

► ARTÍCULOS ORIGINALES

PECES DE CONSUMO HUMANO COMO INDICADORES DE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL POR PLAGUICIDAS EN EL NORTE DE MISIONES, ARGENTINA

Fishes for human consumption as indicators of environmental pollution by pesticides in northern Misiones, Argentina

Danny Andrea Soto¹, Facundo Alejandro Luque², Victoria Gnazzo¹

RESUMEN. INTRODUCCIÓN: El norte de la provincia de Misiones se caracteriza por una gran superficie de cultivos en pequeña escala, que es necesario investigar debido a su impacto socioambiental por el uso de plaguicidas. Además, la acuicultura en esta zona del país se ha expandido en los últimos años con la introducción de programas familiares como mecanismo de diversificación de ingresos. Mediante la utilización de peces de consumo humano como indicadores de contaminación, este proyecto tuvo por objetivo dar una primera aproximación a los riesgos ambientales y sanitarios surgidos como consecuencia de prácticas de manejo inadecuadas en el uso multifuncional de la tierra. MÉTODOS: Se realizó el análisis de biomarcadores no destructivos en peces de la especie *Oreochromis niloticus*, como el recuento diferencial de leucocitos, la actividad enzimática de la colinesterasa y la frecuencia de micronúcleos. RESULTADOS: Se determinaron alteraciones en los valores de estos parámetros en individuos pertenecientes a la zona de cultivos con respecto a los individuos de áreas protegidas, y se observó la presencia de lindano en el sedimento de los cuerpos de agua de la zona de cultivo. CONCLUSIONES: Aunque el manejo multifuncional de la tierra en este área contribuyó a un uso más eficiente de los recursos, la exposición de los peces a los pesticidas utilizados en los cultivos se ha convertido en una consecuencia involuntaria en la región.

PALABRAS CLAVE: Ambiente; Contaminación; Peces; Salud

ABSTRACT. INTRODUCTION: The northern region of Misiones is characterized by a large area of small-scale crops, whose socio-environmental impact through use of pesticides has to be studied. The combination of crops and aquaculture in this region grew significantly as an income diversification mechanism. Through the use of fish for human consumption as indicator of pollution, this project aimed to determine environmental and health risks associated to inadequate land-use management practices. METHODS: Analyses of non-destructive biomarkers like differential leukocyte count, cholinesterase enzymatic activity and frequency of micronuclei in fish of the species *Oreochromis niloticus* were carried out. RESULTS: Alterations of the standard parameters tested on individuals from crop areas were determined and the level of lindane in sediment of the ponds in culture zone was detected. CONCLUSIONS: Although the multi-functional land management led to a more efficient use of natural resources, the exposure of fish to pesticides used on the crops has become an unintended consequence in this region.

KEY WORDS: Environment; Pollution; Fish; Health

¹ Instituto Nacional de Medicina Tropical, Misiones, Argentina.

² Instituto Misionero de Biodiversidad, Misiones, Argentina.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO: Beca Salud Investiga "Dr. Abraam Sonis", categoría individual, otorgada por la Secretaría de Gobierno de Salud de la Nación, a través de la Dirección de Investigación para la Salud.

FECHA DE RECEPCIÓN: 11 de octubre de 2019

FECHA DE ACEPTACIÓN: 13 de diciembre de 2019

CORRESPONDENCIA A: Victoria Gnazzo
Correo electrónico: vgnazzo@anlis.gov.ar

RENIS N°: IS002531

INTRODUCCIÓN

La provincia de Misiones y particularmente su región norte se caracterizan por poseer una variada producción y cultivos diversos, entre ellos tabaco, yerba, té, mandioca, cítricos y maíz.

Por su volumen y extensión, y debido en gran medida al mal manejo y aplicación de agroquímicos, las producciones de yerba y tabaco son consideradas las principales causantes de la contaminación de los cursos de agua en

las diferentes cuencas que bañan la región¹.

Aunque los productores reconocen la peligrosidad de los agroquímicos, no logran hacerlo en la dimensión que estos productos ameritan y no distinguen las categorías toxicológicas ni las vías de ingreso, por lo que en la práctica cotidiana no implementan medidas de prevención².

Por otro lado, la acuicultura en Misiones se ha expandido en los últimos años como un mecanismo de diversificación de ingresos. En el norte de la provincia, principalmente,

se crían tilapias (*Oreochromis niloticus*), que fueron introducidas en esta región y utilizadas para consumo debido al rápido crecimiento y a las condiciones de cría sencillas en comparación con las especies nativas.

En general, los animales acuáticos son más sensibles a la exposición de plaguicidas que los terrestres, y son numerosos los estudios en los que se constata su toxicidad por exposición a corto y largo plazo^{3,4}.

La respuesta de los organismos acuáticos a los agroquímicos depende, entre otros factores, del rango de tolerancia, del compuesto, del tiempo de exposición, de la calidad del agua y de la especie. Los peces de cría han sido blanco de numerosos ensayos toxicológicos en laboratorio⁵⁻⁸. Sin embargo, en los últimos años se ha observado que las pruebas de toxicidad que sólo estudian efectos inmediatos (mortalidad) no son adecuadas para evaluar el riesgo de los ecosistemas en su conjunto; en su lugar se miden las alteraciones a largo plazo como referencia para ver cómo inciden estos cambios en la biodiversidad y la salud humana⁹.

En esta región hasta el momento no se han realizado investigaciones en campo, particularmente en chacras que efectúan un uso multifuncional de la tierra y utilizan mezclas de plaguicidas a pocos metros del estanque donde crían los peces. Por lo tanto, un estudio en estos sitios podría evidenciar el riesgo de contaminación al que están expuestos los peces y los productores en sus hogares y su ambiente laboral.

Teniendo en cuenta los antecedentes y observaciones en campo, surge el interrogante de si los peces criados en ambientes expuestos a plaguicidas podrían servir como indicadores de la contaminación a la cual están expuestos los productores. Para responderlo, se llevó a cabo este estudio en peces de la especie *Oreochromis niloticus*, con el objetivo de dar una primera aproximación a los riesgos ambientales y sanitarios de las prácticas de manejo inadecuadas en el uso multifuncional de la tierra y de las condiciones socioambientales de los productores.

MÉTODOS

Los estudios en peces compararon individuos de la especie *Oreochromis niloticus* capturados en dos áreas. El grupo tratado fue recolectado en la localidad de Andresito (Departamento de General Belgrano) en tres chacras con cuerpos de agua cercanos a cultivos que utilizan plaguicidas. El otro grupo (control) correspondió a peces de la misma especie recogidos en dos cuerpos de agua de reservas naturales, donde en un radio de 10 km no se encontró ningún cultivo tratado con plaguicidas (Esquema 1).

En cada sitio de muestreo se midió en el agua superficial la temperatura, el pH, el oxígeno disuelto (OD) y la conductividad eléctrica con un equipo multiparamétrico (AZ 8603). Los muestreos de agua y peces se realizaron entre mayo de 2018 y mayo de 2019.

Se recolectaron además muestras de sedimento, tomadas con una cuchara de van Veen. Una vez recuperado el tomamuestras, se dejó escurrir el agua, evitando alterar la

capa superficial. Una vez obtenidas las muestras de aproximadamente 500 ml, se colocaron en frascos de vidrio y se almacenaron protegidas de la luz del sol. Se consignó su identidad y se las mantuvo en una caja con hielo hasta el congelamiento a -20 °C para proceder posteriormente a su análisis. En estas muestras se realizó un perfil de pesticidas (organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides), para lo cual se utilizó un cromatógrafo gaseoso Hewlett Packard HP 7890 con detector selector de masas (MSD) y un cromatógrafo líquido Hewlett Packard HP 1260 Infinity con detector de diodos (DAD), con límite de detección de 0,005 mg/kg y límite de cuantificación de 0,01 mg/kg.

La captura de peces se realizó mediante cañas de pescar y redes. Como contención, se utilizaron redes copo de silicona para minimizar el daño, con un tamaño que permitió trabajar con el pez cerca del agua. Se capturaron peces de la especie *Oreochromis niloticus*, introducida en Sudamérica a partir de un inadecuado manejo de piscicultura y del traslado con fines deportivos¹⁰.

Los ejemplares que no se correspondían con la especie a muestrear fueron fotografiados en campo y devueltos al ambiente.

Una vez capturados, se procedió a la medición de su peso y tamaño (longitud total y altura desde la aleta dorsal hasta la aleta ventral) y a la extracción de sangre de la vena caudal, la cual no superó el 1% del peso corporal¹¹. La sangre obtenida se almacenó en microtubos, fue centrifugada durante 5 minutos a 2500 rpm y el sobrenadante fue separado en los distintos volúmenes requeridos para cada determinación y almacenado a -20 °C hasta su análisis. Además se realizó un frotis sanguíneo de primera gota.

Las determinaciones analíticas realizadas incluyeron la medición de la actividad colinesterasa, el recuento diferencial de leucocitos y la determinación de micronúcleos (MN) en eritrocitos.

Los niveles de actividad de la colinesterasa en suero fueron determinados mediante la utilización del kit Wiener Labs (Rosario, Argentina), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Para el recuento diferencial de glóbulos blancos se colocó una gota de sangre sobre un portaobjetos, y se realizaron los extendidos por deslizamiento. Una vez secos, se colorearon con MayGrunwald-Giemsa de la siguiente manera: MayGrunwald 3 minutos y Giemsa (dilución 1/10) durante 18 minutos. Se lavaron con agua y se dejaron secar. Los extendidos fueron observados mediante un microscopio Zeiss Axiophot-Axiolab con objetivos de 40 X y 100 X en aceite de inmersión. Se tomaron fotografías con cámara digital Axiocam HRc Zeiss con la utilización de software Axio Vision 4.3.

Para la determinación de MN en eritrocitos se utilizaron los frotis mencionados previamente. La frecuencia de MN fue determinada en 2000 eritrocitos mediante un microscopio Zeiss Axiophot-Axiolab con objetivo de 100 X en aceite de inmersión. Se tomaron fotografías con cámara

digital Axiocam HRC Zeiss con la utilización de software Axio Vision 4.3. Para la determinación de los MN se aplicaron los siguientes criterios: a) ser inferiores a 1/3 del diámetro del núcleo principal, b) estar en el mismo plano de enfoque, c) tener el mismo color, textura y refracción que el núcleo principal, d) tener forma oval o redonda, y e) estar claramente separados del núcleo principal.

El análisis estadístico de los datos incluyó la prueba Kolmogorow-Smirnow para la normalidad, y las variables con distribución paramétrica fueron analizadas mediante la prueba T para igualdad de medias y la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas, mientras que las variables no paramétricas fueron analizadas mediante la prueba Mann-Whitney con una significancia estadística de $p < 0,05$. Los datos fueron analizados a través del programa Prism versión 7.0.

RESULTADOS

Para evaluar a los peces como indicadores de la contaminación ambiental por plaguicidas en el norte de la provincia de Misiones se realizaron, por un lado, análisis de biomarcadores enzimáticos, hematológicos y genotóxicos en tilapias (*Oreochromis niloticus*) criadas en cuerpos de agua cercanos a cultivos en la zona de Cabureí, Andresito (Esquema 1, área protegida en color verde y área de cultivos en color marrón) y, por el otro, análisis ambientales complementarios.

A partir de la medición de los parámetros fisicoquímicos en agua en los puntos y tiempos de muestreo, se determinó que la temperatura a lo largo del año se había mantenido estable en los dos sitios entre 21 y 26 °C (medias anuales en ambos sitios, prueba t, valor $p > 0,388$). El pH en los cuerpos de agua de la zona de cultivos varió de neutro a ligeramente ácido (media 6,89, desvío estándar [DE] 0,34), y en la zona de área protegida fue levemente alcalino (media 7,53, DE 0,29). La concentración de OD fue similar en los cuerpos de agua de las diferentes zonas (área protegida: 14,5 mg/L, DE 3,53; cultivo: 10,9 mg/L, DE 6,24), y la conductividad fue significativamente más alta en la zona de área protegida (media: 66,9 $\mu\text{S}/\text{cm}$, DE 11,44) que en cultivos (media: 31,7 $\mu\text{S}/\text{cm}$, DE 16,3) (ver Figura 1).

En los tres cuerpos de agua muestreados se detectaron por cromatografía líquida (HPLC-MS MS) y cromatografía gaseosa (GC-MSD) niveles del insecticida organoclorado lindano (ver Tabla 1).

Con el objetivo de evaluar en tilapias las alteraciones a largo plazo causadas por la exposición a pesticidas con baja persistencia ambiental, se midieron los niveles de la actividad enzimática colinesterasa (ChE) en suero como indicador de la exposición de los ecosistemas naturales a insecticidas organofosforados y carbamatos. Al comparar la actividad colinesterasa en suero de peces de los diferentes ambientes, se observaron diferencias significativas en los niveles de esta enzima en los ejemplares de *O. niloticus* provenientes de cuerpos de agua cercanos a cultivos con respecto a los controles de áreas protegidas (ver Figura 2,

test de la t de Student, p valor $< 0,0001$).

Por otro lado, se realizó el recuento diferencial de leucocitos en frotis con tinción de MayGrunwald-Giemsa en muestras de *O. niloticus* de ambos grupos (peces capturados en áreas protegidas y peces capturados en chacras cercanas a cultivos). En la Figura 3 se presentan los resultados obtenidos del recuento en 44 individuos. En el conteo de leucocitos se diferenciaron monocitos, linfocitos, trombocitos, neutrófilos y basófilos. Se observaron distintos porcentajes de los tipos celulares mencionados al comparar los individuos de los diferentes ambientes. En el grupo de tilapias muestreadas en áreas protegidas se observó un predominio de linfocitos circulantes (62,6%), pero el porcentaje de linfocitos en los ejemplares pertenecientes a la zona de cultivos fue significativamente menor (39,9%). Con respecto al grupo de monocitos, estos representaron un 45,5% de la población total de leucocitos en el grupo de peces pertenecientes al cultivo.

Los monocitos fueron el tipo celular predominante en el grupo de tilapias de cultivos, con proporciones diferenciales en los peces de los dos sitios de muestreo.

Para determinar la frecuencia de MN y compararla en peces de los diferentes sitios de muestreo, se analizaron al azar 2000 eritrocitos por cada pez (ver Figura 4A).

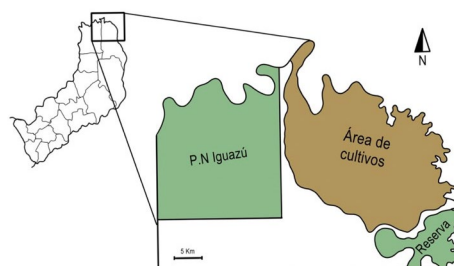
Según los datos obtenidos del análisis de MN en eritrocitos de *O. niloticus*, en el recuento total de 2000 células los peces provenientes de áreas protegidas presentaron un número medio de MN significativamente menor que aquellos pertenecientes a cuerpos de agua cercanos a cultivos (área protegida: mínimo 0, máximo 5 MN; cultivo: mínimo 0, máximo 23 MN). Los resultados se presentan en la Figura 4B, donde se indica entre paréntesis el número de ejemplares analizados en cada grupo (test de Mann-Whitney, valor $p > 0,04$).

DISCUSIÓN

Las producciones agrícolas de Misiones son variadas. Las pequeñas extensiones de tierras y su uso multifuncional son frecuentes en el norte de la provincia.

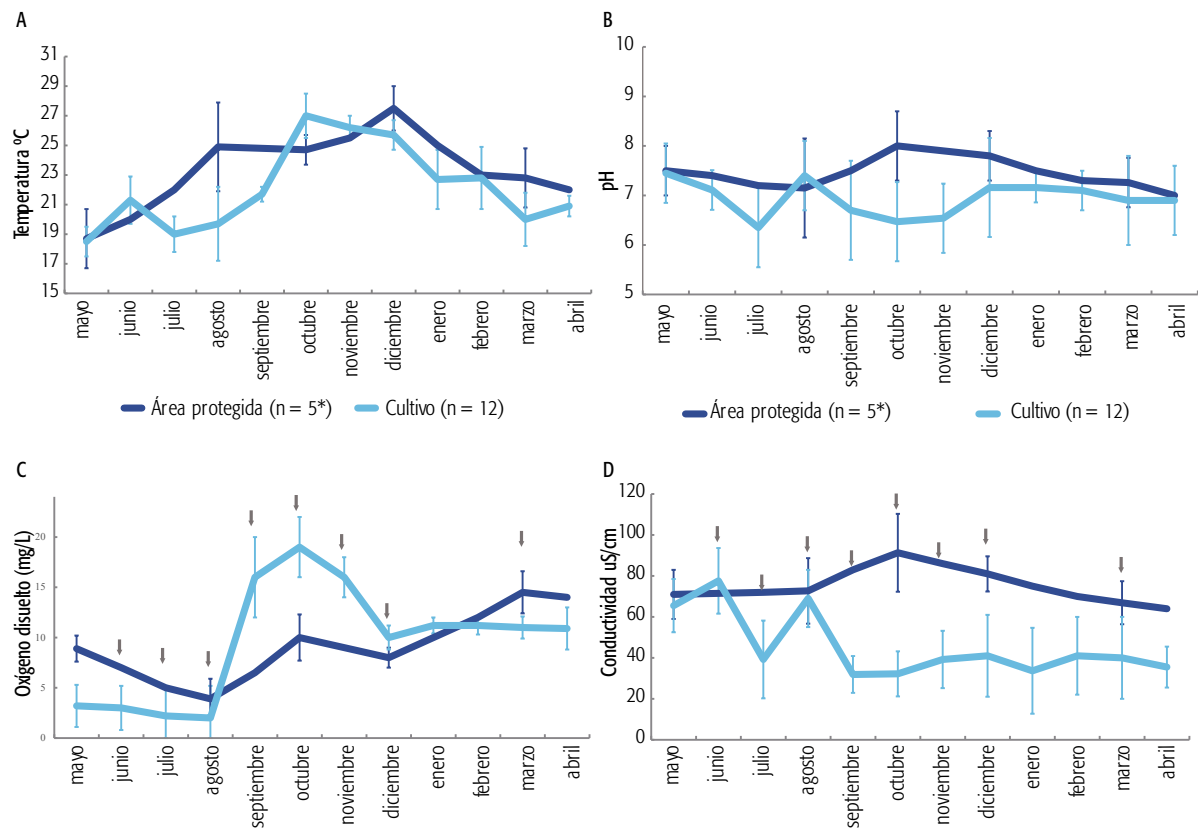
Dado que estas producciones se concentran en el terreno lindante a la vivienda familiar, aproximadamente a 200 metros, la exposición ambiental y laboral de los productores es difícil de diferenciar.

ESQUEMA 1. Mapa del norte de la provincia de Misiones correspondiente a los departamentos de Iguazú y General Belgrano.



P.N. Iguazú = Parque Nacional Iguazú

FIGURA 1. Parámetros fisicoquímicos en agua superficial medidos in situ en cuerpos de agua de área protegida y en cultivos. A) Valores de temperatura prueba t, valor p 0,388. B) Valores de pH prueba t, valor p 0,0001. C) Valores de oxígeno disuelto, prueba t, valor p 0,903. D) Valores de conductividad, prueba Mann-Whitney, valor p 0,0001.

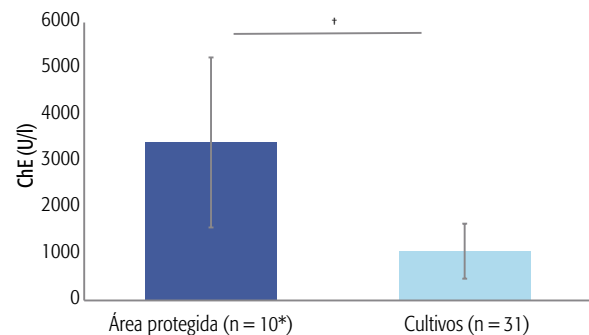


* Los números entre paréntesis indican el número muestreado en cada sitio. Las flechas indican los meses de aplicación de plaguicidas.

TABLA 1. Perfil de pesticidas determinados mediante cromatografía, en sedimentos de 3 cuerpos de agua pertenecientes a chacras con uso multifuncional de la tierra en la localidad de Andresito.

Analito	Método de análisis	Resultados		
		Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Acefato	HPLC-MS MS	No detectado	No detectado	No detectado
Carbaryl	HPLC-MS MS	No detectado	No detectado	No detectado
Carbofurán	HPLC-MS MS	No detectado	No detectado	No detectado
Cipermetrina	HPLC-MS MS	No detectado	No detectado	No detectado
Clorpirifos	HPLC-MS MS	No detectado	No detectado	No detectado
Diazinon	HPLC-MS MS	No detectado	No detectado	No detectado
Fipronil	HPLC-MS MS	No detectado	No detectado	No detectado
Aldrin	GC-MSD	No detectado	No detectado	No detectado
DDT	GC-MSD	No detectado	No detectado	No detectado
Endosulfan	GC-MSD	No detectado	No detectado	No detectado
Endrin	GC-MSD	No detectado	No detectado	No detectado
Heptador	GC-MSD	No detectado	No detectado	No detectado
Lindano	GC-MSD	0,013 mg/Kg	0,021 mg/Kg	0,018 mg/Kg
Nonaclor	GC-MSD	No detectado	No detectado	No detectado
Teflutrin	GC-MSD	No detectado	No detectado	No detectado

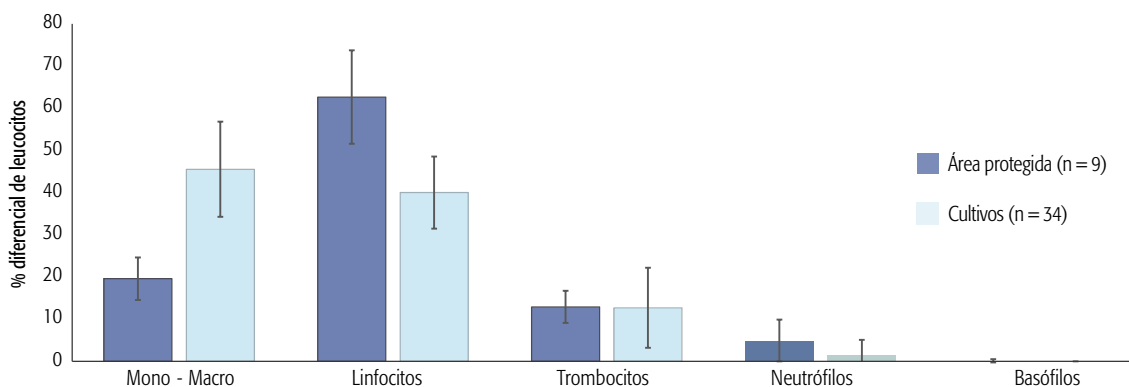
FIGURA 2. Promedio de los valores de enzimas colinesterasas (ChE U/l) con sus respectivos desvíos estándar obtenidos en ejemplares de *O. niloticus* capturados en áreas protegidas y en la zona de cultivos.



* Los números entre paréntesis en el eje x indican el número de peces que fueron analizados en cada caso. Test de la t de Student; † valor p <0,0001

A partir del análisis *in situ* de los parámetros fisicoquímicos en aguas de estas chacras y de la comparación con cuerpos de agua de similares características pertenecientes a áreas naturales protegidas, se identificaron algunas variaciones en los valores de pH y conductividad a lo largo del año. Los cuerpos de agua presentaron valores de temperatura de entre 21 y 26 °C, las diferencias de temperatura registradas entre los sitios se debieron a la profundidad de medición y a las dimensiones de las lagunas, y el pH

FIGURA 3. Porcentaje diferencial de leucocitos sobre la base del recuento diferencial de monocitos, linfocitos, trombocitos, neutrófilos y basófilos.



Las barras muestran el porcentaje de células y sus correspondientes desvíos estándar.

fue levemente ácido en comparación con los cuerpos de agua del área protegida, pero dentro de los niveles recomendados por las agencias internacionales. Por otro lado, los niveles de OD fueron de aproximadamente 10 mg/L en ambos sitios y la conductividad fue significativamente menor, pero dentro de los parámetros normales para el tipo de agua muestreada¹².

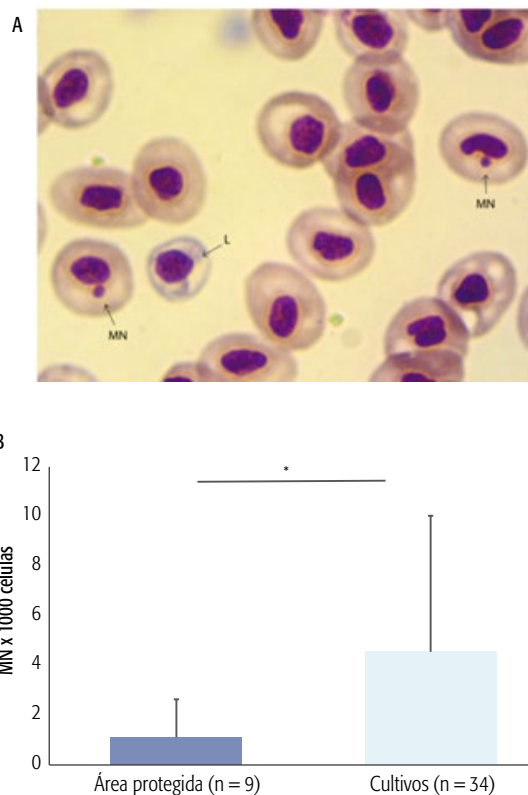
En los tres sitios se detectaron niveles del organoclorado lindano, un compuesto que no se encuentra de manera natural en el ambiente y cuya entrada puede ocurrir durante su formulación y su uso como plaguicida. El Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) ha incluido al lindano dentro de su Grupo 1 (donde aparecen los compuestos que ofrecen suficiente evidencia sobre la carcinogenicidad en humanos). Se trata de un contaminante que genera gran preocupación debido a su persistencia, toxicidad y distribución generalizada en el medio ambiente^{13,14}. Por su conocida eficacia, fue utilizado como insecticida entre las décadas de 1950 y 1980, antes de que se lo prohibiera oficialmente en todo el mundo y se lo clasificara como contaminante orgánico persistente en el Convenio de Estocolmo^{15,16}. La persistencia del lindano da lugar a residuos, especialmente en el suelo, y su vida media para la degradación puede ser de hasta 3 años^{17,18}.

En este trabajo el lindano fue detectado en sedimentos. A pesar de que varios autores afirman que sólo los plaguicidas en fase acuosa están biodisponibles, se han llevado a cabo muchos estudios sobre la biodisponibilidad y la liberación de residuos ligados y los posibles impactos tóxicos en los organismos vivos^{19,20}.

Sobre esta base, y teniendo en cuenta que a diferencia de los insecticidas organoclorados, los organofosforados y carbamatos presentan una baja persistencia ambiental y son difíciles de evaluar por medio de análisis químicos de tejidos o de matrices ambientales, se ha propuesto en este trabajo el empleo de biomarcadores en peces.

Los biomarcadores son parámetros medibles a nivel organismo o suborganismo, que se alteran por la influencia del ambiente, en general, y por la exposición a contami-

FIGURA 4. A) Microfotografía de frotis sanguíneo de *O. niloticus* en la que se observan a 100X micronúcleos en los eritrocitos (MN) y un linfocito (L). B) Número medio de micronúcleos y desvío estándar en 1000 eritrocitos de *O. niloticus*.



nantes, en particular. Los biomarcadores no destructivos, con los cuales no es necesario sacrificar al individuo para la toma de muestra, han recibido especial atención en los programas de monitoreo biológico²¹. El estudio tisular representa una herramienta de diagnóstico que suma respuestas individuales y permite evaluar las condiciones de salud de una población.

Dado que la hematología en peces es una disciplina moderna, y para la mayoría de los biomarcadores no

existen valores basales en la ictiofauna, en este trabajo se efectuaron las mediciones (como control) en la misma especie, pero de reservas naturales (lugares no impactados por agroquímicos).

Los biomarcadores analizados incluyeron niveles de actividad de la enzima colinesterasa, recuento diferencial de leucocitos y análisis de la frecuencia de MN en eritrocitos de individuos de *O. niloticus*.

Un parámetro frecuentemente usado en toxicología es la medición de la actividad colinesterasa. Esta enzima es un indicador de toxicidad, que evidencia la exposición a organofosforados y carbamatos^{22,23}. La colinesterasa es extremadamente importante en peces para muchas funciones fisiológicas, como evasión de predadores, localización de presas y búsqueda de alimento²⁴.

En el presente trabajo, al comparar la actividad de esta enzima en peces provenientes de áreas de cultivo y peces de áreas protegidas, se determinó una inhibición significativa de los niveles de colinesterasas en los ejemplares de *O. niloticus* de áreas de cultivo (Figura 2). Los resultados sugieren que, a pesar de que no se han encontrado en el sedimento, los residuos de organofosforados podrían haber entrado en contacto con la población de peces de estos cuerpos de agua y producido la inhibición de las colinesterasas de los individuos analizados. Los valores más altos de colinesterasas consignados para los peces de los cultivos se corresponden con los niveles más bajos registrados en el área protegida.

Otro parámetro analizado fue el recuento diferencial leucocitario; los recuentos relativos de leucocitos fueron propuestos para la evaluación del sistema inmune inespecífico de individuos expuestos a situaciones de estrés²⁵ y como parámetro indicativo de poblaciones provenientes de sitios contaminados²⁶. Varios tipos de leucocitos participan en la respuesta celular, incluidos linfocitos, monocitos, granulocitos como neutrófilos, eosinófilos y basófilos, estos últimos en pequeñas proporciones en peces^{27,28}.

Este trabajo permitió distinguir, en tilapias, tipos celulares correspondientes a eritrocitos, linfocitos, monocitos, trombocitos, neutrófilos y basófilos. Las células predominantes correspondieron a eritrocitos nucleados de forma elíptica. En peces provenientes de áreas protegidas hubo un predominio de linfocitos circulantes en los frotis de *O. niloticus*, descrito también en otros estudios²⁹⁻³¹; en peces provenientes de zonas de cultivos, el porcentaje fue muy inferior. Este resultado concuerda con lo reportado por Azevedo³², quien demostró que el número de linfocitos circulantes en ejemplares de *O. niloticus* puede disminuir en situaciones de estrés.

Los monocitos actúan en el proceso de inflamación y respuesta inmune. Para la evaluación de los extendidos de sangre de *O. niloticus*, no se efectuó diferenciación; morfológicamente sólo se encontraron diferencias de tamaño, pero no en las características del núcleo y el citoplasma³³. En este trabajo fueron el tipo celular predominante en el grupo de individuos pertenecientes a las zonas de cultivos

(45%) y el segundo grupo encontrado (20%) en los individuos pertenecientes a áreas protegidas. Para los restantes grupos celulares no se hallaron diferencias significativas entre áreas protegidas y cultivos. Los basófilos fueron escasos en el recuento diferencial, en concordancia con lo publicado por Clauss³⁴, y en los peces la función de este tipo celular aún no es clara.

La existencia de núcleo en los hematíes de los peces incorpora un nuevo aspecto a tener en cuenta en la evaluación de la morfología sanguínea: la presencia o no de alteraciones nucleares. Dentro de ellas, la más ampliamente utilizada para evaluar genotoxicidad de sustancias es la generación de MN³⁵⁻³⁷. Como su nombre lo indica, los MN son masas de cromatina con forma de pequeños núcleos, que pueden originarse de manera espontánea o como respuesta a la acción de determinados agentes. Cuando esto ocurre, el material genético desprendido queda excluido del núcleo de la célula hija, lo que origina uno o varios núcleos de menor tamaño denominados MN, visibles fácilmente al microscopio óptico.

El ensayo de MN aplicado al biomonitoreo de contaminantes demuestra ser un adecuado biomarcador y una herramienta de gran practicidad en los estudios de mutagénesis ambiental y en la evaluación de xenobióticos en ecosistemas acuáticos^{38,39}.

En este trabajo los peces pertenecientes a áreas protegidas presentaron entre 0 y 5 MN en el recuento de 2000 eritrocitos, mientras que en los peces provenientes de cuerpos de agua cercanos a cultivos se detectaron cada 2000 eritrocitos entre 0 y 23 MN, es decir, un número significativamente mayor. Estos resultados sugieren que los cambios medioambientales relacionados con las actividades agrícolas realizadas a partir del uso multifuncional de la tierra están alterando los biomarcadores analizados en las tilapias que habitan los cuerpos de agua. Debido a la proximidad de las lagunas con las viviendas familiares y las fuentes de agua, es posible que la contaminación con estos productos esté llegando también a la que se utiliza para el consumo humano.

Las entrevistas llevadas a cabo con los productores, donde se los consultó acerca del manejo de la tierra, los productos utilizados, las medidas de seguridad empleadas y el destino que se les da a sus peces, evidenciaron en todos los casos una cierta reticencia a abordar determinados temas. Sin embargo, quedó en claro que no sólo destinan a los cultivos los plaguicidas que les ofrece la empresa tabacalera con el paquete tecnológico; sobre la base de pruebas y práctica también aplican otro tipo de compuestos, que adquieren a partir de la circulación irregular de agrotóxicos en la frontera. Como describe Landini⁴⁰, los agricultores acceden en general a los productos mediante la compra de manera fraccionada (sin envase original). En los cultivos de yerba y maíz, utilizan principalmente el herbicida Round Up dos veces al año, y una vez al año lo emplean para la preparación del rozado en los cultivos de tabaco.

Una cuestión que se destacó en la entrevista fue el uso de herbicidas y mezclas de herbicidas para el acondicionamiento de sectores de recreación en las chacras, minimizando sus consecuencias y la cercanía de esos sectores a las vertientes, pozos de agua y cuerpos de agua donde se crían peces para consumo.

Otra cuestión analizada fueron las características del terreno, ya que en algunos casos los cultivos de tabaco, yerba y maíz se encontraban a menos de 100 metros de los cuerpos de agua donde se criaban los peces y en pendiente hacia ellos.

Por último, también se discutieron las medidas de seguridad adoptadas por los miembros de la familia que colaboran en las tareas de fumigación. Generalmente incluyen botas, guantes y sombreros, en tanto que el mantenimiento de las mochilas no suele realizarse regularmente.

Este trabajo evidenció irregularidades, muchas de ellas por desconocimiento de los potenciales efectos en el ambiente y la salud, y reflejó prácticas de manejo inadecuadas por parte de los productores a través de los cambios observados en los biomarcadores analizados. Asimismo, los residuos de plaguicidas en los alimentos y la contaminación de las fuentes de agua son vías importantes de exposición humana^{41,42}, que han sido abordadas en parte en este trabajo mediante el análisis de residuos en sedimento, pero que deben ser profundizadas en investigaciones posteriores.

A pesar de las limitaciones relacionadas con la falta de control de algunas variables propias de un estudio ecológico, como fue planteado el presente, es la primera vez que se investigan de manera empírica los efectos de la aplicación de plaguicidas en las comunidades acuáticas en el norte de Misiones. Se trata del puntapié inicial de un estudio holístico para determinar las consecuencias ambientales y sanitarias de las prácticas agrícolas en este sector de la provincia, que constituyen cultivos a pequeña escala y, por ende, son difíciles de controlar.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES: No hubo conflicto de intereses durante la realización del estudio.

Cómo citar este artículo: Soto D, Luque F, Gnazzo V. Peces de consumo humano como indicadores de contaminación ambiental por plaguicidas en el norte de Misiones, Argentina. *Rev Argent Salud Pública*, 2020; 11(42): 7-14.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Páez S. Uso de agrotóxicos en el cultivo de tabaco, su impacto socio-ambiental en la zona centro de la provincia de Misiones. Observatorio Geográfico América Latina [Internet]. 2009 [citado 12 Ene 2020]. Disponible en: <http://observatoriageograficoamericalatina.org.mx/egal15/Geografiasocioeconomica/Geografiaagricola/42.pdf>
- Souza Casadinho J. Las actividades de intervención en un contexto de conflictos ambientales: las acciones de capacitación y acceso a la información en comunidades afectadas por el uso de agrotóxicos. *ReD+ER*. 2013;1(1). doi: 10.14409/r.v1i1.53.
- Canty MN, Hagger JA, Moore RTB, Cooper L, Galloway TS. Sublethal impact of short term exposure to the organophosphate pesticide azamethiphos in the marine mollusc *Mytilus edulis*. *Mar Pollut Bull*. Abr 2007;54(4):396-402. doi: 10.1016/j.marpolbul.2006.11.013.
- Gagnaire B, Geffard O, Xuereb B, Margoum C, Garric J. Cholinesterase acti-

RELEVANCIA PARA POLITICAS E INTERVENCIONES SANITARIAS

Este trabajo pone en evidencia el manejo inadecuado de los cultivos, derivados de la falta de educación y las necesidades económicas, e insta a dar alternativas a los agricultores para que las producciones de tabaco no sean la única fuente para acceder a un seguro y obra social. Es necesario un accionar desde el sistema sanitario y los organismos responsables de garantizar la inocuidad de los alimentos.

RELEVANCIA PARA LA FORMACIÓN DE RECURSOS HUMANOS EN SALUD

Este estudio presenta una línea de base de los efectos del uso de agroquímicos y del manejo inadecuado de la producción en la provincia de Misiones, a partir de la cual contribuye a formar recursos humanos en Salud y a avanzar en el conocimiento de las consecuencias mediante investigaciones multidisciplinarias.

RELEVANCIA PARA LA INVESTIGACIÓN EN SALUD

Este estudio brinda una primera aproximación a la caracterización de las alteraciones provocadas en los organismos acuáticos. A partir de la evaluación del riesgo de los consumidores, se puede generar información útil para realizar futuras investigaciones acerca de esta problemática y plantear estrategias de control del uso de agroquímicos en la zona del norte de la provincia de Misiones.

Los resultados del presente trabajo son la línea de base para monitorear los efectos del manejo inadecuado de estos espacios y pueden utilizarse para desarrollar un modelo hidrológico a fin de aplicar las buenas prácticas.

AGRADECIMIENTOS

A Francisco Robino, Nilso Molina y Ramón Sosa, por el traslado a las zonas de estudio y el apoyo técnico en los muestreos. A Matías Romano, Germán Alonso y Juan Farjat, por facilitar el acceso en el área protegida.

vities as potential biomarkers: characterization in two freshwater snails, *Potamopyrgus antipodarum* (Mollusca, Hydrobiidae, Smith 1889) and *Valvata piscinalis* (Mollusca, Valvatidae, Müller 1774). *Chemosphere*. 2008;71(3):553-560. doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.09.048.

⁵ Murussi CR, Menezes CC, Nunes MEM, Araujo M do CS, Quadros VA, Rosemberg DB, et al. Azadirachtin, a neem-derived biopesticide, impairs behavioral and hematological parameters in carp (*Cyprinus carpio*). *Environ Toxicol*. 2016;31(11):1381-1388. doi: 10.1002/tox.22143.

⁶ Dar SA, Yousuf AR, Balkhi MUH, Ganai BA, Tantry M, Bhat FA. Podophyllum hexandrum ameliorates endosulfan-induced genotoxicity and mutagenicity in freshwater cyprinid fish crucian carp. *Pharm Biol*. 2017;55(1):173-183. doi: 10.1080/13880209.2016.1233568.

⁷ Ansoar-Rodríguez Y, Christofolletti CA, Correia JE, de Souza RB, Moreira-de-Sousa C, de Castro Marcato AC, et al. Liver alterations in *Oreochromis niloticus* (Pisces) induced by insecticide imidacloprid: histopathology and heat shock

- protein in situ localization. *J Environ Sci Health B*. 2016;51(12):881-887. doi: 10.1080/03601234.2016.1240559.
- ⁸ Campos-García J, Martínez DST, Rezende KFO, da Silva JRMC, Alves OL, Barbieri E. Histopathological alterations in the gills of Nile tilapia exposed to carbofuran and multiwalled carbon nanotubes. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2016;133:481-488. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.07.041.
- ⁹ Izaguirre MF, Marin L, Vergara MN, Lajmanovich RC, Peltzer P, Casco VH. Modelos experimentales de anuros para estudiar los efectos de piretroides. *Ciencia, Docencia y Tecnología* [Internet]. May 2006 [citado 12 Ene 2020];32(XVII):181-206. Disponible en: http://www.revistacdyt.uner.edu.ar/pdfs/cdyt_32_Pag_181-206%20-%20Modelos%20experimentales%20de%20anuros%20para%20estudiar%20los%20efectos%20de%20piretroides.pdf
- ¹⁰ Baumgartner G, Pavanelli CS, Baumgartner D, Bifi AG, Debona T, Frana VA. Peixes do baixo rio Iguacu. Maringá: Eduem; 2012. 203 p. doi: 10.7476/9788576285861.
- ¹¹ Zang L, Shimada Y, Nishimura Y, Tanaka T, Nishimura N. Repeated blood collection for blood tests in adult zebrafish. *J Vis Exp* [Internet]. 2015 [citado 12 Ene 2020];(102):e53272. doi: 10.3791/53272. Disponible en: <https://www.jove.com/video/53272/repeated-blood-collection-for-blood-tests-in-adult-zebrafish>
- ¹² Avigliano E, Schenone NF. Human health risk assessment and environmental distribution of trace elements, glyphosate, fecal coliform and total coliform in Atlantic rainforest mountain rivers (South America). *Microchem J*. 2015;122:149-158. doi: 10.1016/j.microc.2015.05.004.
- ¹³ Barber JL, Sweetman AJ, Van Wijk D, Jones KC. Hexachlorobenzene in the global environment: emissions, levels, distribution, trends and processes. *Sci Total Environ*. 2005;349(1-3):1-44. doi: 10.1016/j.scitotenv.2005.03.014.
- ¹⁴ Vijgen J, Abhilash PC, Li YF, Lal R, Forter M, Torres J, et al. Hexachlorocyclohexane (HCH) as new Stockholm Convention POPs – a global perspective on the management of lindane and its waste isomers. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2011;18:152-162. doi: 10.1007/s11356-010-0417-9.
- ¹⁵ Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs) [Internet]. 2009 [citado 12 Ene 2020]. Disponible en: https://www.wipo.int/edocs/lexdocs/treaties/en/unep-pop/trt_unep_pop_2.pdf
- ¹⁶ Prakash O, Suar M, Raina V, Dogra C, Pal R, Lal R. Residues of hexachlorocyclohexane isomers in soil and water samples from Delhi and adjoining areas. *Curr Sci*. 2004;87(1):73-77.
- ¹⁷ Niu L, Xu C, Yao Y, Liu K, Yang F, Tang M, et al. Status, influences and risk assessment of hexachlorocyclohexanes in agricultural soils across China. *Environ Sci Technol*. 2013;47(21):12140-12147. doi: 10.1021/es401630w.
- ¹⁸ Gevao B, Mordaunt C, Semple KT, Pearce TG, Jones KC. Bioavailability of nonextractable (bound) pesticide residues to earthworms. *Environ Sci Technol*. 2001;35(3):501-507. doi: 10.1021/es00144d.
- ¹⁹ Liu X, Xu X, Zhang H, Li C, Shao X, Ye Q, et al. Bioavailability and release of nonextractable (bound) residues of chiral cycloxyaprid using geophagous earthworm *Metaphire guillelmi* in rice paddy soil. *Sci Total Environ*. 2015;526:243-250. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.03.105.
- ²⁰ Racke KD. Degradation of organophosphorus insecticides in environmental matrices. *Organophosphates Chemistry, Fate, and Effects*. 1992:47-78. doi: 10.1016/b978-0-08-091726-9.50007-0.
- ²¹ Lajmanovich RC, Peltzer PM, Attademo AM, Cabagna-Zenkus MC, Junges CM. Los agroquímicos y su impacto en los anfibios: un dilema de difícil solución. *Química Viva*. 2012;11(3):184-198.
- ²² De Aguiar LH, Moraes G, Avilez IM, Altran AE, Correa CF. Metabolic effects of folidol 600 on the neotropical freshwater fish matrixa, *Brycon cephalus*. *Environ Res*. 2004;95(2):224-230. doi: 10.1016/S0013-9351(03)00119-1.
- ²³ Yi MQ, Liu HX, Shi XY, Liang P, Gao XW. Inhibitory effects of four carbamate insecticides on acetylcholinesterase of male and female *Carassius auratus* in vitro. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2006;143(1):113-116. doi: 10.1016/j.cbpc.2005.12.008.
- ²⁴ Pretto A, Loro VL, Menezes C, Silveira Moraes B, Boschmann Reimche G, Zanella R, et al. Commercial formulation containing quinclorac and met-sulfuron-methyl herbicides inhibit acetylcholinesterase and induce biochemical alterations in tissues of *Leporinus obtusidens*. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2011;74(3):336-341. doi: 10.1016/j.ecoenv.2010.10.003.
- ²⁵ Davis AK, Keel MK, Ferreira A, Maerz JC. Effects of chytridiomycosis on circulating white blood cell distributions of bullfrog larvae (*Rana catesbeiana*). *Comp Clin Path*. 2010;19:49-55. doi: 10.1007/s00580-009-0914-8.
- ²⁶ Cabagna MC, Lajmanovich RC, Stringhini G, Sanchez-Hernandez JC, Peltzer PM. Hematological parameters of health status in the common toad *Bufo arenarum* in agroecosystems of Santa Fe province, Argentina. *Applied Herpetology*. 2005;2(4):373-380. doi: 10.1163/157075405774483085.
- ²⁷ Silva BC, Martins ML, Jatoba A, Buglione Neto CC, Vieira FN, Pereira GV, et al. Hematological and immunological responses of Nile tilapia after polyvalent vaccine administration by different routes. *Pesqui Vet Bras*. 2009;29(11). doi: 10.1590/s0100-736x2009001100002.
- ²⁸ Silva ASE, Lima TAX, Blanco BS. Hematologia em peixes. *Revista Centauro* [Internet]. 2012 [citado 12 Ene 2020];3(1):24-32. Disponible en: http://crmvn.gov.br/documents/revista/vol3/hematologia_em_peixes.pdf
- ²⁹ Martins ML, Pilarski F, Onaka EM, Nomura DT, Fenerick J, Ribeiro K, et al. Hematologia e resposta inflamatória aguda em *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) submetida aos estímulos único e consecutivo de estresse de captura. *Bol Inst Pesca*. 2004;30:71-80.
- ³⁰ Martins ML, Mourino JLP, Amaral GV, Vieira FN, Dotta G, Jatoba AMB, et al. Haematological changes in Nile tilapia experimentally infected with *Enterococcus* sp. *Braz J Biol*. 2008;68(3). doi: 10.1590/S1519-69842008000300025.
- ³¹ Hahn-Von-Hesseberg C, Grajales-Quintero A, Gutierrez A. Parámetros hematológicos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) con peso entre 250 g y 350 g, en el Centro Experimental Piscícola de la Universidad de Caldas. *Veterinaria y Zootecnia*. 2011;5:47-61.
- ³² Azevedo T, Martins M, Yamashita M, Francisco C. Hematología de *Oreochromis niloticus*: comparación entre peixes mantidos em piscicultura consorciada com suínos e empesque-pague no vale do Rio Tijucas, Santa Catarina, Brasil. *Bol Inst Pesca*. 2006;32:41-49.
- ³³ De Lucas Rodrigues Bittencourt N, Molinari LM, De Oliveira Scoaris D, Pedroso RB, Nakamura CV, Ueda-Nakamura T, et al. Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Acta Sci Biol Sci*. 2003;25:385-389.
- ³⁴ Clauss TM, Dove ADM, Arnold JE. Hematologic disorders of fish. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2008;11(3):445-462. doi: 10.1016/j.cvex.2008.03.007.
- ³⁵ Lajmanovich RC, Cabagna M, Peltzer PM, Stringhini GA, Attademo AM. Micronucleus induction in erythrocytes of the *Hyla pulchella* tadpoles (Amphibia: Hylidae) exposed to insecticide endosulfan. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2005;587(1-2):67-72. doi: 10.1016/j.mrgentox.2005.08.001.
- ³⁶ Djomo JE, Dauta A, Ferrier V, Narbonne JF, Monkiedje A, Njine T, et al. Toxic effects of some major polyaromatic hydrocarbons found in crude oil and aquatic sediments on *Scenedesmus subspicatus*. *Water Res*. 2004;38(7):1817-1821. doi: 10.1016/j.watres.2003.10.023.
- ³⁷ Lopez SL, Aiassa D, Benítez-Leite S, Lajmanovich R, Manas F, Poletta G, et al. Pesticides used in South American GMO-based agriculture: a review of their effects on humans and animal models. *Advances in Molecular Toxicology*. 2012;6:41-75. doi: 10.1016/B978-0-444-59389-4.00002-1.
- ³⁸ Junin M, Rodríguez Mendoza N, Heras M, Braga L. Valoración preliminar de la utilización de bioindicadores de contaminación en algunas especies de peces del delta del río Paraná, Argentina. *Ciencias Ambientales*. 2008;1:17-24.
- ³⁹ Palacio Betancur I, Palacio Baena JA, Camargo Guerrero M. Micronuclei test application to wild tropical ichthyic species common in two lentic environments of the low zones in Colombia. *Actual Biol*. 2009;31(90):67-77.
- ⁴⁰ Landini F, Beramendi M, Vargas GL. Uso y manejo de agroquímicos en agricultores familiares y trabajadores rurales de cinco provincias argentinas. *Rev Argent Salud Pública*. 2019;10(38):22-28.
- ⁴¹ Popp J, Peto K, Nagy J. Pesticide productivity and food security. A review. *Agron Sustain Dev*. 2013;33(1):243-255. doi: 10.1007/s13593-012-0105-x.
- ⁴² Bonner MR, Beane Freeman LE, Hoppin JA, Koutros S, Sandler DP, Lynch CF, et al. Occupational exposure to pesticides and the incidence of lung cancer in the agricultural health study. *Environ Health Perspect*. 2017;125(4):544-551. doi: 10.1289/EHP456.



Esta obra está bajo una licencia de *Creative Commons* Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Reconocimiento – Permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra. A cambio se debe reconocer y citar al autor original. No comercial – esta obra no puede ser utilizada con finalidades comerciales, a menos que se obtenga el permiso.