negro y Neuquén es de larga data, ha sido notorio en años más recientes el avance que la misma ha tenido en superposición con el valle irrigado e incluso con áreas periurbanas. Esta situación ha sido explosiva a partir del establecimiento de las explotaciones no convencionales de grandes reservas como Vaca Muerta. Para evaluar el posible impacto sobre los cursos de agua regionales, debido a la presencia de hidrocarburos alifáticos (AH) y poliaromáticos (PAH), se llevó a cabo en

el período 2007-2008 un estudio que abarcó la cuenca del Río Neuquén (aprox. 400 km) y la ribera urbana del Río Limay (20 km) hasta la zona de la Confluencia. Los valores hallados en los sedimentos de ambos ríos para AH totales variaron entre 0,41 y 125 µg/g de peso seco (Monza y col., 2013). La aplicación de índices diagnósticos denotaron la presencia de hidrocarburos biogénicos en gran parte de la cuenca (n=40) con un bajo aporte de hidrocarburos petrogénicos. En la mayoría de las estaciones los niveles de hidrocarburos totales fueron inferiores al umbral de contaminación que fija la UNEP (1992) (10 µg/g). Sin embargo la zona más urbanizada, en cercanías de la confluencia de ambos ríos que dan origen al Río Negro, se observó un aumento de los niveles totales y la presencia de PAHs en sedimentos, naftaleno (40 ng/g) y pireno (50 ng/g). Este hallazgo y, su correlación con el aumento de contenido de materia orgánica en el sedimento, es indicativo de la presión antrópica que se ejerce sobre el recurso. Este estudio fijó los niveles de base para el río Neuquén, los cuales pueden ser usados para evaluar futuros vertidos.

En el período 2014-2016 se realizó una nueva evaluación de la baja cuenca del Río Neuquén, en concordancia con el incremento de la actividad hidrocarburífera en ese sector debido a la explotación de petróleo y gas no convencionales. Las nuevas tecnologías utilizan grandes volúmenes de agua que es captada del río y están provocando un aumento demográfico en la región, producto de los servicios que requiere la industria. Se analizaron 23 sitios en el río y en los embalses del complejo Cerros Colorados (Lagos Mari Menuco y Los Barreales). Los resultados muestran presencia de AH biogénicos en bajas concentraciones (ND-51,44 µg/g) y ausencia de PAHs en todos los sitios. Se ha podido constatar que los niveles de base encontrados en el estudio anterior (2007-2008) no han sufrido variaciones. Nuevamente, la zona que muestra mayor impacto corresponde a la Confluencia, donde se asientan las ciudades más pobladas de la región (400.000 habitantes).

Estudios de base realizados con crustáceos (gamáridos) nos han permitido constatar que en cursos urbanos como el Arroyo Durán en la ciudad de Neuquén se encuentran individuos de la especie *Hyalella curvispina* con una muy alta resistencia a la exposición a componentes hidrosolubles del petróleo, cuando se los compara con individuos provenientes del Lago Barreales. Esta situación demuestra que ya se ha establecido un grado importante de adaptación en algunas especies, considerando que entre los contaminantes hallados previamente en este sitio se encuentran PAH. En base al hallazgo de estos organismos resistentes y el estudio de los factores relacionados a esta adaptación a nivel molecular, estamos estudiando potenciales biomarcadores representativos de contaminación o calidad de aguas en diferentes sitios.

Por último queremos señalar que el avance de las explotaciones hidrocarburíferas sobre áreas de producción frutícola ha planteado grandes controversias en nuestra región. No se han realizado a la fecha estudios que fehacientemente determinen si hay un impacto debido a contaminación química generada por la explotación hidrocarburífera, sobre la producción

frutícola coexistente en zonas del Alto Valle de Río Negro y Neuquén. Sin embargo, ya sea por una cuestión preventiva o presuntiva, se han presentado restricciones a algunos de nuestros productos frutícolas en mercados internacionales. Es importante remarcar la necesidad de continuar la evaluación de residuos de hidrocarburos y de plaguicidas en los ríos del Alto Valle, dado que todas las actividades que se realizan en la región (frutícola, industrial y suministro de agua potable) dependen de este valioso recurso. Los resultados sobre la calidad química de los sectores estudiados hasta la fecha respecto de estos contaminantes es buena en general, pero no puede descartarse que ocurran eventos aleatorios, tormentas convectivas, accidentes mecánicos que produzcan derrames y modifiquen esta situación. Actualmente estamos llevando a cabo un monitoreo más amplio que abarca 120 km del curso inferior del río Neuquén atravesando los sectores productivos y la zona más densamente poblada de la Confluencia. A lo largo de esta área de muestreo se encuentran sectores eminentemente frutícolas, otros exclusivamente de explotación hidrocarburífera y áreas mixtas.

CONCLUSIONES

El conocimiento de la dinámica ambiental de los principales contaminantes distribuidos en la región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, sumados al conocimiento de los mecanismos comunes de toxicidad de los plaguicidas actualmente en uso y que afectan a organismos blanco y no blanco incluido el ser humano, nos permite inferir que ya existe un importante impacto en la Salud Ambiental. A partir de estas premisas, es imperativo el desarrollo de un mejor y más eficaz manejo integrado del monte frutal, para minimizar y probablemente remediar los efectos deletéreos que viene provocando el uso sostenido de agroquímicos en la región. Esto requiere una intervención proactiva en las políticas productivas, ambientales y sanitarias destinadas a fomentar el buen uso de plaguicidas, redefinir prácticas agrícolas ambientalmente sustentables, disminuir el riesgo de exposición humana y satisfacer la demanda creciente de certificaciones ambientales en el comercio internacional. La elaboración de medidas preventivas y/o paliativas constituye un desafío para la comunidad científica y la sociedad toda.

REFERENCIAS

- Anguiano OL, Castro C, Venturino A, Ferrari A. 2014. Acute toxicity and biochemical effects of azinphos methyl in the amphipod *Hyalella curvispina*. *Environ Toxicol* 29: 1043–1053. doi:10.1002/tox.21834
- Anguiano OL, Ferrari A, Soleño J, Martínez MC, Venturino A, Pechen de D'Angelo AM, Montagna CM. 2008. Enhanced esterase activity and resistance to azinphosmethyl in target and nontarget organisms. *Environ Toxicol Chem* 27:2117–2123.
- Anguiano OL, Pechen de D'Angelo. 2007. Provincia de Río Negro y Provincia de Neuquén. In: Ministerio de Salud, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, eds, *La problemática de los agroquímicos y sus envases, la incidencia en la salud de los trabajadores, la población expuesta y el ambiente*, 1st ed. Ministerio de Salud de la Nación, OPS: AAMMA, Buenos Aires, Argentina, pp 181–201.
- Bulgaroni V, Lombardo P, Rivero-Osimani V, Vera B, Dulgerian L, Cerbán F, Rivero V, Magnarelli G, Guiñazú N. 2013. Environmental pesticide exposure modulates cytokines, arginase and ornithine decarboxylase expression in human placenta. *Reprod Toxicol* 39:23-32.

- Bulgaroni V., Rovedatti M.G., Sabino G., Magnarelli G.G. 2012 Organophosphate pesticide environmental exposure: analysis of salivary cholinesterase and carboxylesterase activities in preschool children and their mothers. *Environ. Monit. Assess* 184: 3307-3314.
- Cecchi A, Rovedatti MG, Sabino G, Magnarelli GG. 2012. Environmental exposure to organophosphate pesticides: assessment of endocrine disruption and hepatotoxicity in pregnant women. *Ecotoxicol Environ Saf* 80:280-287
- Cichón LB, Soleño J, Anguiano OL, Garrido SA, Montagna CM. 2013. Evaluation of cytochrome P450 activity in field populations of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) resistant to azinphosmethyl, acetamiprid, and thiacloprid. *J Econ Entomol* 106:939-.
- Chiapella G, Flores-Martín J, Ridano ME, Reyna L, Magnarelli de Potas G, Panzetta-Dutari GM, Genti-Raimondi S. 2013 The organophosphate chlorpyrifos disturbs redox balance and triggers antioxidant defense mechanisms in JEG-3 cells. *Placenta*. 4:792-8.
- Chiapella G, Genti-Raimondi S, Magnarelli G. 2014 Placental oxidative status in rural residents environmentally exposed to organophosphates. *Environ Toxicol Pharmacol.* ;38(1):220-9.
- Duñillo AC, Monza LB, Loewy RM. 2012. Simulación de la influencia de prácticas agrícolas en la lixiviación de plaguicidas al acuífero libre del Río Neuquén-Patagonia Argentina. *Actas del XI Congreso Latinoamericano de Hidrogeología*. Cartagena de Indias, Colombia.
- Espinoza M, Rivero Osimani V, Sánchez V, Rosenbaum E, Guiñazú N. 2016 B-esterase determination and organophosphate insecticide inhibitory effects in JEG-3 trophoblasts. *Toxicol In Vitro*. 32:190-7.
- Ferrari A, Anguiano OL, Soleño J, Venturino A, Pechen de D'Angelo AM. 2004. Different susceptibility of two aquatic vertebrates (*Oncorhynchus mykiss* and *Bufo arenarum*) to azinphos methyl and carbaryl. *Comp Biochem Physiol C* 139:239-243.
- Ferrari A, Venturino A, Pechen de D'Angelo AM. 2007. Muscular and brain cholinesterase sensitivities to azinphos methyl and carbaryl in the juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Comp Biochem Physiol C* 146:308–313.
- Guerreño M, López Armengol MF, Luquet CM, Venturino A. 2016. Comparative study of toxicity and biochemical responses induced by sublethal levels of the pesticide azinphosmethyl in two fish species from North-Patagonia, Argentina. *Aquat Toxicol* 177:365-372. ISSN: 0166445X. DOI: 10.1016/j.aquatox.2016.06.015.
- Guiñazú N, Rena V, Genti-Raimondi S, Rivero V, Magnarelli G. 2012 Effects of the organophosphate insecticides phosmet and chlorpyrifos on trophoblast JEG-3 cell death, proliferation and inflammatory molecule production. *Toxicol In Vitro*. 26:406-13.
- Lascano C, Ferrari A, Venturino A. 2011. Sublethal concentrations of azinphos-methyl induce biochemical and morphological alterations in *Rhinella arenarum* embryos. *Chem Ecol*. 27: 557-568. ISSN: 0275-7540
- Loewy RM, Carvajal LG, Novelli M, Pechen de D'Angelo AM. 2006. Azinphos methyl residues in shallow ground waters from the fruit production region of Northern Patagonia, Argentina. *J Environ Sci Health B* 41:869-881. ISSN 0360-1234.
- Loewy RM, Kirs V, Carvajal G, Venturino A, D'Angelo AMP. 1999. Groundwater contamination by azinphos methyl in the Northern Patagonic Region (Argentina). *Sci Total Environ* 225:211-218. ISSN: 0048-9697.
- Loewy RM, Monza LB, Kirs VE, Savini MC. 2001. Pesticide distribution in an agricultural environment in Argentina. *J Environ Sci Health B* 46: 1–9. ISSN: 0360-1234.
- Monza LB, Loewy RM, Savini MC, Pechen de D'Angelo AM. 2013. Sources and distribution of aliphatic and polyaromatic hydrocarbons in sediments from the Neuquén River, Argentine Patagonia. *J Environ Sci Health A* 48:370-379. ISSN: 1093-4529.

- Pechen de D'Angelo AM, Venturino A. 2005. Biochemical targets of xenobiotics: Biomarkers in amphibian ecotoxicology. *Appl Herpetol* 2:335–353.
- Rivero-Osimani VL, Valdez SR, Guiñazú N, Magnarelli G. 2016. Alteration of syncytiotrophoblast mitochondria function and endothelial nitric oxide synthase expression in the placenta of rural residents. *Reprod Toxicol* 61:47-57.
- Rosenbaum EA, Duboscq L, Soleño J, Montagna C M, Ferrari A, Venturino A. 2012. Response of biomarkers in amphibian larvae to in situ exposures in a fruit-producing region in North Patagonia, Argentina. *Environ Toxicol Chem* 31:2311–2317. doi: 10.1002/etc.1950
- Sánchez G y Guiñazú N. 2015. Estudio de la inducción de la transcripción de enzimas metabolizantes citocromo P450 por qPCR en células JEG-3 por la exposición a clorpirifos. Resumen LX Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica.
- Soleño J, Anguiano OL, Cichón LB, Garrido SA, Montagna CM. 2012. Geographic variability in response to azinphos-methyl in field-collected populations of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) from Argentina. *Pest Manag Sci* 68:1451-1457.
- Soleño J, Anguiano L, Pechen de D'Angelo AP, Cichón L, Fernández D, Montagna C. 2008. Toxicological and biochemical response to azinphos-methyl in *Cydia pomonella* L.(Lepidoptera: Tortricidae) among orchards from the Argentinian Patagonia. *Pest Manag Sci* 64:964-70.
- Sotomayor V, Lascano C, Pechen de D'Angelo AM, Venturino A. 2012. Developmental alterations in *Rhinella arenarum* embryos caused by the exposure to the organophosphate Chlorpyrifos. *Environ Toxicol Chem* 31: 2052-2058.
- Souza MS, Magnarelli GG, Rovedatti MG, Cruz SS, De D'Angelo AM. 2005. Prenatal exposure to pesticides: analysis of human placental acetylcholinesterase, glutathione S-transferase and catalase as biomarkers of effect. *Biomarkers* 10:376-89.
- Tosi AP, Pechen de D'Angelo AM, Savini MC, Loewy RM. 2009. Evaluación de riesgo por plaguicidas sobre aguas superficiales de la Región Norpatagónica Argentina. *Acta Toxicol Argent* 17: 1-6. ISSN: 0327-9286.
- UNEP. United Nations Environmental Protection. 1992. Determination of petroleum hydrocarbon in sediments. Reference methods for Marine Pollution Studies N0 72.
- Villarreal P, Mattei S, Villegas Nigra M, Forchetti G. 2010. Evaluación del impacto del Programa Nacional de Supresión de Carpocapsa en la fruticultura de pepita de los valles irrigados de la Norpatagonia. FunBaPaEdiciones, Viedma, Río Negro, Argentina.
- Vera B, Santa Cruz S, Magnarelli G. 2012. Plasma cholinesterase and carboxylesterase activities and nuclear and mitochondrial lipid composition of human placenta associated with maternal exposure to pesticides. *Reprod Toxicol* 34: 402-407.