



# **UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

---

**Trabajo de Tesis Doctoral:**

***Distribución de plaguicidas y sus efectos ecotoxicológicos en sistemas acuáticos. Impactos ambientales de las actividades agrícolas-productivas sobre la sustentabilidad del ecosistema.***

---

**Tesista: Lic. Tomás M. Mac Loughlin**

**Director/a: Dr. Damián J. G. Marino**

**Codirector/a: Dra. M. Leticia Peluso**

**Año: 2020**



El presente trabajo de Tesis se realizó en el Centro de Investigaciones del Medio Ambiente bajo la dirección del Dr. Damián J. G. Marino y la codirección de la Dra. Ma. Leticia Peluso. Se presenta a consideración de las autoridades de la Facultad de Ciencias Exactas, de la Universidad Nacional de La Plata a fin de acceder al Grado Académico de Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas.



## Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), por haberme otorgado la beca que me permitió dedicarme en forma exclusiva a este trabajo de tesis. A la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP), por la educación pública y gratuita, donde fue posible mi formación de grado y de posgrado. Al Centro de Investigaciones del Medio Ambiente (CIM), por haberme permitido realizar las investigaciones de la tesis doctoral en esta institución.

A mis directores Damián Marino y Leticia Peluso por nuevamente embarcarse en una aventura conmigo, por haberme guiado e incentivado en la realización de esta tesis.

A mis compañeros de becarios, por el tiempo compartido dentro y fuera del laboratorio: Luqui, Coty, Sofi, Maca, Juan Manuel, Marcos, Santi, Agus, y Jeza.

A los miembros del CIM, en especial a Carina Apartín.

A la cátedra de Química General de Correlación para Ciencias Naturales, por abrirme las puertas al mundo de la docencia, por su compañerismo y mates compartidos.

A mi familia por su apoyo incondicional, cariño y palabras de aliento.

# Índice

Producción científica.....	vii
Resumen .....	xi
Abstract.....	xiv
1. Introducción.....	2
1.1    Distribución ambiental de plaguicidas.....	4
1.2    Niveles ambientales .....	9
1.3    Análisis químico de plaguicidas .....	14
1.3.1    Pretratamiento de aguas.....	15
1.3.2    Pretratamiento del material particulado en suspensión .....	17
1.3.3    Pretratamiento de sedimentos.....	18
1.4    Efectos ecotoxicológicos .....	20
2. Hipótesis y Objetivos .....	23
2.1    Hipótesis.....	23
2.2    Objetivo general.....	23
2.3    Objetivos específicos.....	23
3. Materiales y métodos: muestreos ambientales.....	26
3.1    Selección de los sistemas de producción.....	26
3.2    Toma de muestras.....	26
3.2.1    Materiales y reactivos empleados para la toma de muestra .....	26

3.2.2	Metodología de toma de muestra .....	27
3.2.2.1	Agua superficial .....	27
3.2.2.2	Material particulado en suspensión .....	28
3.2.2.3	Muestreo de sedimento de fondo.....	30
3.3	Plaguicidas estudiados .....	30
3.4	Reactivos, solventes, materiales e instrumental analítico .....	42
3.5	Acondicionamiento del material de laboratorio.....	47
3.6	Procedimiento analítico .....	48
3.6.1	Derivatización para el análisis de glifosato, glufosinato y AMPA .....	48
3.6.2	Agua superficial .....	50
3.6.2.1	Extracción líquido-líquido.....	50
3.6.2.2	Análisis de GGA .....	52
3.6.3	Material particulado en suspensión .....	53
3.6.3.1	Extracción sólido-líquido .....	53
3.6.3.2	Análisis de GGA .....	54
3.6.4	Sedimentos.....	54
3.6.4.1	<i>QuEChERS</i> .....	55
3.6.4.2	Análisis de GGA .....	57
3.6.4.3	Porcentaje de humedad y porcentaje de carbono orgánico.....	57
3.7	Análisis instrumental .....	58

3.7.1	CG-MS .....	59
3.7.1	HPLC-MS.....	59
3.7.2	UPLC-MS/MS .....	61
3.8	Control de calidad y garantía de calidad.....	62
3.9	Validación analítica de la metodología .....	63
3.10	Análisis de resultados.....	65
3.1	Resultados de validación analítica.....	66
4.	Dinámica ambiental de plaguicidas en el Cordón Hortícola Platense .....	75
4.1	Descripción general de la región .....	75
4.1.1	Horticultura en la ciudad de La Plata.....	76
4.2	Características del área de estudio.....	80
4.2.1	Elección de los sitios de muestreo.....	81
4.2.2	Campañas de muestreo.....	82
4.2.3	Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA) .....	87
4.2.3.1	Coeficiente de riesgo.....	87
4.2.3.2	Distribución de Sensibilidad de Especies.....	90
4.1	Resultados y discusión.....	91
4.1.1	Frecuencia de detección.....	96
4.1.1.1	Ocurrencia de glifosato y AMPA en horticultura .....	100
4.1.2	Variación espacial y temporal.....	103

4.1.2.1	Variación temporal de GLY y AMPA .....	107
4.1.3	Plaguicidas más relevantes asociados con la horticultura .....	108
4.1.3.1	Agua .....	109
4.1.3.2	Material particulado en suspensión .....	111
4.1.3.3	Sedimentos de fondo .....	112
4.1.1	Caso particular: GLY y AMPA .....	114
4.1.1	Contribución a la carga total y al coeficiente de partición $K_d$ .....	119
4.1.2	Relación entre dinámica de lluvias y concentración de plaguicidas en agua .	123
4.1.3	Comparaciones con niveles guía de calidad de agua ambiente para protección de la biota acuática .....	126
4.1.4	Resultados de Evaluación de Riesgo Ambiental.....	129
4.1.4.1	Coeficiente de riesgo.....	129
4.1.4.2	Distribución de Sensibilidad de Especies.....	131
5.	Dinámica ambiental de plaguicidas en la cuenca del río Gualeguay .....	139
5.1	Descripción general de la región .....	139
5.2	Características del área de estudio.....	140
5.2.1	Elección de los sitios de muestreo.....	142
5.2.2	Campañas de muestreo.....	145
5.3	Resultados y discusión.....	148
5.3.1	Glifosato y AMPA en la cuenca del río Gualeguay .....	156

5.3.1.1	Frecuencia de detección.....	156
5.3.1.2	Concentraciones GLY y AMPA en la columna de agua.....	160
5.3.1.3	Concentraciones en fracción soluble y particulada .....	161
5.3.1.4	Comparación entre campañas en la columna de agua .....	166
5.3.1.1	Contribución porcentual de fracción soluble y particulada y $K_{d-MPS/soluble}$ .....	167
5.3.1.1	Concentraciones GLY y AMPA en sedimentos de fondo.....	172
5.3.1.2	Coeficiente de partición $K_{d-SED}$ .....	177
5.3.2	Ingreso de GLY y AMPA al Delta del Paraná.....	180
5.3.3	Otros plaguicidas en la cuenca del río Gualeguay.....	181
5.3.1	Comparaciones con niveles guía para protección de la biota acuática.....	185
6.	Ecotoxicología de sedimentos.....	189
6.1	Introducción .....	189
6.1.1	Descripción de <i>Hyalella curvispina</i> .....	194
6.2	Materiales y métodos.....	196
6.2.1	Estadística.....	200
6.3	Resultados ecotoxicológicos del Cordón Hortícola Platense .....	201
6.3.1	Supervivencia en el Cordón Hortícola Platense .....	201
6.3.2	Inhibición de crecimiento en el Cordón Hortícola Platense.....	207
6.3.3	Unidades tóxicas.....	212
6.3.3.1	Modelado de Unidades Tóxicas y mortalidad observada .....	216

6.3.1	Análisis de Componentes Principales .....	217
6.4	Resultados ecotoxicológicos de la cuenca del río Gualeguay .....	221
6.4.1	Supervivencia en la cuenca del río Gualeguay.....	221
6.4.2	Inhibición de crecimiento en la cuenca del río Gualeguay.....	226
6.4.3	Unidades tóxicas.....	229
6.5	Consideraciones finales.....	229
7.	Comparaciones entre sistemas productivos .....	233
7.1	Número de compuestos y frecuencia de detección .....	233
7.1.1	Pseudo-persistencia de GLY y AMPA .....	234
7.2	Concentraciones de GLY y AMPA .....	237
7.2.1	Toxicidad de glifosato en sedimentos .....	240
7.3	Los no resultados también son resultados: ausencia de glufosinato.....	241
7.4	Importancia de los arroyos chicos.....	245
8.	Conclusiones.....	250
	Bibliografía .....	254
	Anexo.....	275

## Producción científica

Al momento de la presentación, los resultados de este trabajo de tesis han dado origen a las siguientes publicaciones:

### Relacionados con la tesis

Mac Loughlin, T. M., Peluso, L., & Marino, D. J. G. (2017). Pesticide impact study in the peri-urban horticultural area of Gran La Plata, Argentina. *Science of the Total Environment*, 598, 572–580. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.116>

Mac Loughlin, T. M., Peluso, M. L., Aparicio, V. C., & Marino, D. J. G. (2020). Contribution of Soluble and Particulate-Matter Fractions to the Total Glyphosate and AMPA Load in Water Bodies Associated with Horticulture. *Science of the Total Environment*, 703, 134717. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134717>

Mac Loughlin, T. M., Peluso, L., & Marino, D. J. G. (202X). Multiple pesticides occurrence, fate and environmental risk assessment in a small horticultural stream of Argentina. *Science of the Total Environment*. *Enviado*.

### Otras contribuciones

Mac Loughlin, T. M., Peluso, M. L., Etchegoyen, M. A., Alonso, L. L., de Castro, M. C., Percudani, M. C., & Marino, D. J. G. (2018). Pesticide residues in fruits and vegetables of the argentine domestic market: Occurrence and quality. *Food Control*, 93 (November), 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.041>

Sansiñena, J. A., Peluso, M. L., Salgado, C., Demetrio, P. M., Mac Loughlin, T. M., Marino, D. J. G., ... Natale, G. S. (2018). Evaluation of the toxicity of the sediments from an agroecosystem to two native species, *Hyaella curvispina* (CRUSTACEA: AMPHIPODA) and *Boana pulchella* (AMPHIBIA: ANURA), as potential environmental indicators. *Ecological Indicators*, 93(March), 100–110. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.04.061>

Martinuzzi, C. S., Attademo, A. M., Peltzer, P. M., Mac Loughlin, T. M., Marino, D. J. G., & Lajmanovich, R. C. (2019). Comparative Toxicity of Two Different Dimethoate Formulations in the Common Toad (*Rhinella arenarum*) Tadpoles. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, (Peakall 1996), 2–7. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02741-8>

Bernasconi, C., Demetrio, P. M., Alonso, L. L., Mac Loughlin, T. M., Cerdá, E., Sarandón, S., & Marino, D. J. G. (2021). Evidence for soil pesticide contamination of an agroecological farm from a neighboring chemical-based production system. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 313(July 2020). <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107341>

## **En actas de congresos**

### **Internacionales**

Título del trabajo: Environmental distribution of pesticides associated with horticultural production in a small watercourse

Autores: T. M. Mac Loughlin; D. J. G. Marino; M. L. Peluso

Evento: 12th SETAC Latin America Biennial Meeting

Tipo Reunión Científica: Congreso

Lugar y fecha: Santos, Sao Paulo, Brazil. Septiembre 2017

Modalidad: Poster

Título del trabajo: La problemática de los Plaguicidas en Argentina, un resumen de las investigaciones de los últimos cinco años

Autores: Peluso, M.L.; Bernasconi, C.; Mac Loughlin, T.; Alonso, L.; ...; Marino, D.J.

Evento: I Seminário Internacional e III Seminário Nacional: Agrotóxicos, Impactos Socioambientais e Direitos Humanos

Tipo Reunión Científica: Seminario

Lugar y fecha: Goiás, Brasil. Diciembre 2018

Modalidad: Comunicación oral

Título del trabajo: Pesticide occurrence in a watercourse impacted by intensive horticultural production in the outskirts of La Plata, Argentina

Autores: Tomás Mac Loughlin, Ma. Leticia Peluso, Damián J. G. Marino

Evento: 8th Young Environmental Scientists Meeting

Tipo Reunión Científica: Congreso

Lugar y fecha: Gante, Bélgica. Febrero 2019

Modalidad: Poster

Título del trabajo: Risk for aquatic species associated with the presence of pesticides resulting from horticultural activity: Carnaval creek as a case study

Autores: Tomás Mac Loughlin, Leticia Peluso, Damián Marino

Evento: SETAC Latin America 13th Biennial Meeting

Tipo Reunión Científica: Congreso

Lugar y fecha: Cartagena, Colombia. Septiembre 2019

Modalidad: Poster

Título del trabajo: Impacto de la actividad agrícola y ganadera en la cuenca del río Gualeguay, Entre Ríos, Argentina

Autores: Mac Loughlin, T. M., Alonso, L. L., Peluso, M. L., Marino, D. J. G.

Evento: XIV Simpósio Latino-Americano de Química Analítica Ambiental

Tipo Reunión Científica: Congreso

Lugar y fecha: Bento Gonçalves, Brasil. Noviembre 2019

Modalidad: Poster

## Nacionales

Título del trabajo: Distribución y toxicidad de plaguicidas en aguas y sedimentos de fondo en arroyos de la Provincia de Buenos Aires bajo influencia agrícola

Autores: Mac Loughlin, T., Peluso, M.L., Marino, D.

Evento: VI Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental SETAC Argentina

Tipo Reunión Científica: Congreso

Lugar y fecha: Córdoba, Argentina. Octubre 2016

Modalidad: Poster

Título del trabajo: Impacto de la actividad horticultura sobre cursos de aguas periurbanos del Gran La Plata

Autores: Mac Loughlin, T. M.; Peluso, M. L.; Marino, D. J. G.

Evento: Periurbanos hacia el consenso. Ciudad, ambiente y producción: propuestas para reordenar el territorio.

Tipo Reunión Científica: Reunión Científica

Lugar y fecha: Córdoba, Argentina. Septiembre 2017

Modalidad: Poster

Título del trabajo: Evaluación ecotoxicológica de sedimentos de fondo de cuerpos de agua impactados por horticultura en la región del Gran La Plata

Autores: Mac Loughlin, Tomás M.; Marino, Damián J. G.; Peluso, Ma. Leticia

Evento: XX Congreso Argentino de Toxicología

Tipo Reunión Científica: Congreso

Lugar y fecha: Santa Fe, Argentina. Septiembre 2017

Modalidad: Poster

Título del trabajo: Distribución ambiental de glifosato y AMPA en cuerpos de agua bajo influencia hortícola

Autores: Tomás Mac Loughlin, Ma. Leticia Peluso, Damián J. G. Marino

Evento: VII Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental SETAC Argentina

Tipo Reunión Científica: Congreso

Lugar y fecha: San Luis, Argentina. Octubre 2018

Modalidad: Poster

## Resumen

La agricultura es uno de los pilares fundamentales de la economía argentina. Con la introducción de los organismos genéticamente modificados se desencadenó un cambio en la forma de producción y en las tecnologías empleadas: hoy en día, la producción se basa en paquetes tecnológicos que incluyen semillas transgénicas, plaguicidas y la siembra directa. Los plaguicidas aplicados sobre el cultivo y/o el suelo pueden ser movilizados hacia cuerpos de agua cercanos, donde dinámicas de distribución muy complejas tienen lugar, donde los plaguicidas presentan equilibrios de sorción/desorción sobre las partículas en suspensión, o pueden depositarse y pasar a formar parte de los sedimentos de fondo, siendo este último compartimiento un importante sumidero para estos compuestos y, consecuentemente, puede utilizarse como una medida integrada en el tiempo de los plaguicidas que ingresaron al sistema.

El objetivo de la presente tesis es evaluar las concentraciones ambientales de plaguicidas asociados a distintos tipos de prácticas agrícolas, y su relación con factores climáticos y estacionales en cuerpos de agua inmersos en zonas con actividades agro-productivas, así como sus efectos ecotoxicológicos sobre la fauna bentónica.

Se seleccionaron como sitios de muestreo cuencas hidrológicas que presenten distintos tipos de usos del suelo respecto a la actividad agrícola allí llevada a cabo: la cuenca del arroyo Carnaval, ubicada en la periferia de la ciudad de La Plata, y la cuenca del río Gualeguay, en la provincia de Entre Ríos. Estos cuerpos de agua se encuentran impactados por actividades marcadamente distintas: en la periferia de La Plata se encuentra una de las zonas de producción hortícola de mayor importancia del país, mientras que en Entre Ríos, la mayor parte de su área geográfica se encuentra sembrada por cultivos extensivos como soja y maíz. En cada campaña de muestreo se recolectaron muestras de agua superficial, material particulado sedimentable y sedimento de fondo. Más de 40 plaguicidas y metabolitos fueron analizados en cada matriz ambiental, por técnicas de cromatografía líquida y gaseosa acopladas a espectrometría de masas.

El sistema de producción hortícola depende en gran medida de los plaguicidas. El régimen de uso está influenciado principalmente por las diferentes amenazas que enfrentan las hortalizas

que se producen, sumado a que en cada unidad de producción tiene múltiples cultivos que se producen simultáneamente. En consecuencia, existe una gran variedad y carga de plaguicidas que se aplican en la horticultura durante todo el año. El arroyo Carnaval constituye una cuenca suburbana ubicada en el Cordón Hortícola Platense. En la parte superior y media de la cuenca, las principales actividades de uso de la tierra son la horticultura y la floricultura. Las concentraciones de plaguicidas excedieron las anteriormente reportadas en Argentina y otras partes del mundo, un reflejo de la dependencia de plaguicidas en la producción hortícola en la región estudiada. Al mismo tiempo, la ocurrencia de glifosato y AMPA en una cuenca rodeada por horticultura expone que este herbicida ya no se usa exclusivamente en cultivos resistentes tal como fuera su objeto de comercialización. Las concentraciones de plaguicidas en agua superficial, principalmente de insecticidas, se encontraron por encima de los respectivos niveles guía de calidad de agua ambiente para la protección de la biota acuática, y representaron un riesgo de medio a muy alto para la biota acuática según la Evaluación de Riesgo Ambiental realizada.

Las demandas de mercado y el avance de la tecnología agropecuaria han conducido a la homogeneización del paisaje agrícola. En particular, la superficie implantada de soja se ha incrementado exponencialmente, como resultado de la aptitud de los biomas de nuestro país, el precio creciente de este *commodity* en los mercados y los altos rendimientos de las variedades genéticamente modificadas. Este aumento en la producción conlleva un incremento en la cantidad de plaguicidas utilizados. La cuenca del río Gualeguay nace al norte de la provincia de Entre Ríos y la recorre de norte a sur por 486 km hacia su desembocadura en el río Paraná. Se escogieron puntos de muestro tanto sobre el curso principal del río Gualeguay, así como en afluentes de este para investigar la movilización de plaguicidas desde los campos hacia arroyos como receptores primarios y luego hacia el curso principal. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de glifosato y AMPA en aguas superficiales y sedimentos de fondo de los sitios de muestreo en arroyos afluentes y aquellos sobre el curso principal del río Gualeguay. Atrazina también fue frecuentemente detectada en muestras de agua, nuevamente, sin diferencias respecto del nivel del curso.

Los coeficientes de reparto calculados en entornos naturales reafirman que el glifosato y AMPA tienen una afinidad por la fracción particulada. A pesar de dicha tendencia en su

reparto, en los cuerpos de agua estudiados, la fracción soluble representó el principal aporte a la concentración total en agua, representando en promedio más del 90% de ese valor, poniendo en evidencia el potencial de movilidad de estas moléculas. En base a las ocurrencias y concentraciones con las que se encontró glifosato y AMPA en las matrices analizadas, y en ambos sistemas de producción, es que se propone al glifosato como un contaminante *pseudo persistente* de los sistemas acuáticos asociados a actividades agro-productivas.

Los ensayos de toxicidad proporcionan evidencia directa y cuantificable de las respuestas biológicas de los contaminantes presentes en el sedimento. Se realizaron bioensayos de toxicidad estandarizados con los sedimentos de fondo recolectados del Cordón Hortícola Platense y cuenca del río Gualeguay, exponiendo individuos del anfípodo autóctono *Hyaella curvispina* al sedimento completo. Los puntos finales medidos fueron supervivencia (efecto letal) e inhibición del crecimiento (efecto subletal). Escenarios de mortalidad de todos los organismos de ensayo se dieron en los sitios ubicados en el centro de la actividad del Cordón Hortícola Platense. Fue posible relacionar la mortalidad observada de los organismos de ensayo con la ocurrencia de insecticidas en los sedimentos de fondo, frecuentemente detectados en el arroyo Carnaval, lo que indica que la horticultura pone en riesgo a la comunidad bentónica de los cuerpos de agua asociados a esta actividad productiva. Los bioensayos de toxicidad sobre sedimento completo resultaron ser una valiosa herramienta bioanalítica, logrando así complementar la información obtenida del análisis químico.

## Abstract

Agriculture is one of the fundamental pillars of the Argentine economy. With the introduction of genetically modified organisms, a change was initiated in the form of production and in the technologies used: today, production is based on technological packages that include transgenic seeds, pesticides and direct sowing. The pesticides applied on the crop and/or the soil can be mobilized towards nearby waterbodies, where very complex distribution dynamics take place, in which the pesticides present sorption/desorption equilibria on the suspended particles, or they can be deposited to form part of the bottom sediments, this last compartment being an important sink for these type of compounds and, consequently, can be used as an integrated measure of the pesticides that entered the system over time.

The objective of this thesis is to evaluate the environmental concentrations of pesticides associated with different types of agricultural practices, and their relationship with climatic and seasonal factors in waterbodies immersed in areas with agro-productive activities, as well as their ecotoxicological effects on the benthic fauna.

Hydrological basins that present different types of land uses with respect to the agricultural activity carried out there were selected as sampling sites: the Carnaval stream basin, located on the outskirts of the city of La Plata, and the Gualeguay river basin, in the province of Entre Ríos. These waterbodies are impacted by markedly different activities: on the periphery of La Plata is one of the most important horticultural production areas in the country, while in Entre Ríos, most of its geographical area is planted by extensive crops such as soybeans and corn. In each sampling campaign, samples of surface water, suspended particulate material and bottom sediment were collected. More than 40 pesticides and metabolites were analyzed in each environmental matrix, by liquid and gas chromatography techniques coupled to mass spectrometry.

Horticultural production is highly dependent on pesticides. The regime of use is mainly influenced by the different threats faced by the vegetables that are produced, added to the fact that each production unit has multiple crops being produced simultaneously. Consequently, there is a great variety and load of pesticides applied in horticulture throughout the year. The Carnaval Creek constitutes a suburban basin located in the *Cordón*

*Hortícola Platense*. In the upper and middle part of the basin, the main land use activities are horticulture and floriculture. Pesticide concentrations exceeded those previously reported in Argentina and other parts of the world, a reflection of the dependence on pesticides in horticultural production in the studied region. At the same time, the occurrence of glyphosate and AMPA in a basin surrounded by horticulture shows that this herbicide is no longer used exclusively in resistant crops as it was intended for commercialization. The concentrations of pesticides in surface water, mainly insecticides, were found above the respective water quality guidelines for the protection of aquatic life and represented a medium to very high risk for aquatic biota according to the Evaluation of Environmental Risk carried out.

Market demands and the advancement of agricultural technology have led to the homogenization of the agricultural landscape. In particular, the area planted with soybeans has increased exponentially, as a result of the fitness of the biomes of our country, the increasing price of this commodity in the markets, and the high yields of genetically modified varieties. This increase in production leads to an increase in the amounts of pesticides applied. The Gualeguay River basin originates in the north of the province of Entre Ríos and runs from north to south for 486 km towards its mouth in the Paraná River. Sampling points were chosen both on the main course of the Gualeguay River, as well as on its tributaries, to investigate the mobilization of pesticides from the fields to streams as primary receptors and then to the main course. No statistically significant differences were found between glyphosate and AMPA concentrations in surface waters and bottom sediments from the sampling sites in tributary streams and those on the main course. Atrazine was also frequently detected in water samples, again, with no differences between the course levels.

The partition coefficients calculated in natural environments reaffirm that glyphosate and AMPA have an affinity for the particulate fraction. Despite this trend in its distribution, in the studied waterbodies, the soluble fraction was the main contributor to the whole water concentration, representing on average more than 90% of that value, highlighting the mobility potential of these molecules. Based on the occurrences and concentrations with which glyphosate and AMPA were found in the matrices analyzed, and in both production systems, glyphosate is proposed as a *pseudo persistent* pollutant of aquatic systems associated with agro-productive activities.

Toxicity tests provide direct and quantifiable evidence of the biological responses of contaminants present in the sediment. Standardized toxicity bioassays were performed with the bottom sediments collected from the Carnaval Creek and the Gualeguay River basin, exposing individuals of the autochthonous amphipod *Hyaella curvispina* to the whole sediment. The end points measured were survival (lethal effect) and growth inhibition (sublethal effect). Mortality scenarios of all the test organisms occurred in the sites located in the center of the activity of the *Cordón Hortícola Platense*. It was possible to correlate the observed mortality of the test organisms with the occurrence of insecticides in the bottom sediments, frequently detected in the Carnaval Creek, which indicates that horticulture puts the benthic community of associated waterbodies with this activity at risk. The bioassays of toxicity on whole sediment turned out to be a valuable bioanalytical tool, thus managing to complement the information obtained from the chemical analysis of pesticides.

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN

## 1. Introducción

La agricultura es uno de los pilares fundamentales de la economía argentina. Desde la década de los años 90, con la introducción de los organismos genéticamente modificados, resistentes a distintos factores adversos para los cultivos, como plagas o sequía, se desencadenó un cambio en la forma de producción y la tecnología empleada (Carrasco et al., 2012). Es así, que hoy en día la producción se basa en paquetes tecnológicos, que incluyen semillas transgénicas, plaguicidas y el proceso de siembra directa. Las demandas de mercado y el avance de la tecnología agropecuaria han conducido a la homogeneización del paisaje agrícola (Aizen et al., 2009). En particular, la superficie implantada de soja se ha incrementado exponencialmente, tal como se muestra en la **Figura 1.1**, resultado de: la aptitud de muchos de los biomas de nuestro país para este cultivo, el precio creciente de este producto en los mercados internacionales y los altos rendimientos de las variedades genéticamente modificadas (Donald, 2004). Este aumento en la producción conlleva un incremento proporcional en la cantidad de plaguicidas utilizados.

En las últimas tres décadas, al mismo tiempo que se expandió la frontera soja y el uso de variedades transgénicas, el consumo de plaguicidas aumentó más de un 800% (**Figura 1.2**), mientras que la superficie cultivada lo hizo en un 50% y el rendimiento de los cultivos sólo en un 30% (CASAFE, 2012). Esto se debe a que los monocultivos y la aplicación continua, incluyendo las aplicaciones preventivas, de plaguicidas pueden llevar a la generación de resistencia en los organismos que se pretenden controlar (Heap, 2014). En consecuencia, este bucle de retroalimentación conduce al uso de dosis más altas y/o autorización de nuevos ingredientes activos y formulaciones con uno o mezcla de activos.

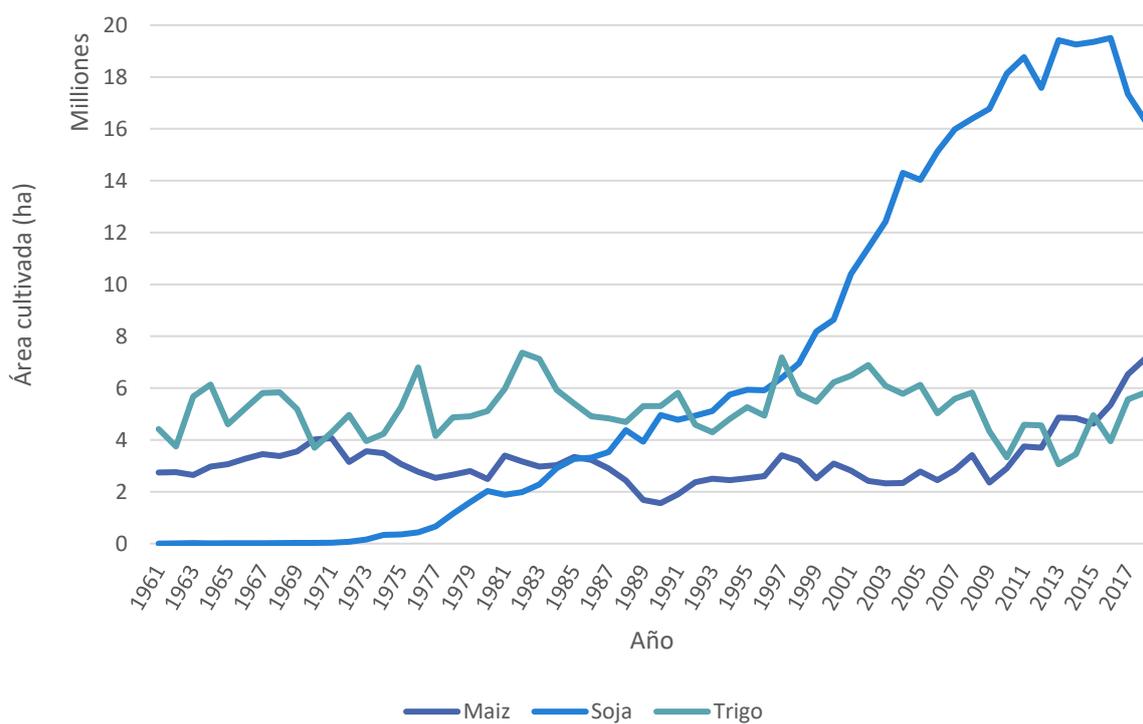


Figura 1.1. Superficie cultivada de maíz, soja y trigo en Argentina. Elaboración propia. Fuente: FAOSTAT.

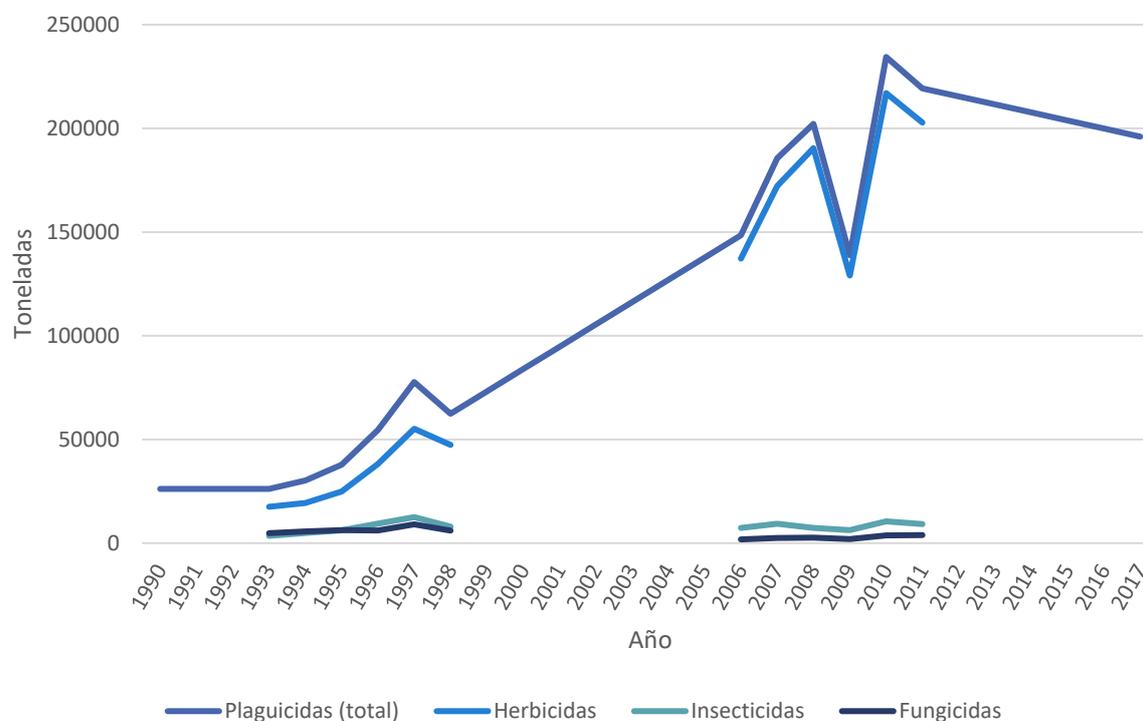
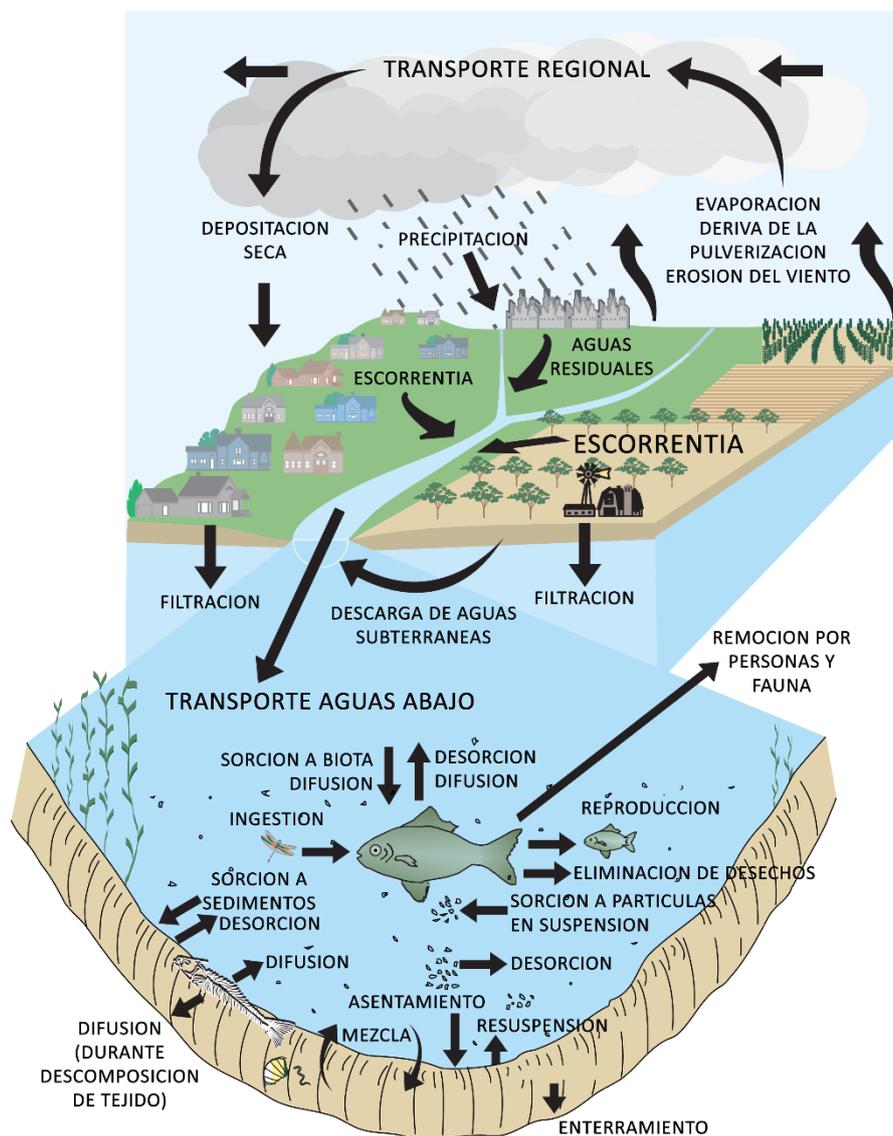


Figura 1.2. Cantidad de plaguicidas utilizados en Argentina. Elaboración propia. Fuente: FAOSTAT.

## 1.1 Distribución ambiental de plaguicidas

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (*Food and Agriculture Organization*, FAO), en su publicación titulada *Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas* (FAO, 2014), ha definido a los plaguicidas como: “cualquier sustancia o mezcla de sustancias con ingredientes químicos o biológicos destinados a repeler, destruir o controlar cualquier plaga o a regular el crecimiento de las plantas”. Los plaguicidas pueden clasificarse de distintas formas, entre ellas, según los organismos blanco: herbicidas, insecticidas, fungicidas; o por el tipo de molécula o grupos funcionales, como plaguicidas organoclorados, organofosforados, triazinas, por nombrar algunas. Al tratarse de un universo de compuestos resulta conveniente agruparlos de acuerdo con la familia química a la cual pertenecen para estudiar sus propiedades fisicoquímicas y trazar generalidades en su comportamiento y distribución ambiental.

Las características externas que condicionan la dinámica ambiental de los plaguicidas, esto es, el ingreso al suelo y la consecuente movilidad hacia otras esferas ambientales como hidrosfera, atmósfera y biosfera, se relacionan fundamentalmente con la naturaleza del suelo, el clima, las labores agrícolas y la topografía del terreno (Loewy, 2011). Estos factores son más relevantes que las propiedades fisicoquímicas al momento de determinar el potencial de escorrentía de un compuesto (Larson et al., 1995, 1997) y, por ende, la transferencia entre esferas ambientales. De esta manera, las propiedades fisicoquímicas y las características del medio son los factores principales que condicionan la movilidad intra e interfase de los plaguicidas. En la **Figura 1.3** se muestra un esquema de los diversos procesos fisicoquímicos asociados a la dinámica de plaguicidas en el ambiente considerando como fuente al sistema suelo.



*Figura 1.3. Dinámica ambiental de plaguicidas.  
Adaptado de: USGS (1999).*

Desde el punto de vista de su uso, los plaguicidas son generalmente aplicados en solución acuosa con la técnica de "pulverizado" sobre el cultivo y/o el suelo. Algunas veces se incorporan directamente al suelo (polvos para espolvoreo, gránulos) o a través del tratamiento de la semilla como práctica de pre-siembra. Con frecuencia, sólo una pequeña parte del plaguicida aplicado alcanza a la especie blanco, aproximadamente 0,1% (Pimentel, 1995). Esta deriva al momento de aplicación (primaria), es una fuente de preocupación por el potencial impacto sobre la salud humana, la contaminación de cultivos cercanos, la afectación

del ganado y puesta en peligro de recursos ecológicos sensibles (Bird et al., 1996). Los plaguicidas aplicados pueden volatilizarse, ingresar a cursos de agua superficial o subterráneas por escorrentía o percolación, ser incorporados por plantas u organismos del suelo, o permanecer retenidos en el suelo (Miglioranza et al., 2002).

La escorrentía superficial, influenciada por las lluvias, es una de las principales fuentes de contaminación difusa por plaguicidas en cursos de agua superficial (Jergentz et al., 2005). Esta dinámica de escorrentía puede aportar plaguicidas tanto en la fase soluble como en la particulada proveniente de las partículas de suelo que se desprenden por efecto de la erosión hídrica (Kronvang et al., 2004). Un ejemplo de este tipo de interacción lo presenta el glifosato, que se transporta preferentemente sorbido al material particulado *versus* la fracción soluble (Aparicio et al., 2013; Battaglin et al., 2014; Primost et al., 2017; Ronco et al., 2016).

Una vez que los compuestos alcanzan al cuerpo de agua receptor, se genera una dinámica muy compleja donde los plaguicidas presentan equilibrios de sorción/desorción sobre las partículas en suspensión, o pueden depositarse y pasar a formar parte de los sedimentos de fondo, donde a su vez pueden repartirse entre el sólido y el agua intersticial. La fase sedimentaria constituye un importante sumidero para estos compuestos y consecuentemente, esta matriz ambiental, puede utilizarse como una medida integrada en el tiempo de los plaguicidas que ingresan al sistema (Ccanccapa et al., 2016; de Castro-Català et al., 2016; Friberg et al., 2003; Ronco et al., 2016).

Los coeficientes de partición pueden ser utilizados como indicadores/estimadores del destino ambiental de una sustancia química, ya que da una idea general de cómo se distribuirá en el mismo. Este coeficiente se define como la relación de concentraciones en equilibrio, a una

temperatura dada, de una sustancia disuelta en un sistema de dos fases de igual o distinta naturaleza física (OECD, 2004). En lo que respecta al ambiente, el coeficiente de partición n-octanol-agua ( $K_{OW}$ , **Ecuación 1.1**) para compuestos orgánicos se ha convertido en un parámetro clave en la predicción de destinos ambientales (Finizio et al., 1997).

$$K_{OW} = \frac{\text{Concentración en fase n - octanol}}{\text{Concentración en fase acuosa}}$$

*Ecuación 1.1. Cálculo del coeficiente de partición octanol-agua.*

El n-octanol representa una sustancia modelo para lípidos y en consecuencia da una aproximación del coeficiente de partición biótico-agua (Noble, 1993). En general, un  $K_{OW}$  alto significa que el plaguicida tiende a estar en un ambiente no-polar, y no en agua. Gran parte de los plaguicidas son hidrofóbicos, por lo que tienden a acumularse en el suelo y/o sedimentos, o en los tejidos de organismos. Entonces, mediante el  $K_{OW}$  es posible estimar o predecir el destino ambiental de un compuesto químico en el ambiente (Linde, 1994). Este parámetro fisicoquímico es utilizado como descriptor para modelos de predicción de la distribución entre compartimentos ambientales y en ecuaciones para estimar la bioconcentración y bioacumulación en animales y plantas.

Complementario al  $K_{OW}$ , el coeficiente de partición  $K_d$  (**Ecuación 1.2**) también describe el destino ambiental de compuestos orgánicos en ambientes acuáticos dando una medida del reparto entre las fracciones disuelta y sorbida del medio físico (Ogbeide et al., 2018; Xu et al., 2009).

$$K_d = \frac{\text{Concentración en fase sorbida}}{\text{Concentración en fase acuosa}}$$

*Ecuación 1.2. Cálculo del coeficiente de partición  $K_d$ .*

Esta relación, originalmente aplicada a suelos, puede extrapolarse a otras matrices sólidas como el material particulado en suspensión (MPS) y sedimentos. Sin embargo, el alto grado de variabilidad y complejidad de la composición de estas matrices sólidas y las potenciales interacciones de sorción dificultan la posibilidad de desarrollar un procedimiento sistemático y simple (O'Connor & Connolly, 1980).

El modelo de reparto aplicado a la  $K_d$  está basado en respuestas hidrofóbicas, donde los compuestos orgánicos se asocian con mayor fuerza al carbono orgánico presente, por lo que su distribución puede ser modelada usando un coeficiente de partición entre carbono orgánico y agua. Para ello, se genera un nuevo coeficiente normalizado respecto del contenido de carbono orgánico:  $K_{oc}$  (**Ecuación 1.3**).

$$K_{oc} = \left( \frac{K_d}{\%C_{org}} \right) \times 100$$

*Ecuación 1.3. Cálculo del coeficiente normalizado por el contenido de carbono orgánico.*

De esta manera, el  $K_{ow}$  es una constante que permite comprender las interacciones/reparto entre el agua y los sistemas biológicos, la  $K_d$ , que fue definido para suelos, por sus características puede extenderse a otros sistemas de interés ambiental como son en términos generales los sólidos-agua dentro de cuerpos de aguas superficiales. Como en ambos casos se tratan de constantes de equilibrio, la temperatura es una variable del ambiente importante que puede influir en estos procesos de reparto (Loewy, 2011).

## 1.2 Niveles ambientales

Los plaguicidas han sido ampliamente estudiados en distintos lugares del mundo y el producto de estos monitoreos ha evidenciado su presencia en todas las esferas ambientales. A continuación, se presentan a modo de resumen tablas que muestran dichas concentraciones para los distintos plaguicidas estudiados en el presente trabajo de tesis, tanto en Argentina como en otros países del mundo.

En la **Tabla 1.1** se listan las concentraciones de plaguicidas en agua. En comparación, la fracción particulada no es tan frecuentemente estudiada, por lo que hay pocos reportes de concentraciones de plaguicidas, las cuales se resumen en la **Tabla 1.2**. Finalmente, las concentraciones de plaguicidas cuantificadas en sedimentos se presentan en la **Tabla 1.3**.

*Tabla 1.1. Concentraciones ambientales de compuestos analizados en agua.*

Compuesto (tipo)	Frecuencia de detección	Concentración promedio (mín.-máx.)	Unidad	Lugar	Referencia
<b>GLIFOSATO</b> (herbicida)	52,5% (791/1508)	0,03 (máx. 73)	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Estados Unidos	(Battaglin et al., 2014)
	27% (3/11)	$0,73 \pm 0,65$	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Entre Ríos, Argentina	(Primost et al., 2017)
	15%	[Abr-2012] (DNC-4,0) [Ago-2012] (1,7-3,6) [Sep-2012] (DNC-7,6)	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Buenos Aires, Argentina	(Aparicio et al., 2013)
	15%	0,6 (0,4-1,2)	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Cuenca del río Paraná, Argentina	(Ronco et al., 2016)
<b>AMPA</b> (herbicida)	71,6% (1079/1508)	0,20 (máx. 28)	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Estados Unidos	(Battaglin et al., 2014)
	55% (6/11)	$0,53 \pm 0,48$	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Entre Ríos, Argentina	(Primost et al., 2017)
	12%	[Abr-2012] (DNC-2,3) [Ago-2012] (DNC-0,8)	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Buenos Aires, Argentina	(Aparicio et al., 2013)
	ND	ND	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Cuenca del río Paraná, Argentina	(Ronco et al., 2016)
<b>ACETOCLOR</b> (herbicida)		Anual 4,7 (0,5-30,5) Baja 5,1 (0,1-17,0) Alta 4,4 (0,5-30,5)	$\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	Río Suquía, Córdoba, Argentina	(Bonansea et al., 2013)

Compuesto (tipo)	Frecuencia de detección	Concentración promedio (mín.-máx.)	Unidad	Lugar	Referencia
<b>ATRAZINA</b> (herbicida)		Anual 33,4 (<LD-433,9) Baja 25,5 (<LD-189,7) Alta 64,2 (4,8-433,9)	ng·L <sup>-1</sup>	Río Suquía, Córdoba, Argentina	(Bonansea et al., 2013)
	[2010] 20%	1,99 (8,13-12,22)	ng·L <sup>-1</sup>	Río Ebro, Norte de España	(Ccanccapa et al., 2016)
	ND	ND	ng·L <sup>-1</sup>	Río Ebro, Norte de España	(Ccanccapa et al., 2016)
	100%	1,02 (0,64-1,4)	µg·L <sup>-1</sup>	Buenos Aires, Argentina	(De Gerónimo et al., 2014)
	29%	0,074 (máx. 0,333)	µg·L <sup>-1</sup>	España	(Herrero-Hernández et al., 2013)
	22%	0,02	µg·L <sup>-1</sup>	Suecia	(Kreuger et al., 2010)
	53% (n=60)	14,7 (máx. 132)	ng·L <sup>-1</sup>	Estados Unidos	(Reilly et al., 2012)
<b>AZOXISTROBINA</b> (fungicida)	67% (12/18)	3,03 (0,05-29,7)	µg·L <sup>-1</sup>	Alemania	(Berenzen et al., 2005)
	13%	0,493 (máx. 0,943)	µg·L <sup>-1</sup>	España	(Herrero-Hernández et al., 2013)
	50%	Máximo 3,9	µg·L <sup>-1</sup>	Suecia	(Kreuger et al., 2010)
	58	30,6 (máx. 59,8)	ng·L <sup>-1</sup>	Estados Unidos	(Reilly et al., 2012)
		0,79 (0,03-3,2)	µg·L <sup>-1</sup>	Noruega	(Roseth & Haarstad, 2010)
	4% (n=96)	0,02 (0,005-0,027)	µg·L <sup>-1</sup>	Australia	(Wightwick et al., 2012)
<b>BIFENTRINA</b> (insecticida)	12%	Máximo 5,8	ng·L <sup>-1</sup>	Estados Unidos	(Weston & Lydy, 2010b)
<b>CLORPIRIFOS</b> (insecticida)		Anual 1,8 (2,5-5,6) Baja 2,3 (2,7-5,5) Alta 2,5 (2,2-5,6)	ng·L <sup>-1</sup>	Río Suquía, Córdoba, Argentina	(Bonansea et al., 2013)
	[2010] 95%	5,97 (2,64-16,40)	ng·L <sup>-1</sup>	Río Ebro, Norte de España	(Ccanccapa et al., 2016)
	[2011] 20%	0,32 (1,01-2,86)	ng·L <sup>-1</sup>	Río Ebro, Norte de España	(Ccanccapa et al., 2016)
	[2010] ≈50% [2012] 100%	0,02 (0,01-0,03) 0,11 (0,04-0,47)	µg·L <sup>-1</sup>	Cuenca del río Paraná, Argentina	(Etchegoyen et al., 2017)
	9%	0,072 (máx. 0,128)	µg·L <sup>-1</sup>	España	(Herrero-Hernández et al., 2013)

Compuesto (tipo)	Frecuencia de detección	Concentración promedio (mín.-máx.)	Unidad	Lugar	Referencia
<b>CLORPIRIFOS</b> (insecticida)		Concentraciones traza	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Suecia	(Kreuger et al., 2010)
		0,15 (0,02-1,90)	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Sur de Australia	(Oliver et al., 2012)
	25%	3,3 (máx. 65,0)	$\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	Estados Unidos	(Reilly et al., 2012)
		DNC-10,8	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Buenos Aires, Argentina	(Marino & Ronco, 2005)
	100%	15,44 (12,49-23,74)	$\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	Río Dongjiang, Sur de China	(Chen et al., 2018)
	72%	Máximo 226	$\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	Estados Unidos	(Weston & Lydy, 2010b)
<b>CIPERMETRINA</b> (insecticida)	[2010] $\approx$ 25% [2012] 100%	0,24 (0,23-0,25) 0,74 (0,01-6,62)	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Cuenca del río Paraná, Argentina	(Etchegoyen et al., 2017)
		DNC	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Suecia	(Kreuger et al., 2010)
		[2008] 5,79-30,4 [2009] 0,73-57,2	$\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	Río Ebro, Norte de España	(Feo et al., 2010)
		DNC-3,55	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Buenos Aires, Argentina	(Marino & Ronco, 2005)
	100%	40,42 (34,32-49,58)	$\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	Río Dongjiang, Sur de China	(Chen et al., 2018)
		A 31,5 (<LD-121,7) L 21,3 (<LD-91,6) H 41,8 (<LD-121,7)	$\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	Río Suquía, Córdoba, Argentina	(Bonansea et al., 2013)
<b>DELTAMETRINA</b> (insecticida)		[2009] 2-58,78	$\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	Río Ebro, Norte de España	(Feo et al., 2010)
		1070,4 (19,6-4247,9)	$\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	Río Duero, Portugal	(Cruzeiro et al., 2017)
	100%	8,66 (2,24-44,04)	$\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	Río Dongjiang, Sur de China	(Chen et al., 2018)
<b>ENDOSULFAN</b> (insecticida)		Anual 0,7 (<LD-9,2) Baja 2,0 (<LD-9,2) Alta 0,8 (<LD-4,9)	$\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	Río Suquía, Córdoba, Argentina	(Bonansea et al., 2013)
	[2010] $\approx$ 50%	0,20 (0,10-0,31)	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Cuenca del río Paraná, Argentina	(Etchegoyen et al., 2017)
	[2012] $\approx$ 90%	0,12 (0,01-4,26)	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Cuenca del río Paraná, Argentina	(Etchegoyen et al., 2017)
<b>EPOXICONAZOL</b> (fungicida)	50% (9/18)	0,52 (0,05-2,7)	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Alemania	(Berenzen et al., 2005)
	45%	0,037 (0,025-0,050)	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Buenos Aires, Argentina	(De Gerónimo et al., 2014)

Compuesto (tipo)	Frecuencia de detección	Concentración promedio (mín.-máx.)	Unidad	Lugar	Referencia
<b>λ-CIALOTRINA</b> (insecticida)		2,4 (3,4-59,2)	ng·L <sup>-1</sup>	Río Duero, Portugal	(Cruzeiro et al., 2017)
	100%	13,65 (9,31-18,10)	ng·L <sup>-1</sup>	Río Dongjiang, Sur de China	(Chen et al., 2018)
	11%	Máximo 17,5	ng·L <sup>-1</sup>	Estados Unidos	(Weston & Lydy, 2010b)
<b>TEBUCONAZOL</b> (fungicida)	44% (8/18)	1,56 (0,05-9,1)	μg·L <sup>-1</sup>	Alemania	(Berenzen et al., 2005)
	[2011] 33%	2,36 (1,66-15,38)	ng·L <sup>-1</sup>	Río Ebro, Norte de España	(Ccanccapa et al., 2016)
	91%	0,033 (0,030-0,035)	μg·L <sup>-1</sup>	Buenos Aires, Argentina	(De Gerónimo et al., 2014)
	79%	0,122 (máx. 3,236)	μg·L <sup>-1</sup>	Zona de viñedos, España	(Herrero-Hernández et al., 2013)
	4%	0,03 (0,009-0,044)	μg·L <sup>-1</sup>	Australia	(Wightwick et al., 2012)
<b>TRIFLURALINA</b> (herbicida)	13%	0,8 (máx. 2,1)	ng·L <sup>-1</sup>	Estados Unidos	(Reilly et al., 2012)

<LD: Debajo del límite de detección; DNC: Detectable no cuantificable; ND: No detectado.

Tabla 1.2. Concentraciones de plaguicidas en material particulado en suspensión (MPS).

Compuesto	Frecuencia de detección	Concentración promedio (mín.-máx.)	Unidad	Lugar	Referencia
<b>GLIFOSATO</b> (herbicida)	20%	0,10 (0,03-0,21)	μg·L <sup>-1</sup>	Cuenca del río Paraná, Argentina	(Ronco et al., 2016)
	67%	[Abr-2012] (4,9-562,8) [Ago-2012] (1,1-298,4) [Sep-2012] (0,6-94,8)	μg·kg <sup>-1</sup>	Buenos Aires, Argentina	(Aparicio et al., 2013)
	100% (9/9)	340,2 ± 57,6 0,049 ± 0,009	μg·kg <sup>-1</sup> μg·L <sup>-1</sup>	Entre Ríos, Argentina	(Primost et al., 2017)
<b>AMPA</b> (herbicida)	4%	0,04	μg·L <sup>-1</sup>	Cuenca del río Paraná, Argentina	(Ronco et al., 2016)
<b>AMPA</b> (herbicida)	20%	[Abr-2012] (4,0-118,7) [Ago-2012] (2,2-210,4) [Sep-2012] (1,1-46,7)	μg·kg <sup>-1</sup>	Buenos Aires, Argentina	(Aparicio et al., 2013)
	100% (9/9)	223,2 ± 43,3	μg·kg <sup>-1</sup>	Entre Ríos, Argentina	(Primost et al., 2017)
<b>CIPERMETRINA</b> (insecticida)		172,50 (109,77-198,91)	mg·kg <sup>-1</sup>	Río Tajo, Portugal	(Cruzeiro et al., 2016)
<b>λ-CIALOTRINA</b> (insecticida)	76%	Máximo 1,60	mg·kg <sup>-1</sup>	Río Tajo, Portugal	(Cruzeiro et al., 2016)

Tabla 1.3. Concentraciones de plaguicidas en sedimentos.

Compuesto	Frecuencia de detección	Concentración promedio (mín.-máx.)	Unidad	Lugar	Referencia
<b>GLIFOSATO</b> (herbicida)	91,1% (41/45)	9,6 (máx. 476)	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Estados Unidos	(Battaglin et al., 2014)
	10%	569 (2-3004)	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Cuenca del río Paraná, Argentina	(Ronco et al., 2016)
	83% (5/6)	1126 $\pm$ 423	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Entre Ríos, Argentina	(Primost et al., 2017)
	[Sep 2012] 66%	42,0 (DNC-221,2)	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Buenos Aires, Argentina	(Aparicio et al., 2013)
<b>AMPA</b> (herbicida)	93,3% (42/45)	18,0 (máx. 341)	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Estados Unidos	(Battaglin et al., 2014)
	9%	754 (2-5374)	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Cuenca del río Paraná, Argentina	(Ronco et al., 2016)
	100% (6/6)	2660 $\pm$ 1368	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Entre Ríos, Argentina	(Primost et al., 2017)
	[Sep-2012] 89%	46,6 (DNC-235)	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Buenos Aires, Argentina	(Aparicio et al., 2013)
<b>CIPERMETRINA</b> (insecticida)	[2010] $\approx$ 5% [2012] 100%	8,00 9,70 (0,57-221)	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Cuenca del río Paraná, Argentina	(Etchegoyen et al., 2017)
		DNC-1075,0	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Buenos Aires, Argentina	(Marino & Ronco, 2005)
	[2011] 29% [3-2012] 0% [4-2012] 0%	0,67 $\pm$ 0,72 (máx. 1,94) ND ND	$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$	La Plata, Buenos Aires, Argentina	(Hunt et al., 2016)
	[1-2012] 29% [3-2012] 29% [4-2012] 40%	1,61 $\pm$ 3,01 (máx. 8,32) 1,23 $\pm$ 1,70 (máx. 4,16) 0,86 $\pm$ 1,22 (máx. 2,68)	$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$	Arrecifes, Buenos Aires, Argentina	(Hunt et al., 2016)
<b>ENDOSULFAN</b> (insecticida)	[2010] $\approx$ 60% [2012] $\approx$ 30%	3,83 (1,56-7,78) 1,42 (0,77-37,6)	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Cuenca del río Paraná, Argentina	(Etchegoyen et al., 2017)
<b><math>\lambda</math>-CIALOTRINA</b> (insecticida)		1,0-5,0	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Brasil	(Miranda et al., 2008)
<b><math>\lambda</math>-CIALOTRINA</b> (insecticida)	ND	ND		La Plata, Buenos Aires, Argentina	(Hunt et al., 2016)
	[3-2012] 29% [4-2012] 40%	1,12 $\pm$ 2,19 (máx. 6,09) 1,45 $\pm$ 2,40 (máx. 5,05)	$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$	Arrecifes, Buenos Aires, Argentina	(Hunt et al., 2016)
	100%	8,27-71,9	$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$	Río Ebro, España	(Feo et al., 2010)
<b>TEBUCONAZOL</b> (fungicida)	0% (n=96)			Australia	(Wightwick et al., 2012)

DNC: Detectable no cuantificable; ND: No detectado.

### 1.3 Análisis químico de plaguicidas

Existen numerosas técnicas analíticas con distintos objetivos: algunas de ellas apuntan a determinar los componentes mayoritarios que caracterizan a una muestra, de especiación, a la determinación de parámetros fisicoquímicos que cuantifiquen los distintos componentes de la matriz, entre otros. Sin embargo, el desafío se presenta a la hora de la determinación de elementos o compuestos trazas, que generalmente tiene como objetivo conocer las concentraciones de compuestos que generan un impacto ambiental, aún en concentraciones bajas – en algunos casos, en cantidades de nanogramos por litro llegan a ser suficientes, y esto se debe a la sensibilidad de los sistemas biológicos presentes en el ambiente frente a algunos grupos de contaminantes químicos (Burton & Landrum, 2003; Phillips et al., 2006).

Más allá de las técnicas puntuales, a lo largo de la investigación en química analítica ambiental, se han podido sistematizar estas operaciones en una serie de pasos bien definidos que pueden presentarse de la siguiente forma:

1. **Extracción** del analito desde la matriz ambiental de origen en función de sus propiedades fisicoquímicas (orgánicos polares, no polares, por grupos funcionales; inorgánicos, metales y no metales), donde se aplican principios de separaciones básicos como reparto líquido-líquido, líquido-sólido, destilaciones, precipitación.
2. **Concentración** de las fases provenientes de la extracción se someten a procesos de reducción de volumen, minimizando las pérdidas del analito.
3. **Limpieza o *clean-up*** como una “segunda extracción”, pero en vez de ser general, es específica. En este paso la molécula objetivo se separa de la mezcla de compuestos co-extraídos de la matriz, sometiendo al extracto concentrado a un sistema de interacciones específicas y selectivas. Generalmente, estas condiciones son reunidas por una técnica cromatográfica a escala semi-preparativa o extracciones con solventes o sólidos activos.

4. **Análisis instrumental** se realiza con el extracto concentrado y *limpio*, empleando metodologías de identificación y cuantificación haciendo uso de instrumental específico para tal fin: espectrofotómetros, voltímetros, cromatógrafos líquidos y gaseosos, por nombrar algunos. Todos ellos permiten tener confirmación de presencia o ausencia, y en caso de lo primero, determinar la cantidad presente con la mayor precisión y exactitud posible.

Además, se cuenta con la posibilidad de que la concentración (paso 2) y el *clean-up* (paso 3) se lleven a cabo de manera inversa. En cada una de estas etapas se produce inevitablemente una pérdida del analito a causa de trabajar con operaciones que no son totalmente eficientes, ya sea por el manejo del operador (evitable o reducible) o por las interacciones químicas intrínsecas en cada etapa (inevitables) (Barceló, 2000). Esto obliga a la determinación del factor de eficiencia (o recuperación) en la metodología global para la consiguiente corrección de los resultados.

### 1.3.1 Pretratamiento de aguas

Muchos plaguicidas se adsorben fuertemente a las fracciones sólidas, como material particulado en suspensión y sedimentos de fondo, lo que conduce a concentraciones relativamente bajas de estos en la fracción soluble de las aguas superficiales respecto al MPS. Además, los estudios ecotoxicológicos realizados en sistemas de solo agua han encontrado que estos plaguicidas causan efectos letales y subletales a concentraciones extremadamente bajas, siendo la concentración letal media (*median lethal concentration*,  $LC_{50}$ ) en algunos casos inferior a  $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Por lo tanto, existe la necesidad de emplear métodos sensibles de análisis de trazas para la medición y la identificación positiva y segura de estos plaguicidas a un nivel por debajo de los microgramos por litro.

La determinación de plaguicidas en muestras acuosas, generalmente, no puede hacerse sin algún pretratamiento de la muestra porque se encuentran en concentraciones de  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  o  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  *versus* las capacidades instrumentales. Entre los procedimientos de extracción que emplean diferentes técnicas de limpieza y preconcentración, se pueden mencionar: (1) la extracción líquido-líquido (LLE), uno de los procedimientos de pretratamiento más antiguos y de uso común por su sencillez y bajo costo aunque cuestionado por la alta demanda de solventes en su versión clásica (Wang et al., 2009); (2) extracción en fase sólida (*solid-phase extraction*, SPE), en la que los analitos se sorben y extraen de matrices acuosas complejas utilizando una pequeña cantidad de disolvente orgánico en su ejecución; (3) técnicas de extracción miniaturizadas, como micro extracción en fase sólida (*solid-phase microextraction*, SPME), una técnica de menor tiempo y consumo de solventes, basada en el uso de una fibra recubierta para extraer trazas de compuestos orgánicos de la matriz, seguida de la desorción de las sustancias retenidas en un instrumento analítico (Bonansea et al., 2013); (4) extracción por sorción con barras magnéticas agitadoras (*stir bar sorptive extraction*, SBSE), un método de preparación de muestras sin solventes basado en la extracción por sorción, mediante el cual los analitos se adsorben sobre el recubrimiento polimérico (generalmente, polidimetilsiloxano, PDMS) de un agitador magnético; (5) micro extracción en fase líquida (*liquid-phase microextraction*, LPME), una forma miniaturizada de extracción líquido-líquido tradicional en la que la fase orgánica de extracción se limita a unos pocos microlitros para la extracción de analitos de interés (Mmualefe et al., 2011; USEPA, 1996).

Sin embargo, la necesidad de un control experimental estricto y tiempos de equilibrio prolongados limita la aplicación de SPME, SBSE y LPME en análisis simultáneo de múltiples plaguicidas dentro de una misma muestra (análisis multiresiduo). Además, la fuerte tendencia

de algunos plaguicidas, por ejemplo, los piretroides, a adsorberse a las paredes de los contenedores de vidrio puede provocar una disminución de la recuperación de SPE y una subestimación sustancial de las concentraciones. Por lo tanto, la extracción líquido-líquido (LLE) todavía se considera una de las técnicas de pretratamientos más convencionales y efectivas (Hladik et al., 2009; Wang et al., 2009).

### 1.3.2 Pretratamiento del material particulado en suspensión

Los sólidos suspendidos tienen la capacidad de interactuar fisicoquímicamente con una gran variedad de contaminantes tanto orgánicos como inorgánicos. Además, la naturaleza hidrófoba de muchos de éstos hace que se adsorban a los sólidos en suspensión. Incluso compuestos relativamente polares o iónicos también pueden tener una afinidad significativa por las partículas en suspensión por mecanismos como el intercambio iónico o afinidades electrostáticas con la fracción mineral de los sólidos (Darwano et al., 2014; Fairbairn et al., 2015; Karickhoff & Morris, 1985). Por lo tanto, es relevante cuantificar la contaminación sobre el MPS, ya que pueden actuar como un medio de movilización de plaguicidas.

La mayoría de los métodos publicados para el análisis de plaguicidas en aguas pretratan las muestras para remover el MPS, y se basan principalmente en el análisis de la fase disuelta, sin considerar la asociación de contaminantes asociados al MPS. Los métodos de filtración convencionales han sido la herramienta más utilizada para la separación de las fracciones disueltas y particuladas, empleando un tamaño de poro del filtro definido operativamente en 0,45  $\mu\text{m}$  tal como lo propone *ASTM International* para análisis de calidad de aguas en la definición de fracción soluble de particulada (ASTM, 2002). En consecuencia, no solo se omite

información respecto de la dinámica fisicoquímica en la columna de agua, sino que también se puede subestimar significativamente la concentración total en la muestra ambiental (Darwano et al., 2014).

Hasta la fecha, solo un número limitado de estudios ha analizado los sólidos en suspensión. El enfoque más utilizado para extraer los contaminantes de muestras sólidas se basa en el uso de la asistencia por ultrasonidos, microondas, o con líquidos presurizados (Cruzeiro et al., 2016, 2017; Darwano et al., 2014).

### **1.3.3 Pretratamiento de sedimentos**

El sedimento es una matriz compleja y heterogénea con una estructura porosa que contiene componentes tanto inorgánicos (porcentaje variable de arena, limo y arcilla) como orgánicos naturales compuestos principalmente por sustancias húmicas (10-15%), lípidos, carbohidratos, lignina, flavonoides, pigmentos, resinas y ácidos fúlvicos. Estos compuestos se caracterizan por la diversa estructura química y propiedades fisicoquímicas, que generan diversos problemas analíticos. Por lo tanto, el análisis de plaguicidas en estas matrices ambientales es una tarea difícil y desafiante.

La preparación de la muestra sigue siendo un paso crítico en la extracción debido a la fuerte interacción entre analitos y los diferentes constituyentes de estas matrices, particularmente, la materia orgánica (Bollag et al., 1992; Ogbeide et al., 2018). Hasta no hace mucho tiempo se empleaban técnicas de múltiples pasos de más de 30 años, cuando las aspiraciones analíticas eran menores, el uso de cantidades de solvente no era un problema tan importante, los largos tiempos de análisis y de trabajo manual eran normales, y la tecnología instrumental

disponible era menos sensible (Anastassiades et al., 2003). Con las tendencias actuales hacia la miniaturización de los procesos y el requerimiento de alta especificidad extractiva, estas técnicas fueron reemplazadas por procesos amigables con el ambiente, alineados con la química verde y principios analíticos de base (Masiá et al., 2015).

En los últimos años, se han adaptado y aplicado técnicas como extracción asistida por microondas (*microwave-assisted extraction*, MAE), extracción asistida por ultrasonido (*ultrasonic assisted extraction*, UAE), extracción con fluidos supercríticos (*supercritical fluid extraction*, SFE), dispersión de matriz de fase sólida (*matrix solid-phase dispersion*, MSPD) y QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap Effective, Rugged and Safe*) (Đurovic & Đorđević, 2011; Masiá et al., 2015). Aunque esta última tenga su origen en la extracción de residuos de plaguicidas de productos alimenticios como frutas y verduras (AOAC, 2011), variantes del método han sido empleadas en la extracción de otras matrices, como biota, suelos y sedimentos, debido a su bajo costo, bajo consumo de reactivos y rapidez en el procesamiento de las muestras (Brondi et al., 2011). En contraposición a las técnicas mencionadas anteriormente, esta es una metodología simple, que no requiere de instrumental de alta complejidad, y que consume comparativamente pocos reactivos e insumos, por lo que es económica y amigable con el ambiente. Su gran versatilidad ha demostrado que muchas modificaciones: combinación de procedimientos (extracción y limpieza), cantidad y tipo de solventes, sales y sorbentes, así como relaciones variables de muestra:solvente, aún pueden proporcionar recuperaciones aceptables para la mayoría de los plaguicidas estudiados en pasos de pretratamiento rápidos y sencillos (González-Curbelo et al., 2015).

La extracción por *QuEChERS* implica dos simples pasos:

1. La muestra homogeneizada es extraída y particionada usando un solvente orgánico miscible con agua y sales, para forzar a los analitos hacia la fase orgánica, proceso conocido como *salting-out*.
2. El sobrenadante orgánico es sometido a un proceso de *clean-up* usando la técnica de dispersión de fase sólida (*dispersive solid-phase extraction*, dSPE), utilizando combinaciones de sulfato de magnesio anhidro para remover restos de agua y diferentes sorbentes, como C<sub>18</sub>, aminas primarias y secundarias (PSA) o negro de carbón grafitado (GCB) para eliminar sustancias interferentes.

Al emplearse esta metodología de extracción multiresiduos en matrices para la cuales no existen normas estandarizadas, surgen variaciones analíticas en cuanto a cantidad de muestra empleada, así como su pretratamiento, al solvente o mezcla de solventes que se usa, las relaciones sólido/solvente, y al tipo de sales que se emplean (Anastassiades & Lehotay, 2003; Mac Loughlin et al., 2017; Masiá et al., 2015).

#### 1.4 Efectos ecotoxicológicos

Las actividades agrícolas como la labranza, el drenaje, el intercalado y rotación de cultivos, el pastoreo y el uso extensivo de plaguicidas y fertilizantes tienen implicaciones significativas para las especies silvestres de flora y fauna (McLaughlin & Mineau, 1995). Como se menciona en los apartados anteriores, debido a la dinámica ambiental de los plaguicidas, una vez liberados en el ambiente, estos compuestos tienen el potencial de alcanzar a los distintos cuerpos de aguas superficiales, y con un amplio rango de impactos sobre la biota acuática (Larson et al., 1997). Los programas de monitoreo de contaminantes suelen focalizarse en el compartimento agua. Sin embargo, muchos plaguicidas se asocian fuertemente al material

particulado y tienen como destino ambiental al sedimento de fondo, los cuales terminan siendo fuentes de contaminación por mecanismos de movilización, y presentando riesgos para la biota acuática (de Castro-Català et al., 2016; Ho & Burgess, 2013; Peluso, Abelando, et al., 2013; Peluso, Bulus Rossini, et al., 2013). El análisis de sedimentos debería ser incluido en los estudios del ambiente porque son el resultado de la integración de todos los procesos (biológicos, físicos y químicos) que ocurren en el sistema acuático, influenciando en el metabolismo del mismo (Brondi et al., 2011). En este sentido, además de conocer la dinámica ambiental y el destino de los diferentes tipos de plaguicidas, es relevante estudiar conjuntamente los efectos que producen sobre la fauna asociada, tanto de la columna de agua como la fauna bentónica.

Los bioensayos de toxicidad son una herramienta bioanalítica de importancia y complemento de los análisis químicos, para la evaluación integral de la peligrosidad asociada a plaguicidas, tanto para los ecosistemas acuáticos y sus posibles proyecciones a la salud humana (Peluso et al., 2011). A partir de la realización de ensayos de toxicidad en laboratorio se puede examinar la toxicidad potencial de una matriz contaminada, por exposición aguda o crónica, de los que se pueden obtener, por ejemplo, medidas de mortalidad, inhibición del crecimiento y efectos en la reproducción de los organismos. El objetivo principal de la utilización de ensayos de toxicidad con sedimentos es poder determinar su peligrosidad sobre la fauna bentónica asociada. Este tema será abordado en mayor detalle en el Capítulo 6: Ecotoxicología de sedimentos.

# CAPÍTULO 2

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

## 2. Hipótesis y Objetivos

### 2.1 Hipótesis

Las distintas actividades agrícolas aportan plaguicidas de forma diferente tanto en la columna de agua como en sedimentos de fondo de ecosistemas acuáticos rodeados por las mismas, impactando negativamente sobre la fauna bentónica asociada a ellos.

### 2.2 Objetivo general

Estudiar el comportamiento ambiental de plaguicidas en aguas superficiales y sedimentos de fondo de cuerpos de agua inmersos en zonas con actividades agro-productivas, determinando la dinámica de partición y distribución en los distintos compartimentos ambientales y sus efectos ecotoxicológicos.

### 2.3 Objetivos específicos

- Planificar y efectivizar de muestreos que permitan caracterizar los niveles de concentración ambientales de plaguicidas asociados a distintos tipos de prácticas agrícolas, estacionalidad y dinámica y su relación con factores climáticos y estacionales en sectores superiores, medio e inferior del delta entrerriano y zonas del Gran La Plata.
- Adaptar y aplicar metodologías tradicionales de análisis químico (extracción, *clean-up* y análisis instrumental) para las matrices ambientales propias de la zona de estudio.

- Realizar experimentos de partición de plaguicidas en laboratorio, empleando matrices obtenidas en la zona de estudio y seleccionando compuestos en función de la información generada sobre muestras ambientales.
- Interpretar los datos obtenidos en función de propiedades fisicoquímicas relevantes de los plaguicidas analizados y de las características de cada compartimento ambiental.
- Aplicar bioensayos de laboratorio utilizando al anfípodo bentónico *Hyalella curvispina* Shoemaker, 1942 (Amphipoda: Hyalellidae) para evaluar la toxicidad letal y subletal de sedimentos de cuerpos de agua superficiales de agroecosistemas.
- Interpretar los resultados obtenidos en función de variables vinculadas a la geografía del lugar, tipo de práctica agrícola, niveles de plaguicidas y efectos medidos y características del medio receptor.
- Favorecer el intercambio de información y la interpretación de datos en el contexto del proyecto marco de desarrollo regional en el cual se realizan estos estudios de interés estratégico.

# CAPÍTULO 3

## MATERIALES y MÉTODOS: MUESTREOS AMBIENTALES

## **3. Materiales y métodos: muestreos ambientales**

### **3.1 Selección de los sistemas de producción**

Como se menciona en los objetivos de la presente tesis, se seleccionaron como sitios de muestreo cuencas hidrológicas que presenten distintos tipos de usos del suelo respecto a la actividad agrícola allí llevada a cabo. Es entonces que se seleccionaron la cuenca del arroyo Carnaval, ubicada en la periferia de la ciudad de La Plata, y la cuenca del río Gualeguay, en la provincia de Entre Ríos. Estos cuerpos de agua se encuentran impactados por actividades marcadamente distintas: en la periferia de La Plata se encuentra una de las zonas de producción hortícola de mayor importancia del país, mientras que en Entre Ríos, la mayor parte de su área geográfica se encuentra sembrada por cultivos extensivos como soja y maíz. Estos sistemas productivos sugieren distintas modalidades de manejos y uso de plaguicidas – tanto en cantidad de compuestos, como volúmenes y frecuencia de aplicación de los mismo. Una descripción detallada de cada sistema de estudio se realizará al inicio de los respectivos capítulos dedicados en detalle para cada región.

### **3.2 Toma de muestras**

#### **3.2.1 Materiales y reactivos empleados para la toma de muestra**

- Botellas de vidrio ámbar de 250 y 500 mL.
- Tubos cónicos de polipropileno de 15 mL.
- Multiparamétrico Lutron WA-2017SD equipado con sondas para la medición de oxígeno disuelto (OD), temperatura (T), conductividad ( $\sigma$ ) y pH.
- Papel aluminio.

- Discos filtrantes de nylon con poro de 0,45  $\mu\text{m}$  y 47 mm de diámetro.
- Kit de filtración a campo de policarbonato de 250 mL, Sartorius®.
- Bomba de vacío portátil Silfab N8VP.
- Pala mediana de acero inoxidable.
- Bolsas con cierre hermético.
- Jeringa Hamilton® de 50  $\mu\text{L}$ .
- Estándares de atrazina (atrazina- $\text{d}_5$ , ATZ\*) y cipermetrina (cipermetrina-fenoxi- $\text{d}_5$ , CYP\*) marcados isotópicamente de concentración nominal 1  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , preparado en metanol.
- Estándar de glifosato marcado isotópicamente (glifosato-2- $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ , GLY\*) de concentración nominal 1  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , preparado en agua ultrapura.
- Hexano normal, grado para análisis de residuos de plaguicidas.
- Packs de gel refrigerante y conservadora.

#### 3.2.2 Metodología de toma de muestra

A continuación, se describen las condiciones y acondicionamiento de las muestras obtenidas en campo, para las distintas matrices ambientales estudiadas: agua superficial, material particulado en suspensión (MPS) y sedimento de fondo. Adicionalmente, se midieron parámetros fisicoquímicos *in situ* del agua superficial: OD, T,  $\sigma$  y pH con sonda multiparamétrica Lutron WA-2017SD.

##### 3.2.2.1 Agua superficial

Las muestras de aguas se obtuvieron de manera discreta en cada sitio de estudio. Se enjuagó 3 veces el material de muestreo con el agua superficial previo a la toma de la muestra (ASTM, 2003). En cada sitio se recolectaron 500 mL en botella de vidrio de color caramelo y 10 mL en

tubo de polipropileno. A la botella de vidrio se le agregó estándar de ATZ\* y CYP\* para obtener una concentración final en la inyección de  $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; seguido se adicionaron 5 mL de hexano normal para prevenir la pérdida de analitos (Hladik et al., 2009); finalmente se cerró la botella colocando una capa de aluminio para evitar el contacto de la muestra con el material plástico de la tapa. Al tubo de polipropileno se le agregaron 10 ng del estándar de GLY\*. En cada campaña de muestreo, se tomaron al azar muestras por duplicado o triplicado para realizar ensayos de validación de la metodología de extracción en el laboratorio, así como agregados *in situ* de los plaguicidas analizados para mensurar pérdidas por almacenamiento y efectos de la matriz sobre la estabilidad química de todos los contaminantes estudiados (ASTM, 2003). Las muestras de agua superficial se transportaron en una conservadora con packs de gel refrigerante acondicionados a  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  hasta el laboratorio y se almacenaron en heladera ( $4 \text{ }^\circ\text{C}$  y oscuridad) hasta su análisis en las próximas 24 horas.

#### 3.2.2.2 Material particulado en suspensión

Para separar la fracción soluble de la fracción particulada se tomaron 100 mL del agua superficial y se filtraron *in situ* a través de un filtro de nylon de tamaño de poro de  $0,45 \mu\text{m}$  y 47 mm de diámetro. Cada filtro fue previamente acondicionado en el laboratorio: se colocaron en un desecador durante 24 horas y se registró la masa individual de cada filtro. Los filtros se colocaron en un sistema de filtración portátil de policarbonato (**Figura 3.1**) y se empleó una bomba de vacío de membrana (12 V, alimentada por la batería del auto) para realizar la filtración en el punto de muestreo.



*Figura 3.1. Soporte de filtro de policarbonato.*

Del “agua filtrada” (fracción soluble) recolectada en el contenedor inferior del dispositivo de filtración se separaron 10 mL en un tubo de polipropileno para el análisis de glifosato, glufoosinato y AMPA presentes en la fracción soluble. Al igual que para la muestra de agua total, se le agregaron 10 ng de GLY\*.

A cada filtro de nylon se le agregaron 50 ng de ATZ\* y CYP\* y 30 ng de GLY\*. Cada membrana fue plegada de tal manera de impedir el contacto entre el material del filtro y el papel aluminio que se empleó para su conservación y transporte en frío hasta el laboratorio. Una vez allí, se colocaron los filtros en desecadores para remover exceso de humedad. Posteriormente fueron pesados para determinar la masa de material particulado por diferencia de masas, y se almacenaron a -20 °C hasta el momento de la extracción.

### 3.2.2.3 Muestreo de sedimento de fondo

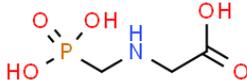
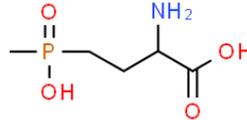
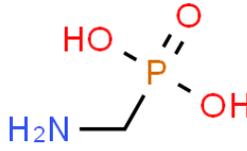
En cada sitio de muestreo se tomó una muestra integrada, de la cual se obtuvieron submuestras tanto para el análisis de plaguicidas como para llevar a cabo los bioensayos de toxicidad. El sedimento se tomó de los primeros 5 cm manualmente con una pala de acero inoxidable, ingresando con indumentaria de pesca impermeable (*wader*) dada la baja profundidad del curso de agua. Se recolectaron aproximadamente 2 litros de sedimento en bolsas con cierre hermético. Las muestras se transportaron respetando la cadena de frío en conservadora con packs de gel refrigerante (ASTM, 2003).

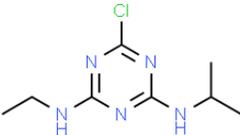
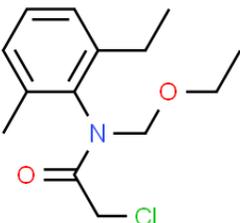
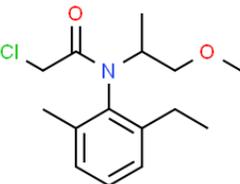
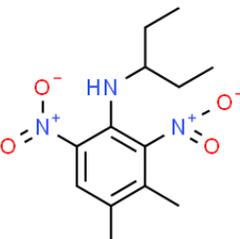
Al llegar al laboratorio, las muestras fueron homogeneizadas y restos vegetales y rocas fueron retirados. Se separó una primera submuestra de sedimento para el análisis químico en tubos de polipropileno de 50 mL, empleando un tubo destinado al análisis y un segundo tubo como contramuestra, los cuales se conservaron a -20 °C hasta el momento de la extracción. Otra fracción del sedimento homogenizado se utilizó para la determinación del porcentaje de humedad y porcentaje de carbono orgánico de los mismos. Finalmente, la última submuestra (de mayor volumen) se conservó en oscuridad a 4 °C hasta su utilización en bioensayos de toxicidad (Peluso, Abelando, et al., 2013; Peluso, Bulus Rossini, et al., 2013).

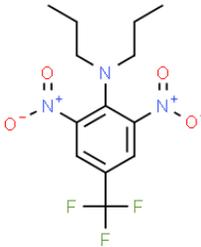
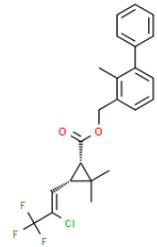
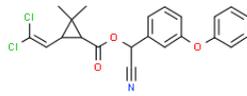
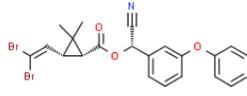
## 3.3 Plaguicidas estudiados

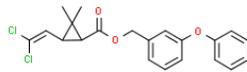
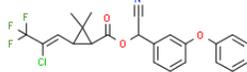
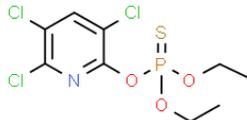
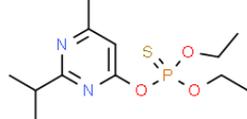
El detalle de los plaguicidas estudiados: nombre, abreviación utilizada en el presente trabajo, número de registro CAS, fórmula química, peso molecular, estructura química, propiedades fisicoquímicas relevantes se muestran en la **Tabla 3.1**.

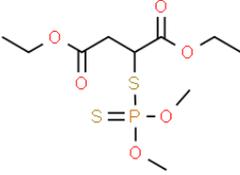
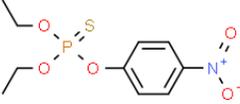
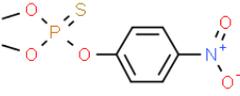
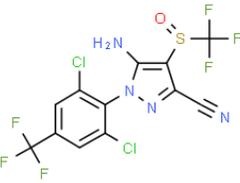
Tabla 3.1. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos estudiados, clasificación y estructura química.

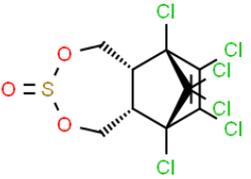
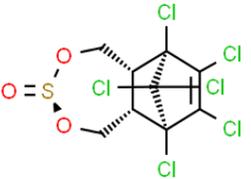
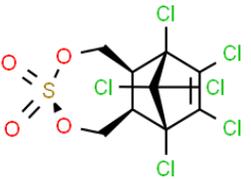
Plaguicida	Abreviatura	CAS RN	Fórmula química	Masa (Da)	Estructura química	Tipo de plaguicida y grupo de sustancias	Solubilidad en agua a 20 °C (mg·L <sup>-1</sup> )	log K <sub>ow</sub> (pH 7, 20 °C)
<b>Glifosato</b>	GLY	1071-83-6	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>5</sub> P	169,073		Herbicida fosfonglicina  Generalmente comercializados como sal de isopropilamina.	10.500	-3,20
<b>Glufosinato</b>	GLU	51276-47-2	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>4</sub> P	181,127		Herbicida organofosfato  Generalmente comercializados como sal de amonio (ácido fosfínico).	1.370.000	-3,96
<b>Ácido aminometilfosfónico</b>	AMPA	1066-51-9	CH <sub>6</sub> NO <sub>3</sub> P	111,037		Herbicida (metabolito)	1.466.561	-1,63

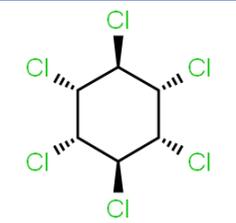
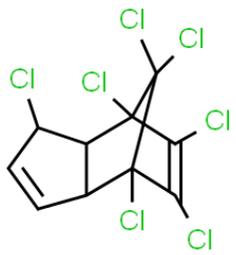
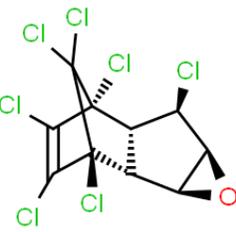
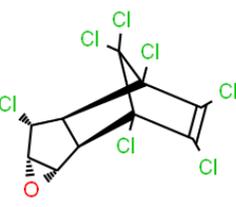
Plaguicida	Abreviatura	CAS RN	Fórmula química	Masa (Da)	Estructura química	Tipo de plaguicida y grupo de sustancias	Solubilidad en agua a 20 °C (mg·L <sup>-1</sup> )	log K <sub>ow</sub> (pH 7, 20 °C)
<b>Atrazina</b>	ATZ	1912-24-9	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>5</sub>	215,683		Herbicida triazina	35	2,70
<b>Acetoclor</b>	ATC	34256-82-1	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> ClNO <sub>2</sub>	269,767		Herbicida cloroacetamida	282	4,14
<b>Metolaclor</b>	MTC	51218-45-2	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> ClNO <sub>2</sub>	283,794		Herbicida cloroacetamida	530	3,40
<b>Pendimetalina</b>	PEN	40487-42-1	C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	281,308		Herbicida dinitroanilina	0,33	5,40

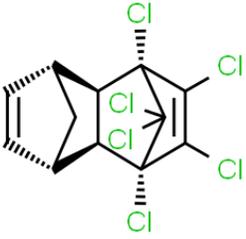
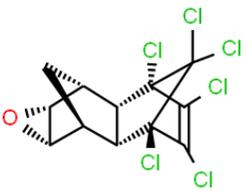
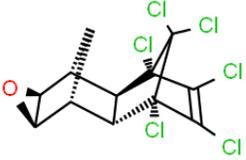
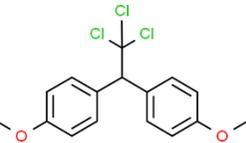
Plaguicida	Abreviatura	CAS RN	Fórmula química	Masa (Da)	Estructura química	Tipo de plaguicida y grupo de sustancias	Solubilidad en agua a 20 °C (mg·L <sup>-1</sup> )	log K <sub>ow</sub> (pH 7, 20 °C)
<b>Trifluralina</b>	TRF	1582-09-8	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	335,279		Herbicida dinitroanilina	0,221	5,27
<b>Bifentrina</b>	BIF	82657-04-3	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> ClF <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	422,868		Insecticida piretroide	0,001	6,60
<b>Cipermetrina</b>	CYP	52315-07-8	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	416,297		Insecticida piretroide	0,009	5,55
<b>Deltametrina</b>	DEL	52918-63-5	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> Br <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	505,199		Insecticida piretroide	0,0002	4,60

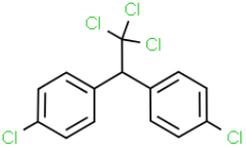
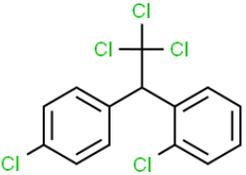
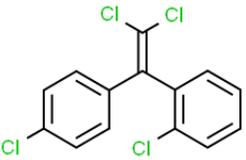
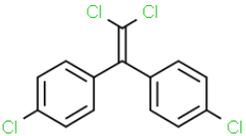
Plaguicida	Abreviatura	CAS RN	Fórmula química	Masa (Da)	Estructura química	Tipo de plaguicida y grupo de sustancias	Solubilidad en agua a 20 °C (mg·L <sup>-1</sup> )	log K <sub>ow</sub> (pH 7, 20 °C)
<b>Permetrina</b>	PER	52645-53-1	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	391,288		Insecticida piretroide	0,2	6,10
<b>λ-Cialotrina</b>	λ-CIAL	91465-08-6	C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> ClF <sub>3</sub> NO <sub>3</sub>	449,850		Insecticida piretroide	0,005	5,50
<b>Clorpirifós</b>	CLP	2921-88-2	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS	350,586		Insecticida organofosforado	1,05	4,70
<b>Diazinón</b>	DZN	333-41-5	C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS	304,345		Insecticida organofosforado	60	3,69

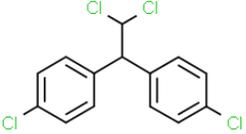
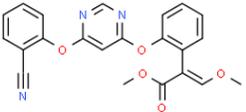
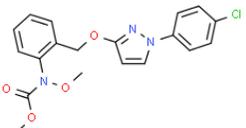
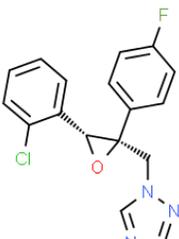
Plaguicida	Abreviatura	CAS RN	Fórmula química	Masa (Da)	Estructura química	Tipo de plaguicida y grupo de sustancias	Solubilidad en agua a 20 °C (mg·L <sup>-1</sup> )	log K <sub>ow</sub> (pH 7, 20 °C)
<b>Malatión</b>	MAL	121-75-5	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O <sub>6</sub> PS <sub>2</sub>	330,358		Insecticida organofosforado	148	2,75
<b>Paratión</b>	PAR	56-38-2	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>5</sub> PS	291,261		Insecticida organofosforado	12,4	3,83
<b>Metil-paratión</b>	Me-PAR	298-00-0	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>5</sub> PS	263,207		Insecticida organofosforado (metabolito)	55	3,00
<b>Fipronil</b>	FIP	120068-37-3	C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>6</sub> N <sub>4</sub> OS	437,148		Insecticida fenilpirazol	3,78	3,75

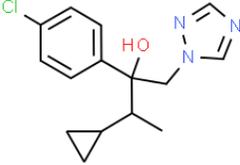
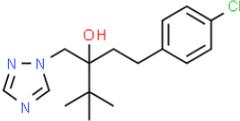
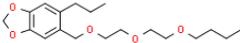
Plaguicida	Abreviatura	CAS RN	Fórmula química	Masa (Da)	Estructura química	Tipo de plaguicida y grupo de sustancias	Solubilidad en agua a 20 °C (mg·L <sup>-1</sup> )	log K <sub>ow</sub> (pH 7, 20 °C)
<b>Endosulfán</b>	END					Insecticida organoclorado		
<b>I-isómero</b>		959-98-8	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S	406,925		mezcla de estereoisómeros 70%	0,32	4,74
<b>II-isómero</b>		33213-65-9				mezcla de estereoisómeros 30%	0,45	3,83
<b>Endosulfán-sulfato</b>	END-SO <sub>4</sub>	1031-07-8	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub> O <sub>4</sub> S	422,924		Insecticida organoclorado (metabolito)	0,48	3,66

Plaguicida	Abreviatura	CAS RN	Fórmula química	Masa (Da)	Estructura química	Tipo de plaguicida y grupo de sustancias	Solubilidad en agua a 20 °C (mg·L <sup>-1</sup> )	log K <sub>ow</sub> (pH 7, 20 °C)
<b>Lindano</b>	HCH		C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	290,830	 γ-isómero	Insecticida organoclorado	8,52	3,50
<b>α-isómero</b>	α-HCH	319-84-6				Impureza isomérica		
<b>β-isómero</b>	β-HCH	319-85-7				Impureza isomérica		
<b>γ-isómero</b>	γ-HCH	58-89-9				Ingrediente activo		
<b>Heptacloro</b>	HPC	76-44-8	C <sub>10</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>7</sub>	373,318		Insecticida organoclorado	0,056	5,44
<b>Heptacloro epóxido (isómero A)</b>	HCE(A)	66429-34-3	C <sub>10</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>7</sub> O	389,317		Insecticida organoclorado (metabolito)	0,2	4,98
<b>Heptacloro epóxido (isómero B)</b>	HCE(B)	28044-83-9	C <sub>10</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>7</sub> O	389,317		Insecticida organoclorado (metabolito)	0,2	4,98

Plaguicida	Abreviatura	CAS RN	Fórmula química	Masa (Da)	Estructura química	Tipo de plaguicida y grupo de sustancias	Solubilidad en agua a 20 °C (mg·L <sup>-1</sup> )	log K <sub>ow</sub> (pH 7, 20 °C)
<b>Aldrín</b>	ALD	309-00-2	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub>	364,910		Insecticida organoclorado	0,027	6,50
<b>Dieldrín</b>	DND	60-57-1	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub> O	380,909		Insecticida organoclorado	0,14	3,70
<b>Endrín</b>	EDN	72-20-8	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub> O	380,909		Insecticida organoclorado	0,24	3,20
<b>Metoxicloro</b>	MXC	72-43-5	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	345,65		Insecticida organoclorado	0,1	5,83

Plaguicida	Abreviatura	CAS RN	Fórmula química	Masa (Da)	Estructura química	Tipo de plaguicida y grupo de sustancias	Solubilidad en agua a 20 °C (mg·L <sup>-1</sup> )	log K <sub>ow</sub> (pH 7, 20 °C)
<b>p,p'-DDT</b>		50-29-3	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>5</sub>	354,486		Insecticida organoclorado Ingrediente activo	0,025	6,91
<b>o,p'-DDT</b>		789-02-6				Insecticida organoclorado Impureza isomérica		
<b>o,p'-DDE</b>		3424-82-6	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>4</sub>	318,025		Insecticida organoclorado (metabolito)		
<b>p,p'-DDE</b>		72-55-9	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>4</sub>	318,025		Insecticida organoclorado (metabolito)		

Plaguicida	Abreviatura	CAS RN	Fórmula química	Masa (Da)	Estructura química	Tipo de plaguicida y grupo de sustancias	Solubilidad en agua a 20 °C (mg·L <sup>-1</sup> )	log K <sub>ow</sub> (pH 7, 20 °C)
<b>p,p'-DDD</b>		72-54-8	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>4</sub>	320,041		Insecticida organoclorado (metabolito)		
<b>Azoxistrobina</b>	AZX	131860-33-8	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	403,388		Fungicida estrobilurina	6,7	2,50
<b>Piraclostrobina</b>	PYR	175013-18-0	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	387,817		Fungicida estrobilurina	1,9	3,99
<b>Epoxiconazol</b>	EPX	135319-73-2	C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> ClFN <sub>3</sub> O	329,756		Fungicida triazol	7,1	3,30

Plaguicida	Abreviatura	CAS RN	Fórmula química	Masa (Da)	Estructura química	Tipo de plaguicida y grupo de sustancias	Solubilidad en agua a 20 °C (mg·L <sup>-1</sup> )	log K <sub>ow</sub> (pH 7, 20 °C)
<b>Ciproconazol</b>	CPZ	94361-06-5	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>3</sub> O	291,776		Fungicida triazol	93	3,09
<b>Tebuconazol</b>	TEB	107534-96-3	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>3</sub> O	307,818		Fungicida triazol	36	3,70
<b>Butóxido de piperonilo</b>	BXP	51-03-6	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	338,439		Sinérgico de plaguicidas Aromático cíclico	14,3	4,75

### 3.4 Reactivos, solventes, materiales e instrumental analítico

#### Estándares de plaguicidas

- Glifosato, pureza 96%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Glufosinato, pureza 99%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Ácido aminometilfosfónico (AMPA), pureza 99%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Atrazina, pureza 97,1%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Acetoclor, pureza 95,4%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Metolacloro, pureza 97,1%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Pendimetalina, pureza 99,9%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Trifluralina, pureza 97,1%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Bifentrina, pureza 93,0%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Cipermetrina, pureza 95,0%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Deltametrina, pureza 97,4%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Permetrina, pureza 96,7%, Sigma-Aldrich, Merck.
- $\lambda$ -cialotrina, pureza 99,9%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Clorpirifós, pureza 99,9%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Diazinón, pureza 98,5%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Malatión, pureza 97,0%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Paratión, pureza 99,0%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Metil-paratión, pureza 99,8%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Fipronil, pureza 95,0%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Endosulfán, pureza 96,8%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Endosulfán-sulfato, solución stock de 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  preparada en HEX, Sigma-Aldrich, Merck.
- Mix de plaguicidas organoclorados, solución stock de 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  preparada en HEX. Contiene: Lindano (isómeros  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) Heptacloro, Heptacloro epóxido (isómeros A, B), Aldrín, Dieldrín, Endrín, p,p'-DDT, o,p'-DDT, o,p'-DDE, p,p'-DDE, p,p'-DDD. AccuStandard.
- Azoxistrobina, pureza 95,0%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Piraclostrobina, pureza 99,9%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Epoxiconazol, pureza 99,9%, Sigma-Aldrich, Merck.

- Ciproconazol, pureza 95,0%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Tebuconazol, pureza 98,1%, Sigma-Aldrich, Merck.
- Butóxido de piperonilo, pureza 99,9%, Sigma-Aldrich, Merck.

#### Estándares de plaguicidas marcados isotópicamente

- Estándar de atrazina penta-deuterada, atrazina-d<sub>5</sub>, PESTANAL<sup>®</sup>-FLUKA, Merck (ATZ\*).
- Estándar de cipermetrina penta-deuterada, cipermetrina-fenoxi-d<sub>5</sub>, Merck (CYP\*).
- Estándar glifosato-2-<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N (98% <sup>15</sup>N, 99% <sup>13</sup>C), Sigma-Aldrich, Merck (GLY\*).

#### Sales y sorbentes

- Sulfato de magnesio anhidro (MgSO<sub>4</sub> anh.), calidad analítica, Cicarelli.
- Sulfato de sodio anhidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anh.), calidad analítica, J.T. Baker.
- Cloruro de sodio (NaCl), calidad analítica, Anedra.
- Tetraborato de sodio decahidrato (Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O), calidad analítica, J.T. Baker.
- Fosfato de potasio dibásico (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), calidad analítica, J.T. Baker.
- Acetato de amonio (NH<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>COO, NaAc), pureza 98,6%, J.T. Baker.
- Cloroformiato de 9-fluoroenilmetilo (C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>ClO<sub>2</sub>, Fmoc-Cl), pureza ≥99%, para derivatización HPLC, Sigma-Aldrich.
- Aminas primarias y secundarias (*primary and secondary amines*, PSA), Supelclean™ PSA, Sigma-Aldrich.
- Negro de carbón grafitizado (*Graphitized Carbon Black*, GCB), Waters.

#### Solventes

- Agua ultrapura (*ultrapure water*, UPW), obtenida en el laboratorio a través de equipo de generación Aurium Pro, Sartorius<sup>®</sup>.

- Cloruro de Metileno ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , DCM), grado para análisis de residuos de plaguicidas, U.V.E.
- Hexano normal ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ , HEX), grado para análisis de residuos de plaguicidas, U.V.E.
- Acetona ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ , ACE), grado para análisis de residuos de plaguicidas, U.V.E.
- Metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ , MeOH), grado HPLC, J.T. Baker.
- Acetonitrilo ( $\text{CH}_3\text{CN}$ , ACN), grado HPLC, J.T. Baker.
- 1-octanol, reactivo ACS, pureza  $\geq 99\%$ , Sigma-Aldrich.

#### Ácidos y soluciones ácidas

- Ácido clorhídrico (HCl) 6 N, HACH.
- Ácido fórmico ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), calidad analítica, J.T. Baker.

#### Materiales de laboratorio

- Ampollas de decantación de vidrio de 500 mL.
- Vasos de precipitados de vidrio de 100 mL, 250 mL y 1 L.
- Vial de vacuna color caramelo de 100 mL.
- Embudo de vidrio de rama corta de 55 mm de diámetro.
- Tubos de vidrio cónicos, graduados de 15 mL.
- Tubos de base redonda tipo HACH.
- Probeta de vidrio 100 mL y 250 mL.
- Tubos de 15 mL y 50 mL tipo de polipropileno con tapa a rosca, DELTALAB.
- Eppendorf de 1,5 y 2 mL, DELTALAB.
- Pipetas de vidrio graduadas de 10 mL y 25 mL.
- Pipetas Pasteur de vidrio (largo 230 mm).
- Pipetas automáticas HTL de volumen variable: 10-100  $\mu\text{L}$ , 100-1000  $\mu\text{L}$  y 1-5 mL.
- Jeringas Hamilton® de 10  $\mu\text{L}$ , 50  $\mu\text{L}$  y 100  $\mu\text{L}$ .
- Espátulas de acero inoxidable.

- Cápsulas de porcelana.
- Jeringas descartables de 1 mL, Neojet.
- Filtro para jeringa tipo cameo, con membrana de nylon de poro de 0,45  $\mu\text{m}$  y 13 mm de diámetro, MSI.
- Viales cromatográficos color caramelo de 2 mL con tapa a rosca, Agilent.
- Frascos de vidrio de 500 mL.
- Pipetas Pasteur plásticas de 2 mL.

#### Instrumental de baja y mediana complejidad

- Lavador ultrasónico, Testlab, modelo TB-10.
- Centrífuga, Rolco, modelo CM2036.
- Centrífuga, Rolco, modelo CM2050.
- Estufa, Estigia, rango de temperatura 25-120 °C.
- Mufla, Estigia.
- Balanza analítica, Mettler Toledo, precisión  $\pm 0,1$  mg.

#### Instrumental de alta complejidad: cromatógrafos

- Cromatógrafo gaseoso (CG), Perkin Elmer, modelo Clarus 580, acoplado a detector de masas de cuadrupolo simple (MS), modelo Clarus SQ 8S (**Figura 3.2**).
- Cromatógrafo líquido (HPLC), Agilent, modelo 1100, con fuentes de ionización por electrospray (*electrospray ionization*, ESI), acoplado a un espectrómetro de masas de cuadrupolo simple (MS), modelo VL, con rango de masas de 50-1500 umas (**Figura 3.3**).
- Cromatógrafo líquido de ultra-*performance* (UPLC), Waters, modelo Acquity, con fuente de ionización ESI, acoplado a un espectrómetro de masas de cuadrupolo en tándem (MS/MS), modelo Quattro Premier XE, con rango de masas de 2-3000 umas (**Figura 3.4**).



*Figura 3.2. CG-MS Perkin Elmer. Fotografía sacada por el autor.*



*Figura 3.3. HPLC-MS Agilent. Fotografía sacada por el autor.*



*Figura 3.4. UPLC-MS/MS Waters. Fotografía sacada por el autor.*

### **3.5 Acondicionamiento del material de laboratorio**

Todo el material utilizado en el análisis de las muestras fue previamente acondicionado para evitar la contaminación cruzada y asegurar la calidad de los resultados. En primera medida, se lavó el material con agua corriente y detergente no-iónico (libre de cloro y fosfatos). A continuación, se sumergió el material en un baño de cloro al 10% durante 24 horas. Luego se enjuagó el material con agua corriente y se colocó en un baño de ácido nítrico al 10% durante otras 24 horas. Finalmente, el material se acondicionó primero con agua corriente y luego con agua destilada. Antes de ser utilizado, se empleó hexano normal o acetona como paso final de acondicionamiento.

### 3.6 Procedimiento analítico

En la **Figura 3.5** se muestra un esquema general de las etapas del proceso analítico, que luego serán descritas con mayor detalle para cada matriz estudiada.



*Figura 3.5. Esquema general del procedimiento analítico.*

Durante el análisis de las muestras ambientales, se realizaron blancos de reactivos y duplicados sobre un 20% del total como parte del control y garantía de calidad del procesamiento analítico.

#### 3.6.1 Derivatización para el análisis de glifosato, glufosinato y AMPA

Diversos grupos funcionales condicionan la naturaleza química de estos compuestos, y hacen que las moléculas tengan características anfóteras. Por esto, y por masas moleculares bajas, propiedades iónicas y alta solubilidad en agua, es que se requiere un paso de derivatización para facilitar su análisis mediante cromatografía líquida o gaseosa convencionales. En el caso del glifosato, glufosinato y AMPA – de ahora en adelante, se resumirá como GGA – se procedió a una derivatización pre-columna de las muestras. En esta etapa los analitos reaccionan con FMOC-Cl mediante una reacción de sustitución nucleofílica a nivel del grupo amino (**Figura 3.6**), en un medio con buffer a pH=9 (Ibáñez et al., 2005). La ventaja de la reacción es que transcurre en medio acuoso, pero debido a la insolubilización del FMOC-Cl en agua, éste se debe vehicular en algún solvente en el que sea soluble y al mismo tiempo que dicho solvente

sea miscible con agua. En tal sentido el más utilizado es el acetonitrilo, siendo la relación óptima final ACN:UPW 1:1 (Hanke et al., 2008). Sin embargo, una desventaja de esta derivatización es la reactividad del FMOC-Cl con el agua, que conduce a la formación de FMOC-OH (reacción del cloruro de acilo con agua) en la mezcla de reacción. Por lo tanto, para obtener un rendimiento cuantitativo de derivatización se debe usar exceso de reactivo derivatizante, que luego debe ser extraído en el paso de purificación con cloruro de metileno (Hanke et al., 2008).

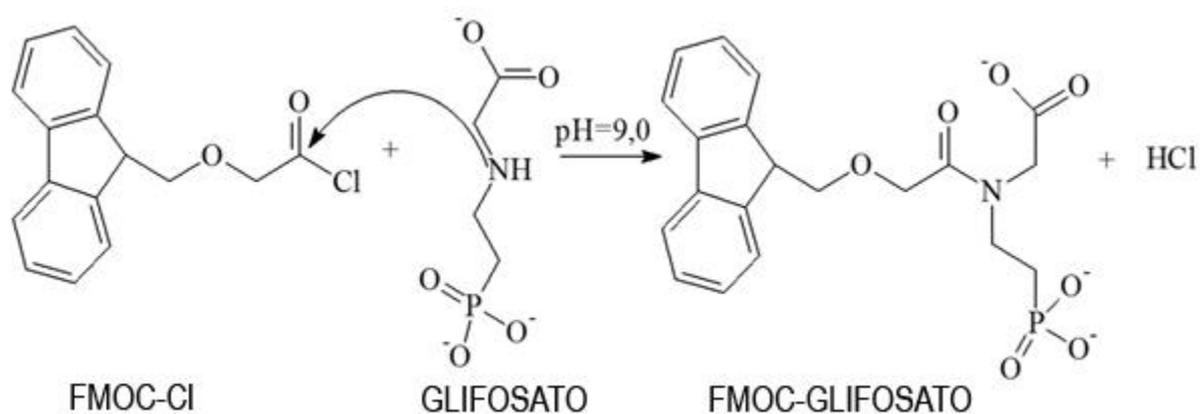
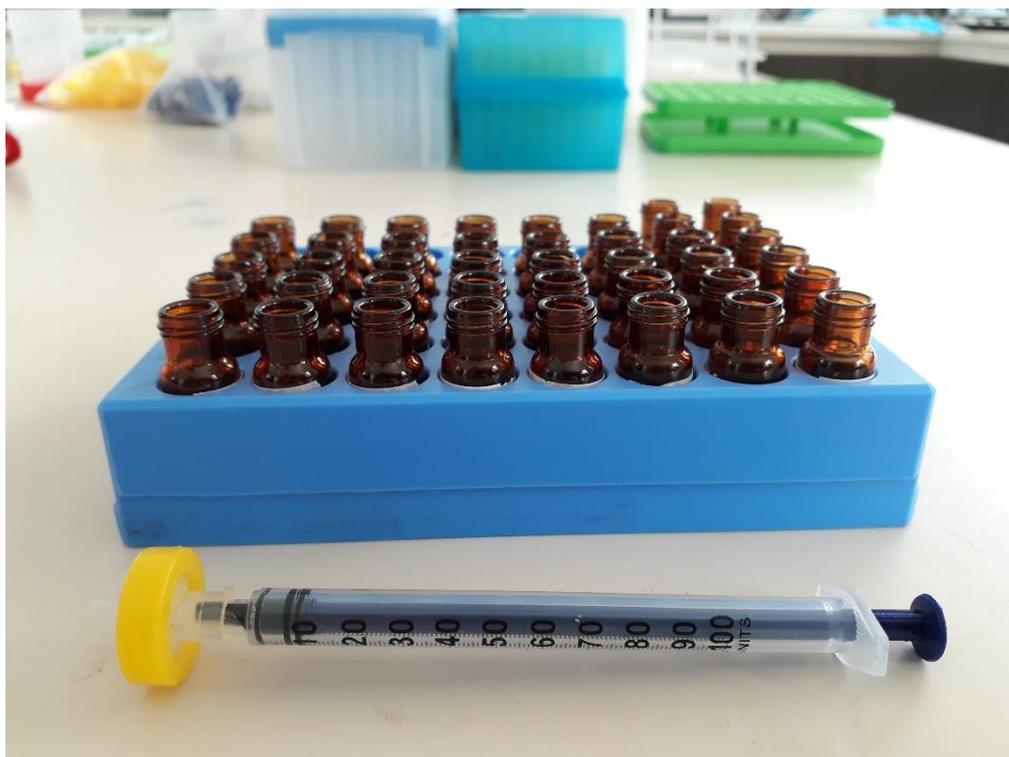


Figura 3.6. Reacción de derivatización de glifosato con FMOC-Cl a pH=9.

Todos los sistemas se dejaron reaccionar en condiciones de oscuridad (para evitar degradación fotolítica del derivatizante) y durante la noche (*overnight*). Posteriormente, se realizó una purificación con DCM en una relación 1:3, con el objetivo extraer compuestos hidrofóbicos y eliminar impurezas como FMOC-OH y el exceso de FMOC-Cl. Finalmente se centrifugó durante 10 minutos a 3000 rpm, para favorecer la separación entre las fases acuosa y orgánica. La fase acuosa (superior) se pasó por un filtro de membrana de nylon de 0,22  $\mu\text{m}$  y trasvasó a un vial cromatográfico para su posterior análisis mediante cromatografía líquida (HPLC-MS o UPLC-MS/MS, **Figura 3.7**).



*Figura 3.7. Viales con muestras filtradas por 0,22  $\mu\text{m}$ , en gradilla para ser colocados en el inyector automático del UPLC-MS/MS. Fotografía sacada por el autor.*

### 3.6.2 Agua superficial

En la **Figura 3.9** se muestra, a modo de resumen, las técnicas y procedimientos analíticos que le aplicarán a la matriz y que se describen en detalle a continuación.

#### 3.6.2.1 Extracción líquido-líquido

El contenido de la botella de vidrio ámbar (agua total) fue trasvasado a una ampolla de decantación de 500 mL y se agregó HCl 6 N para acidificar la muestra y ajustar a pH=5. Las extracciones se realizaron con tres contactos de DCM de 30, 20 y 20 mL, respectivamente. El primer contacto se utilizó para enjuagar la botella donde estaba contenida la muestra, y luego se volcó a la ampolla de decantación. Además se agregó NaCl para ayudar a romper las

emulsiones (Spectro Scientific, 2015). Las sucesivas fracciones orgánicas se recolectaron en viales color caramelo de 100 mL. La **Figura 3.8** muestra fotografías del procesamiento.



*Figura 3.8. Extracciones líquido-líquido en ampollas de decantación.  
Fotografía sacada por el autor.*

## Concentración

A la fracción orgánica recolectada se le agregó  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anh. para eliminar posibles restos de agua. Luego, se le agregaron 40  $\mu\text{L}$  de 1-octanol como solvente auxiliar de evaporación o *keeper* (Anastassiades et al., 2003; Dabrowski, 2016). Acto seguido, se llevó a sequedad en corriente de  $\text{N}_2$  gaseoso. Al volumen del extracto próximo a los 5 mL se lo trasvasó a un tubo de vidrio utilizando una pipeta Pasteur de vidrio. Se lavó el vial caramelo con DCM y se unificó en el tubo. Se continuó el secado con  $\text{N}_2$  hasta sequedad total. La muestra se resuspendió en 500  $\mu\text{L}$  de HEX, se pasó por 1 minuto de vórtex y se colocó en un vial cromatográfico. Se conservó a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  hasta su posterior análisis mediante cromatografía gaseosa.

### 3.6.2.2 Análisis de GGA

Para lograr la reacción de derivatización de los analitos, se tomó una alícuota de 1 mL de agua (total o fracción soluble) y se colocó en un tubo de polipropileno de 15 mL. Se ajustó el pH= 9 por agregado de 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  400 mM y, a continuación, se adicionó 1 mL de FMOC-Cl (1  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  ACN), procediendo de la forma previamente descrita.

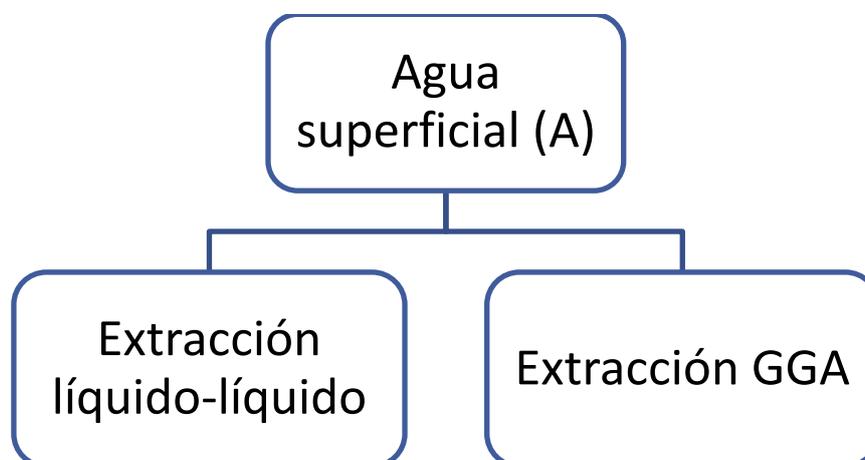


Figura 3.9. Resumen del proceso analítico sobre la matriz agua superficial.

### 3.6.3 Material particulado en suspensión

Al llegar al laboratorio, los filtros que contenían el MPS se colocaron en un desecador durante 24 horas para eliminar restos de agua. Luego se pesaron a la décima de miligramo para, por diferencia de pesada, obtener la masa de MPS. En la **Figura 3.11** se muestra, a modo de resumen, las técnicas y procedimientos analíticos que le aplicarán a la matriz y que se describen en detalle a continuación.

#### 3.6.3.1 Extracción sólido-líquido

El filtro fue extraído por sonicación en un vaso de precipitados de 100 mL, colocando el filtro *boca abajo*, para asegurar el contacto entre el MPS y el solvente (**Figura 3.10**). Como solvente de extracción se utilizaron 5 ml de una mezcla de MeOH:ACE (3:1). Se aplicaron dos contactos, en dos ciclos de sonicación de 10 minutos cada uno con reposo de 5 minutos entre los recambios de solvente (Darwano et al., 2014). La fracción orgánica se recolectó en un tubo de vidrio cónico utilizando una pipeta Pasteur de vidrio.



*Figura 3.10. Vasos de precipitado con filtros para extracción sólido-líquido.  
Fotografía sacada por el autor.*

### Concentración

Al tubo de vidrio que contenía la fracción orgánica se le agregó 40  $\mu\text{L}$  de 1-octanol como auxiliar de evaporación (*keeper*) y se llevó a sequedad en corriente de  $\text{N}_2$  gaseoso. Finalmente, se resuspendió la muestra en 500  $\mu\text{L}$  de HEX, se agitó en vórtex y se trasvasó a vial cromatográfico para su posterior análisis por cromatografía gaseosa.

#### 3.6.3.2 Análisis de GGA

A continuación de la extracción sólido-líquido los filtros se dejaron al aire para la evaporación de los restos de la mezcla de solventes orgánicos. De manera seriada, se procedió con la extracción de GGA. Para ello, se agregaron en el mismo vaso de precipitado 3 mL de buffer fosfato-borato a  $\text{pH}=9$  ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) 100 mM y se sonicó durante 10 minutos. Se tomó 1 mL del sobrenadante y se procedió a la derivatización con FMOC-Cl, de la misma forma que se hizo para las muestras de agua total.



Figura 3.11. Resumen del proceso analítico sobre la matriz MPS.

#### 3.6.4 Sedimentos

Para la extracción de plaguicidas de sedimentos se adaptó la metodología de multiresiduos *QuEChERS* (Mac Loughlin et al., 2017) para la matriz de estudio y analitos de interés. En la

**Figura 3.13** se muestra, a modo de resumen, las técnicas y procedimientos analíticos que se aplicaron a la matriz y que se describen en detalle a continuación.

#### 3.6.4.1 QuEChERS

Las muestras previamente fraccionadas se retiraron del freezer y se descongelaron en heladera para su análisis. Ya descongeladas, se pesaron entre 7 y 8 gramos del sedimento húmedo en un tubo de polipropileno de 50 mL. En cada muestra, se agregó la mezcla de estándares marcados isotópicamente de ATZ\* y CYP\* como estándares de calidad interna, a concentración nominal en el instrumental de detección de  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Al sedimento se le agregaron 15 mL de acetonitrilo. Se agitó vigorosamente y se sonicó la muestra durante 10 minutos. Para llevar a cabo el paso de expulsión salina, mejor conocido por su nombre en inglés: *salting out*, se agregaron 6 gramos de  $\text{MgSO}_4$  anh. y 2 gramos de NaCl previamente calcinado. Se agitó enérgicamente durante 1 minuto, abriendo ocasionalmente el tubo para liberar la presión producida por el calor de hidratación del  $\text{MgSO}_4$  anh. La mezcla de extracción se centrifugó durante 10 minutos a 3000 rpm, 5 mL del sobrenadante (fase orgánica) se trasvasaron a un tubo de vidrio. En la **Figura 3.12** se pueden ver los sedimentos con el ACN y sales de extracción, previo a ser centrifugados.

#### *Clean-up*

Al tubo se le agregaron PSA (1:50) y GCB (1:150) para remover ácidos orgánicos y pigmentos (AOAC, 2011; Mac Loughlin et al., 2017). El tubo fue agitado en vórtex durante 2 minutos y

centrifugado a 3000 rpm durante 5 minutos. El extracto *limpio* se almacenó en otro tubo de vidrio, dejando en el primero los restos sólidos.

### Concentración

Al extracto *limpio* se le agregaron 40  $\mu\text{L}$  de 1-octanol. La muestra se llevó a sequedad bajo corriente de  $\text{N}_2$  y se resuspendió en 500  $\mu\text{L}$  de HEX, agitó en vórtex y se pasó a un vial cromatográfico para su almacenamiento a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  hasta el momento del análisis instrumental mediante cromatografía gaseosa.

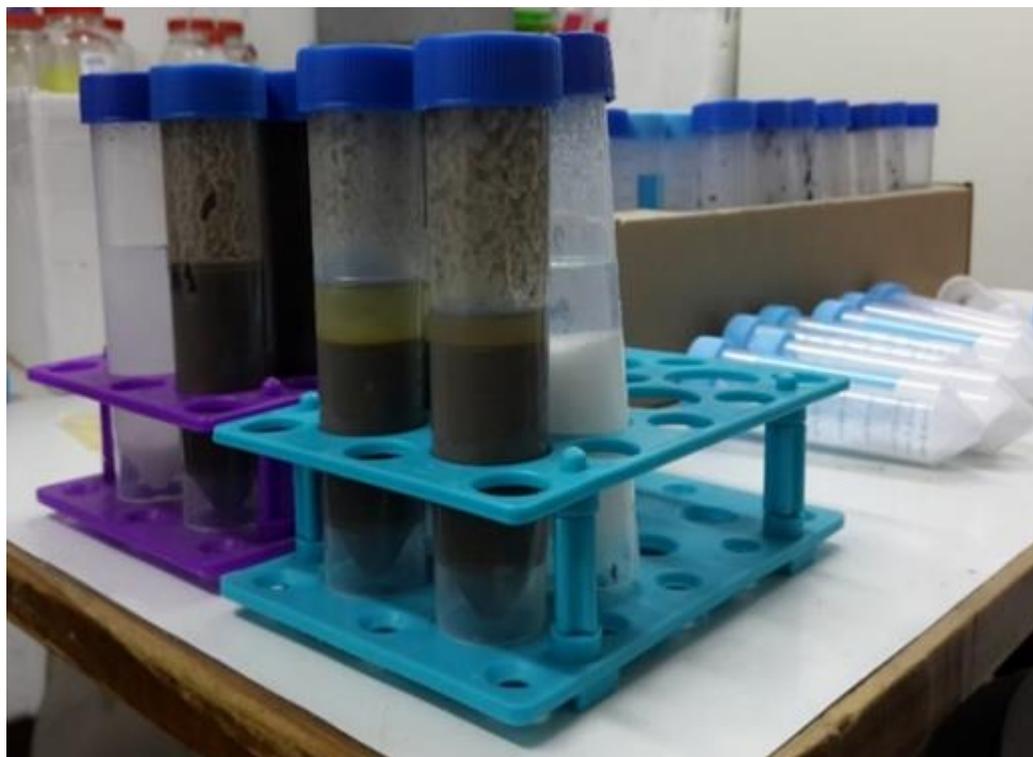


Figura 3.12. Tubos de polipropileno durante extracción de sedimentos por QuEChERS. Fotografía sacada por el autor.

#### 3.6.4.2 Análisis de GGA

Se pesaron entre 7 y 8 gramos del sedimento húmedo en un tubo de polipropileno de 50 mL. En cada muestra, se agregó el estándar marcado isotópicamente de GLY\* como estándar de calidad interna, a concentración nominal en el instrumental de detección de  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Luego, se agregaron 25 mL de buffer borato-fosfato 100 mM (Ronco et al., 2016). Se realizaron 2 ciclos de agitación y sonicación de 10 minutos cada uno. A continuación, se centrifugó por 10 minutos a 3000 rpm y 1 mL del sobrenadante fue utilizado para la derivatización con FMOC-Cl, tal como se detalló previamente.

#### 3.6.4.3 Porcentaje de humedad y porcentaje de carbono orgánico

Se colocaron cápsulas de porcelana en mufla a  $550\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 8 horas. Luego se pasaron a un desecador y se pesaron para conocer el peso de las cápsulas vacías (precisión  $\pm 0,1$  mg). Para la determinación del porcentaje de humedad (peso seco) y pérdida por ignición se pesaron aproximadamente 3 g de sedimentos sobre cápsulas de porcelana pre-pesadas y pre-acondicionadas a  $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Los sedimentos se colocaron en estufa a  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta peso constante (**Ecuación 3.1**). Paso seguido se introdujeron a una mufla a  $550\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta peso constante (Heiri et al., 2001), enfriando en desecador entre pesada y pesada. Para determinar la pérdida por ignición (*loss on ignition*, LOI) se evaluó la pérdida de masa respecto al peso seco según la **Ecuación 3.2**. Finalmente, se calculó el porcentaje de carbono orgánico ( $\%C_{\text{Org}}$ ) según los lineamientos establecidos por SAMLA (2004), tal como se muestra en la **Ecuación 3.3**.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{peso de la muestra} - \text{peso después de } 105^{\circ}\text{C}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

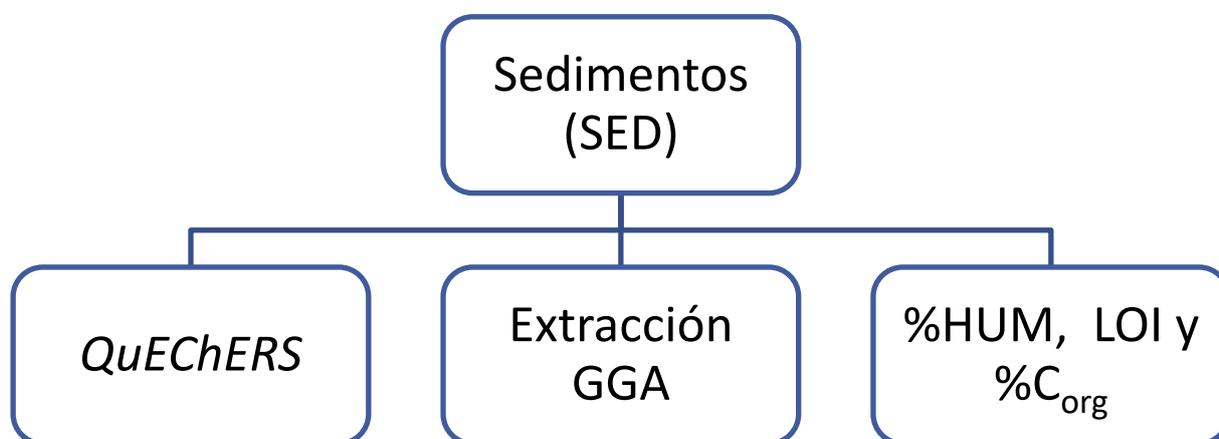
*Ecuación 3.1. Cálculo del porcentaje de humedad.*

$$LOI = \frac{\text{peso después de } 105^{\circ}\text{C} - \text{peso después de } 550^{\circ}\text{C}}{\text{peso después de } 105^{\circ}\text{C}} \times 100$$

*Ecuación 3.2. Cálculo del porcentaje de pérdida por ignición.*

$$\%C_{org} = 0,58 \times LOI$$

*Ecuación 3.3. Cálculo del porcentaje de carbono orgánico.*



*Figura 3.13. Resumen del proceso analítico sobre la matriz sedimento.*

### 3.7 Análisis instrumental

La selección de cada conjunto de iones característicos para cada plaguicida se realizó por estudio de las moléculas en modo de barrido “SCAN” con estándares de  $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  y posteriormente aplicados en modo de ion selectivo (*single ion monitoring*, SIM) para cuadrupolo simple (MS). Para cuadrupolo tándem (MS/MS), se empleó infusión directa para obtener, en primera instancia, los iones padres y luego los iones hijas (*daughters*), seleccionando en las dos etapas los parámetros (voltaje de cono y energía de la celda de colisión) que proporcionen las transiciones de mayor intensidad. En este detector, el análisis

se llevó a cabo en modo de Monitoreo de Reacciones Múltiples (*multiple reaction monitoring*, MRM). En ambos sistemas se trabajó por ventanas de tiempo programadas para los distintos analitos, de modo de obtener una mayor respuesta instrumental (sensibilidad) para cada analito (SANCO, 2006; SANTE, 2015).

#### 3.7.1 CG-MS

Al CG se lo equipó con una columna Phenomenex® Zebron ZB-SemiVolatiles (30 m × 0,25 mm d.i. × 0,25 μm espesor de película). Se empleó He como gas portador, adquirido del Grupo Linde Gas Argentina. Las condiciones cromatográficas incluyeron una rampa de temperatura de 80 °C a 300 °C, y un flujo de 1 mL·min<sup>-1</sup>. El inyector fue seteado a 250 °C y la línea de transferencia a 300 °C. La ionización se llevó a cabo por impacto electrónico, en modo positivo a 70eV. En la **Tabla 3.2** se muestran los iones seleccionados para cada molécula, en el orden de elución.

#### 3.7.1 HPLC-MS

La separación cromatográfica se realizó en una columna C<sub>18</sub> X-SELECT™ (75 mm × 4,6 mm y tamaño de poro de 3 μm). Se utilizó un gradiente de MeOH y UPW, con NH<sub>4</sub>Ac 5 mM como aditivo de ionización en ambas fases, a un flujo de 0,5 mL·min<sup>-1</sup> (**Tabla 3.3**). La temperatura de trabajo de la columna fue de 25 ± 2 °C. El volumen del *loop* de inyección fue de 100 μL. Se empleó una fuente de ionización ESI, operada en modo negativo. Se aplicó nitrógeno como gas auxiliar a 8 L·min<sup>-1</sup> y 330 °C. En la **Tabla 3.4** se muestran los iones seleccionados para cada analito.

Tabla 3.2. Iones de cuantificación y confirmación para los compuestos analizados por CG-MS.

Plaguicida	Abreviatura	Ion de cuantificación (Q)	Ion de confirmación (q)
Atrazina	ATZ	215	200
Atrazina-d <sub>5</sub>	ATZ*	220	205
Acetoclor	ATC	146	162
Metolacloro	MTC	162	238
Trifluralina	TRF	264	306
Pendimetalina	PEN	252	162
Bifentrina	BIF	181	165
Cipermetrina	CYP	163	181
Cipermetrina-fenoxi-d <sub>5</sub>	CYP*	168	186
Deltametrina	DEL	181	253
Permetrina	PER	183	163
λ-cialotrina	λ-CIAL	181	197
Clorpirifós	CLP	197	199
Diazinón	DZN	137	179
Malatión	MAL	173	125
Paratión	PAR	291	139
Metil-paratión	Me-PAR	263	109
Fipronil	FIP	367	369
Endosulfan I	END	241	195
Endosulfan II	END	239	195
Endosulfan sulfato	END-SO <sub>4</sub>	272	239
α-HCH		181	183
β-HCH		181	183
γ-HCH		181	183
Heptacloro	HPC	100	272
Heptacloro epóxido (iso A)	HCE(A)	353	183
Heptacloro epóxido (iso B)	HCE(B)	353	183
Aldrin	ALD	66	263
Dieldrín	DLD	79	81
Endrín	EDN	263	81
Metoxicloro	MXC	227	114
p'p-DDT		235	237
o,p'-DDT		235	237
o,p'-DDE		246	248
p,p'-DDE		246	248
p'p-DDD		235	237
Azoxistrobina	AZX	344	388
Piraclostrobina	PYR	132	164
Epoxiconazol	EPX	192	194
Ciproconazole	CPZ	222	139
Tebuconazol	TEB	125	250
Butóxido de piperonilo	BXP	176	149

Tabla 3.3. Gradiente empleado en la separación cromatográfica por HPLC.

Tiempo (min)	% Fase acuosa (%A)
0.00	80.0
0.50	80.0
1.00	20.0
6.00	20.0
6.20	5.0
7.00	5.0
7.20	80.0
11.00	80.0

Tabla 3.4. Iones de cuantificación y confirmación para los compuestos analizados por HPLC-MS.

Plaguicida	Abreviatura	Ion de cuantificación (Q)	Ion de confirmación (q)
<b>Glifosato</b>	GLY	390	168
<b>Glifosato-2-<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N</b>	GLY*	392	170
<b>Glufosinato</b>	GLU	402	180
<b>Ácido aminometilfosfónico</b>	AMPA	110	332

### 3.7.2 UPLC-MS/MS

El cromatógrafo de ultrapresión se equipó con una columna Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub> (1,7 µm, 50 x 2,1 mm). Igual que para el HPLC-MS, se utilizó un gradiente de MeOH y UPW con NH<sub>4</sub>Ac (5 mM en ambas fases) a un flujo de 0,5 mL·min<sup>-1</sup> para la separación cromatográfica (**Tabla 3.5**) y fuente ESI en modo negativo. La temperatura de trabajo de la columna en esta ocasión fue de 40 ± 2 °C. El volumen de inyección fue de 20 µL. Se empleó Argón como gas de colisión. En la **Tabla 3.6** se muestran las transiciones de iones seleccionadas para cada analito.

Tabla 3.5. Gradiente empleado en la separación cromatográfica por UPLC.

Tiempo (min)	% Fase acuosa (%A)
0.00	100.0
0.20	100.0
2.50	30.0
3.50	0.0
4.70	0.0
4.80	100.0
6.00	100.0

*Tabla 3.6. Transiciones de cuantificación y confirmación para los compuestos analizados por UPLC-MS/MS.*

Plaguicida	Abreviatura	Transición de cuantificación (Q)	Transición de confirmación (q)
<b>Glifosato</b>	GLY	392>88	392>179,1
<b>Glifosato-2-<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N</b>	GLY*	394>90	394>216
<b>Glufosinato</b>	GLU	404,3>179,1	404,3>182
<b>Ácido aminometilfosfónico</b>	AMPA	334>179,1	334>112

### 3.8 Control de calidad y garantía de calidad

Los criterios analíticos aplicados para la identificación y confirmación de las moléculas de plaguicidas fueron la relación entre las áreas cromatográficas de los iones/transiciones características (cuantificación Q y confirmación q, y la relación Q/q) y los tiempos de retención, tanto en los estándares como en las muestras (Cervera et al., 2010), admitiendo una variación máxima de la relación Q/q de un 20% (SANTE, 2015).

Como se detalló previamente para cada matriz y extracción realizada, se hizo uso de estándares internos de plaguicidas marcados isotópicamente. El uso de los mismos estaba destinado a evaluar factores como el tiempo de almacenamiento de la muestra/extracto, la eficiencia de extracción, las pérdidas por evaporación y manipulación sobre la recuperación global a lo largo del proceso de análisis (Anastassiades et al., 2003). El uso de estos trazadores isotópicos, junto con la detección por espectrometría de masas, le otorgan un mayor grado de confiabilidad a los resultados obtenidos.

### 3.9 Validación analítica de la metodología

Los parámetros que se evaluaron fueron: linealidad, precisión, exactitud, límite de detección, límite de cuantificación y recuperación, según los criterios establecidos por la Comunidad Europea para el análisis de residuos de plaguicidas por espectrometría de masas (SANTE, 2015).

La linealidad se estudió en un intervalo de 0 a 100  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de concentración nominal para todos los analitos. Las curvas de calibración se obtuvieron a partir de la inyección del conjunto de patrones en las mismas condiciones instrumentales que las muestras utilizando el área cromatográfica como parámetro de respuesta. A través de regresión lineal se obtuvo la pendiente y la ordenada al origen con sus respectivas desviaciones estándar (DE) para cada curva de calibración y coeficiente de determinación ( $r^2$ ).

La repetibilidad instrumental fue evaluada a partir de sucesivas inyecciones de estándar de concentración nominal 100  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , para obtener una respuesta inter e intradía. La exactitud se evaluó a partir de determinaciones obtenidas de cada curva de calibración. La precisión se obtuvo a partir de las desviaciones estándar relativas (DER%, **Ecuación 3.4**) de las réplicas para cada concentración nominal, mientras que la exactitud se evaluó a través del error relativo (ER%, **Ecuación 3.5**) entre cada determinación y su correspondiente concentración nominal. En las ecuaciones:  $\bar{x}$  corresponde al valor medio, y  $x_i$  corresponde al valor medido.

$$DER\% = \frac{DE}{\bar{x}} \times 100$$

*Ecuación 3.4. Cálculo de la desviación estándar relativa porcentual.*

$$ER\% = \frac{(x_i - x_{real})}{x_{real}} \times 100$$

*Ecuación 3.5. Cálculo del error relativo porcentual.*

Los límites de detección y cuantificación teóricos del instrumento ( $LDI_{teórico}$  y  $LCI_{teórico}$ ) se calcularon teniendo en cuenta la desviación estándar de cada curva de calibración de los distintos plaguicidas, utilizando la relación 3 y 10 para obtener el límite de detección y cuantificación respectivamente (**Ecuación 3.6** y **Ecuación 3.7**). En las ecuaciones:  $\sigma$  corresponde a la desviación estándar de la ordenada al origen, y la *respuesta específica* es el valor de la pendiente de la recta.

$$LDI_{teórico} (\mu g \cdot L^{-1}) = 3 \times \frac{\sigma}{\text{respuesta específica}}$$

*Ecuación 3.6. Cálculo del límite teórico de detección instrumental.*

$$LCI_{teórico} (\mu g \cdot L^{-1}) = 10 \times \frac{\sigma}{\text{respuesta específica}}$$

*Ecuación 3.7. Cálculo del límite teórico de cuantificación instrumental.*

Los límites de detección y cuantificación experimentales del instrumento ( $LDI_{exp}$  y  $LCI_{exp}$ ) se calcularon en base a la relación señal-ruido de un estándar, para cada compuesto, donde se utilizó la relación 3 y 10 para obtener el límite de detección y cuantificación, respectivamente (**Ecuación 3.8** y **Ecuación 3.9**).

$$LDI_{exp} (\mu g \cdot L^{-1}) = 3 \times \frac{\text{concentración conocida}}{\text{relación señal – ruido}}$$

*Ecuación 3.8. Cálculo del límite experimental de detección instrumental.*

$$LCI_{exp} (\mu g \cdot L^{-1}) = 10 \times \frac{\text{concentración conocida}}{\text{relación señal – ruido}}$$

*Ecuación 3.9. Cálculo del límite experimental de cuantificación instrumental.*

Los límites de detección y cuantificación del método (LD y LC) se obtuvieron a partir de las ecuaciones anteriores teniendo en cuenta los factores de dilución y pesada según el procedimiento metodológico aplicado en cada tipo de matriz (**Ecuación 3.10** y **Ecuación 3.11**).

En las ecuaciones:  $f$  es la relación de volumen de extractante a masa de muestra empleada para matrices sólidas, y el factor de dilución para matrices líquidas.

$$LD = LDI \times f$$

*Ecuación 3.10. Cálculo del límite de detección del método.*

$$LC = LCI \times f$$

*Ecuación 3.11. Cálculo del límite de cuantificación del método.*

La recuperación de las técnicas se verificó por medio del sobreagregado de plaguicidas (Marino & Ronco, 2005), así como por el uso de plaguicidas marcados isotópicamente en todas las muestras (Anastassiades et al., 2003). Se realizó la comparación de las cuantificaciones obtenidas con estándares de referencia de concentración equivalente a la esperada. Las recuperaciones se calcularon de acuerdo con la **Ecuación 3.12**. En la ecuación:  $A_m$  es el área del pico promedio medida en la muestra, y  $A_s$  es el área del estándar de referencia de concentración equivalente a la esperada.

$$R\% = \frac{A_m}{A_s} \times 100$$

*Ecuación 3.12. Cálculo de la recuperación.*

### 3.10 Análisis de resultados

Las concentraciones obtenidas de los plaguicidas individuales durante cada campaña de muestreo y para los distintos sitios muestreados, se presentan en tablas. Se evaluaron las frecuencias de detección de los compuestos en cada matriz analizada. Las concentraciones de plaguicidas por debajo del LD fueron reemplazadas por la mitad del correspondiente límite (Delistraty & Yokel, 2007). Los casos detectables no cuantificables (con valores entre LD y LC) se reemplazaron por el valor promedio entre los límites de detección y cuantificación. La carga

total de plaguicidas fue calculada como la suma de las concentraciones de cada plaguicida, considerando a la densidad del agua igual a 1 ( $\delta_{H_2O} = 1 \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

Para evaluar los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas de los datos se realizaron las pruebas de Shapiro-Wilk y Bartlett, respectivamente. En los casos donde los datos de concentración no siguieron una distribución normal, se utilizaron pruebas no paramétricas para su análisis (prueba U de Mann Whitney, prueba de Kruskal Wallis). Se realizaron ajustes de correlación con funciones lineales y funciones exponenciales.

Se aplicaron herramientas del análisis multivariado como Análisis de Componentes Principales (*Principal Component Analysis*, PCA), utilizando como variables cualitativas atributos como las campañas de muestreo, los sitios de muestreo y tipo de plaguicidas. Los sistemas de cálculo fueron alimentados con variables cuantitativas como las concentraciones de cada compuesto estudiado, en cada matriz y las características fisicoquímicas del medio.

En todos los casos se trabajó con un nivel de significancia  $\alpha=0,05$ . Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando herramientas de los softwares STATISTICA (Stat Soft, Inc. 2001; versión 7) y XL-STAT (Addinsoft 2016; 01.26136).

#### 3.1 Resultados de validación analítica

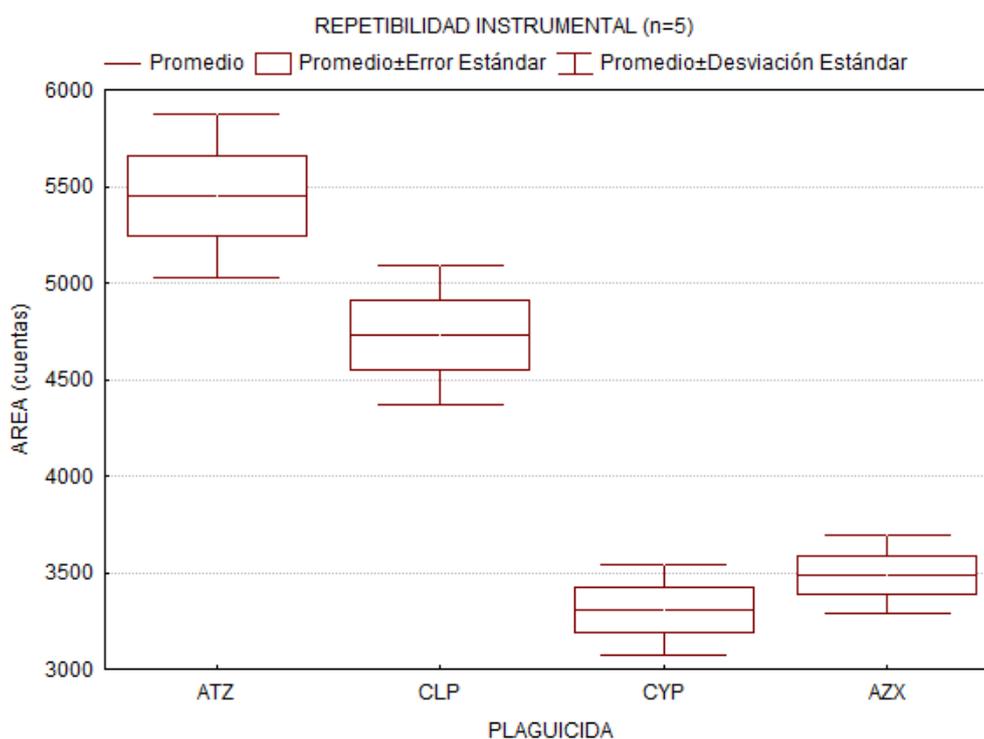
El método fue lineal en el intervalo de 0 a  $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  nominales para todos los analitos (**Tabla 3.7**). De inyecciones sucesivas del mismo estándar de concentración nominal  $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  en el CG-MS se obtuvo una variación menor al 10% en la respuesta (**Figura 3.14**). Sin embargo, esto no se condice con lo observado respecto de la variación de la respuesta instrumental en

Tabla 3.7. Coeficientes de determinación ( $r^2$ ), precisión (DER%), y exactitud (ER%) promedio de plaguicidas analizados por CG-MS.

Plaguicida	$r^2$	DER%	ER%
ATZ	0,989	17,78	1,86
ATC	0,968	16,47	1,70
MTC	0,992	15,15	-6,71
PEN	0,970	17,69	-6,32
TRF	0,972	13,80	-1,69
BIF	0,991	9,65	2,77
CYP	0,921	8,15	3,42
DEL	0,902	9,65	-0,96
PER	0,987	11,35	-0,65
$\lambda$ -CIAL	0,958	13,06	-0,49
CLP	0,959	14,25	-3,86
DZN	0,973	12,34	-8,74
MAL	0,965	13,30	0,42
PAR	0,986	12,90	0,51
Me-PAR	0,988	13,16	0,53
FIP	0,917	3,43	-0,90
ENDI	0,996	9,82	-0,33
ENDII	0,977	4,40	2,92
END-SO <sub>4</sub>	NA	NA	NA
$\alpha$ -HCH	0,976	10,94	2,09
$\beta$ -HCH	0,959	12,83	-5,42
$\gamma$ -HCH	0,945	8,74	0,99
HPC	0,983	9,54	-10,58
HCE(A)	0,985	19,30	-5,12
HCE(B)	0,983	12,26	0,54
ADN	0,991	4,04	1,68
DND	0,988	6,05	1,00
EDN	0,993	13,99	-3,54
MXC	NA	NA	NA
p,p'-DDT	0,966	6,63	5,67
o,p'-DDT	0,953	12,22	1,83
o,p'-DDE	0,981	8,41	-4,52
p,p'-DDE	0,978	5,90	-3,02
p,p'-DDD	0,977	8,10	0,34
AZX	0,999	1,69	0,59
PYR	0,992	9,19	-10,38
EPX	0,966	18,81	-11,34
CPZ	0,967	20,02	-0,34
TEB	0,969	19,18	5,00
BXP	0,973	3,54	2,68

NA: No analizado.

distintos días, o a lo largo del mismo día de trabajo, como se ejemplifica en la **Figura 3.15** para los compuestos ATZ (herbicida), CLP (insecticida organofosforado), CYP (insecticida piretroide), y AZX (fungicida). Allí se puede ver que existen variaciones inter e intradía a lo largo de 5 días para los plaguicidas seleccionados de ejemplo. Es por ese motivo que, para el análisis de plaguicidas en CG-MS, se optó por la inyección de estándares a lo largo del día de trabajo, intercalándolos entre 3 a 5 muestras, dependiendo de la matriz analizada, de modo de poder contemplar esta variación. Así también es importante el uso de marcadores isotópicos, ya que permite la corrección de estas variaciones instrumentales (Anastassiades et al., 2003; Hladik & McWayne, 2012).



*Figura 3.14. Repetibilidad instrumental en CG-MS para algunos plaguicidas de distinto grupo químico y organismo blanco.*

### 3. Materiales y métodos: muestreos ambientales

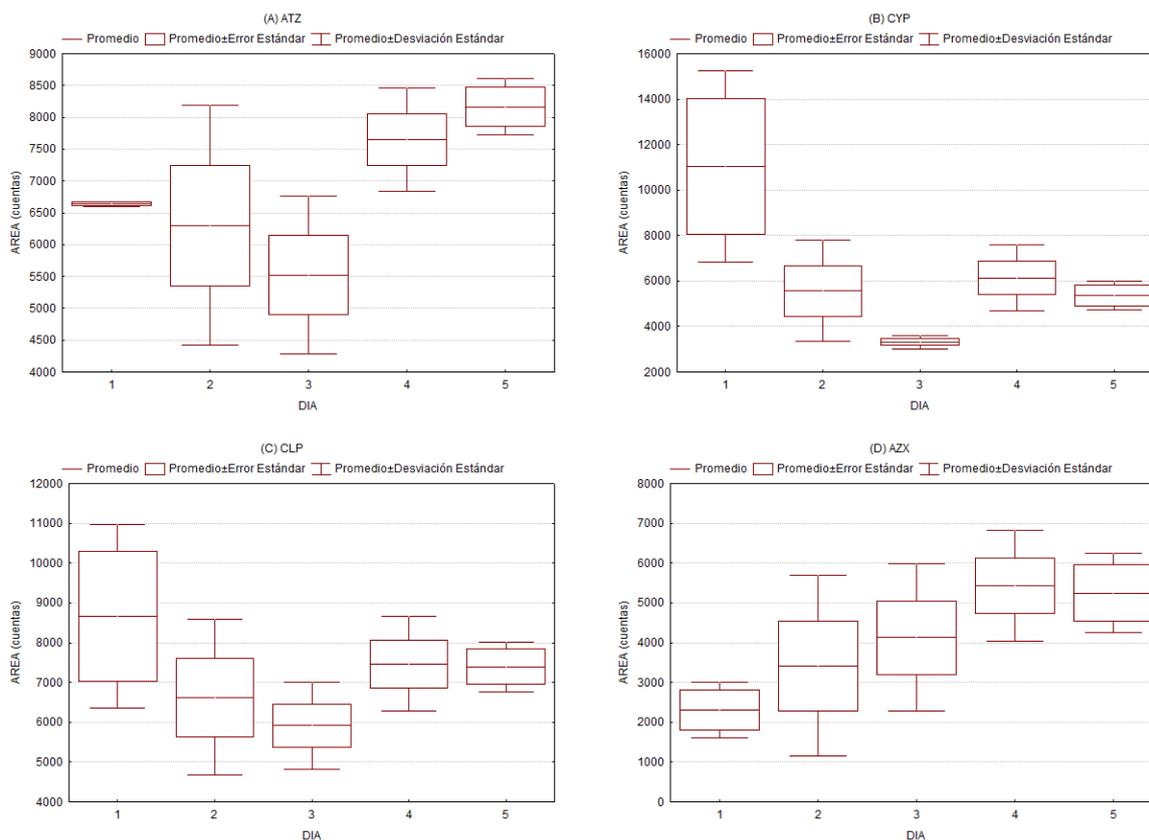


Figura 3.15. Variación inter e intradía de estándar de concentración nominal  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para algunos compuestos de distinto grupo químico y tipo: (A) ATZ, (B) CYP, (C) CLP, y (D) AZX.

La precisión, calculada a partir de desviación estándar relativa (DER%), y la exactitud, evaluada a través del error relativo (ER%), se presentan en la **Tabla 3.7**. Ambos parámetros se encontraron en el rango de aceptabilidad por la normativa establecida por la Comunidad Europea para el análisis de residuos de plaguicidas (SANCO, 2006; SANTE, 2015). El valor máximo de %DER fue de 20%, situándolo por debajo del máximo de 22% establecido para concentraciones en el rango de hasta  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Los resultados de la exactitud dieron valores que difieren según la concentración: a menor concentración, mayor fue el error, y viceversa, tal como era de esperarse según la teoría de propagación de errores. Sin embargo, en promedio estas variaciones se encontraron por debajo del  $\pm 10\%$ . Nuevamente, estos resultados remarcan la importancia de intercalar estándares entre las muestras y el uso de

estándares internos al momento del análisis instrumental para realizar un seguimiento continuo de la variación instrumental en comparación con cartas control.

Los resultados de límites de detección (LD) y límites de cuantificación (LC) para los compuestos analizados por GC-MS se presentan en la **Tabla 3.8**. En la **Tabla 3.9** y **Tabla 3.10** se presentan los resultados para los compuestos analizados por HPLC-MS y UPLC-MS/MS, respectivamente.

La utilización de un sistema UPLC-MS/MS presenta varias ventajas por sobre el análisis mediante HPLC-MS. En principio, el sistema con cuadrupolos tándem posee una mayor selectividad, gracias al complemento del tercer cuadrupolo. Al mismo tiempo, esta característica aporta un aumento en la sensibilidad, como se puede observar en los LD y LC para los compuestos analizados en estos instrumentos, con LD y LC unas 10 veces menor para el sistema de triple cuadrupolo. Esta respuesta instrumental es de utilidad en el análisis de compuestos a concentraciones traza en matrices complejas. Sumado a esto, el método MRM con transiciones de masas *versus* el método SIM otorga mayor confiabilidad sobre la identidad molecular del analito ya que las reacciones en la celda de colisión son específicas. Al mismo tiempo, el empleo de un sistema cromatográfico UPLC reduce significativamente los tiempos de corrida cromatográfica, acortando los tiempos de análisis por muestra y disminuyendo el uso de solventes en las fases móviles.

Tabla 3.8. Límites de detección y cuantificación para los compuestos analizados por CG-MS.

Plaguicida	Límite Instrumental Exp.		LD			LC		
	Detección ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Cuantificación ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	A ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	MPS ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	SED ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	A ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	MPS ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	SED ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
ATZ	2	6	0,002	0,01	0,4	0,006	0,03	1
ATC	1	3	0,001	0,005	0,2	0,003	0,02	0,6
MTC	1	2	0,001	0,005	0,2	0,002	0,01	0,4
PEN	4	12	0,004	0,02	0,8	0,01	0,06	2
TRF	0,1	0,5	0,0001	0,0005	0,02	0,0005	0,003	0,1
BIF	0,5	2	0,0005	0,003	0,1	0,002	0,01	0,4
CYP	2	8	0,002	0,01	0,4	0,008	0,04	2
DEL	1	4	0,001	0,005	0,2	0,004	0,02	0,8
PER	0,4	1	0,0004	0,002	0,08	0,001	0,005	0,2
$\lambda$ -CIAL	0,5	2	0,0005	0,003	0,1	0,002	0,01	0,4
CLP	2	6	0,002	0,01	0,4	0,006	0,03	1
DZN	2	6	0,002	0,01	0,4	0,006	0,03	1
MAL	0,8	3	0,0008	0,004	0,2	0,003	0,02	0,6
PAR	2	5	0,002	0,01	0,4	0,005	0,03	1
Me-PAR	6	20	0,006	0,03	1	0,02	0,1	4
FIP	0,6	2	0,0006	0,003	0,1	0,002	0,01	0,4
ENDI	1	5	0,001	0,005	0,2	0,005	0,03	1
ENDII	1	5	0,001	0,005	0,2	0,005	0,03	1
END-SO <sub>4</sub>	0,5	2	0,0005	0,003	0,1	0,002	0,01	0,4
$\alpha$ -HCH	7	22	0,007	0,04	1	0,02	0,1	4
$\beta$ -HCH	10	34	0,01	0,05	2	0,03	0,2	7
$\gamma$ -HCH	11	35	0,01	0,06	2	0,04	0,2	7
HPC	10	34	0,01	0,05	2	0,03	0,2	7
HCE(A)	2	6	0,002	0,01	0,4	0,006	0,03	1
HCE(B)	3	7	0,003	0,02	0,6	0,007	0,04	1
ADN	13	43	0,01	0,07	3	0,04	0,2	9
DND	6	21	0,006	0,03	1	0,02	0,1	4
EDN	13	44	0,01	0,07	3	0,04	0,2	9
MXC	0,4	1	0,0004	0,002	0,08	0,001	0,005	0,2
p,p'-DDT	4	13	0,004	0,02	0,8	0,01	0,07	3
o,p'-DDT	1	4	0,001	0,005	0,2	0,004	0,02	0,8
o,p'-DDE	0,5	2	0,0005	0,003	0,1	0,002	0,01	0,4
p,p'-DDE	0,9	3	0,0009	0,005	0,2	0,003	0,02	0,6
p,p'-DDD	5	17	0,005	0,03	1	0,02	0,09	3
AZX	2	7	0,002	0,01	0,4	0,007	0,04	1
PYR	3	9	0,003	0,02	0,6	0,009	0,05	2
EPX	4	13	0,004	0,02	0,8	0,01	0,07	3
CPZ	7	22	0,007	0,04	1	0,02	0,1	4
TEB	6	20	0,006	0,03	1	0,02	0,1	4
BXP	0,1	0,3	0,0001	0,0005	0,02	0,0003	0,002	0,06

NA: No analizado.

Tabla 3.9. Límites de detección y cuantificación para los compuestos analizados por HPLC-MS, instrumentales y del método. Coeficiente de determinación  $r^2$  para cada compuesto.

Plaguicida	Límite Inst. Exp.		LD			LC			$r^2$
	Det. ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Cuant. ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	A ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	MPS ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	SED ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	A ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	MPS ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	SED ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	
<b>GLY</b>	0,5	1	0,5	3	5	1	7	10	0,979
<b>GLU</b>	0,5	1	0,5	3	5	1	7	10	0,953
<b>AMPA</b>	0,5	1	0,5	3	5	1	7	10	0,965

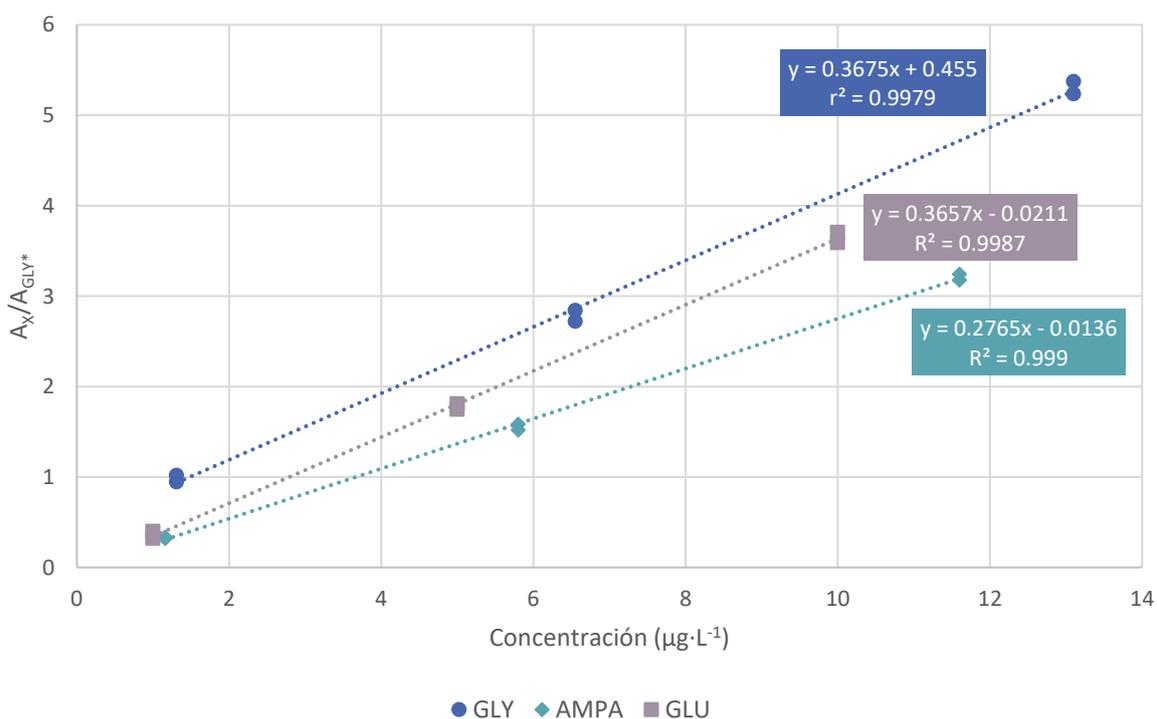
Tabla 3.10. Límites de detección y cuantificación para los compuestos analizados por UPLC-MS/MS, instrumentales y del método. Coeficiente de determinación  $r^2$  para cada compuesto.

Plaguicida	Límite Inst. Exp.		LD			LC			$r^2$
	Det. ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Cuant. ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	A ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	MPS ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	SED ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	A ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	MPS ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	SED ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	
<b>GLY</b>	0,03	0,1	0,03	0,2	0,3	0,1	0,5	1	0,990
<b>GLU</b>	0,04	0,1	0,04	0,2	0,3	0,1	0,5	1	0,987
<b>AMPA</b>	0,04	0,1	0,04	0,3	0,6	0,1	0,9	2	0,992

Debido a que, para cada análisis de GGA se lleva a cabo primera instancia de extracción y ajuste de pH con una solución buffer, seguida de una derivatización, para la cual la solución de FMOC-Cl se prepara en el momento, se realiza una curva con esos mismos buffers y solución de buffer para mantener estables las condiciones de procesamiento de la muestra y curva de calibración asociada. Por ese motivo, y teniendo en cuenta los rangos de concentraciones esperados según la experiencia del laboratorio y publicaciones previas, es que para el análisis en aguas se trabajó con curvas de, generalmente, 1 a 10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , ocasionalmente agregando una concentración menor a 1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para el análisis por UPLC-MS/MS, y para MPS y sedimentos de 10 a 100  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  en ambos sistemas cromatográficos; conformadas por 4 o 5 puntos de concentración en los mencionados rangos. En la **Tabla 3.9** y **Tabla 3.10** se informan los coeficientes de determinación promedio, obtenidos a partir de múltiples análisis de dichos analitos en las distintas matrices, y llevados

a cabo en distintos momentos. Puede observarse que, los coeficientes  $r^2$  para UPLC-MS/MS son mayores que para HPLC-MS, evidenciando la incidencia en la reproducibilidad del primer sistema de análisis que cuenta con inyector automático, mientras que la inyección en el segundo es manual.

De la misma forma que se le agregó GLY\* a las muestras, la misma cantidad se le agregó a los puntos de la curva. Por ese motivo, se trabajó con la relación de los analitos normalizados respecto de la señal respuesta de GLY\*, muestra a muestra ( $A_X/A_{GLY^*}$ ). A modo de ejemplo, en la **Figura 3.16** se presentan las curvas de calibración normalizadas para el análisis de las aguas superficiales de CHP6, analizadas por UPLC-MS/MS.



*Figura 3.16. Curvas de calibración del análisis de glifosato, glufosinato y AMPA en agua superficial del durante el muestreo de la campaña CHP6.*

# CAPÍTULO 4

## DINÁMICA AMBIENTAL DE PLAGUICIDAS EN EL CORDÓN HORTÍCOLA PLATENSE

## 4. Dinámica ambiental de plaguicidas en el Cordón Hortícola Platense

### 4.1 Descripción general de la región

Los plaguicidas se utilizan ampliamente en los sistemas de producción agrícola argentinos para controlar plagas no deseadas. En particular, el sistema de producción hortícola depende en gran medida de ellos (Kreuger et al., 2010; Oliver et al., 2012; Sarandón, 2015). El régimen de uso de plaguicidas empleado está influenciado principalmente por las diferentes amenazas que enfrentan las hortalizas que se producen, y cada unidad de producción tiene múltiples cultivos que se producen simultáneamente. En consecuencia, existe una gran variedad y carga de plaguicidas que se aplican en la horticultura (Sarandón, 2015). Dado que esta actividad se lleva a cabo durante todo el año, el uso de plaguicidas es continuo, con más aplicaciones durante el ciclo estival, cuando las temperaturas son más cálidas (Marino & Ronco, 2005; Wightwick et al., 2012).

Existen varios procesos mediante los cuales los plaguicidas pueden transportarse desde la tierra cultivada a compartimentos no objetivo, como aguas superficiales: el drenaje de los invernaderos puede movilizar rápidamente los plaguicidas (Kreuger et al., 2010), lo mismo que la escorrentía superficial que contiene partículas de suelo erosionadas con residuos de plaguicidas adsorbidos (Cruzeiro et al., 2016; Topaz et al., 2018).

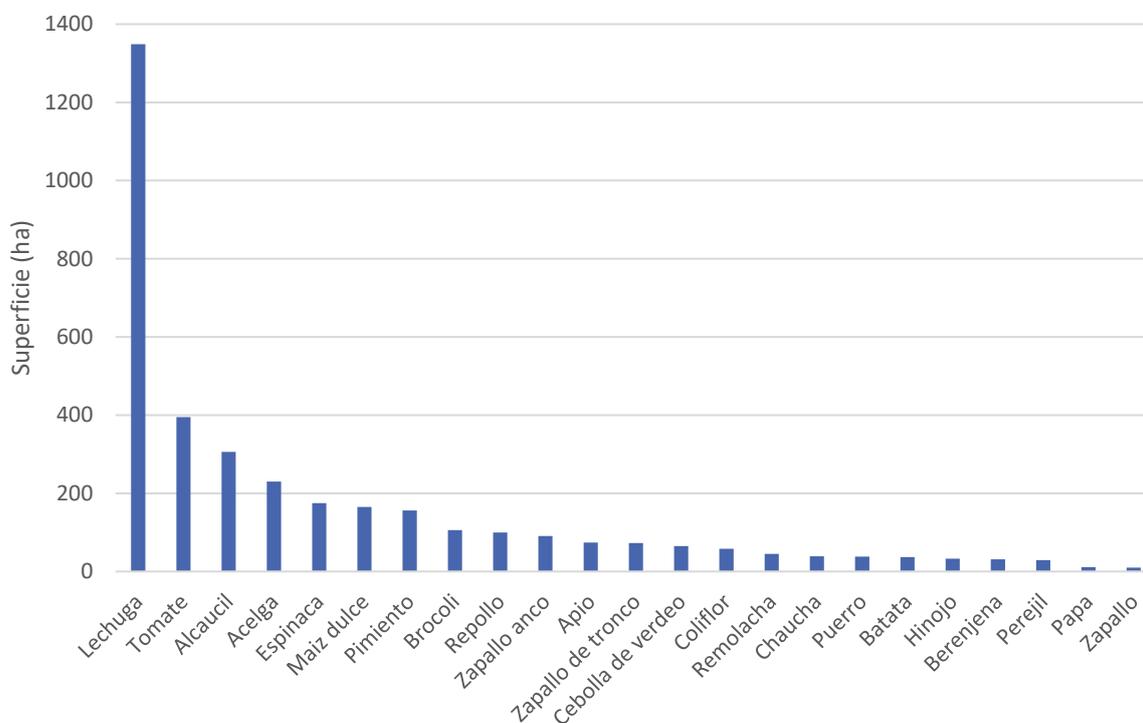
La presencia de plaguicidas en cuerpos de agua ha sido estudiada en Argentina (Bonansea et al., 2013; Etchegoyen et al., 2017; Hunt et al., 2016; Marino & Ronco, 2005; Primost et al., 2017; Ronco et al., 2016), y el resto del mundo (Ccanccapa et al., 2016; Chen et al., 2018;

Cruzeiro et al., 2016; Feo et al., 2010; Herrero-Hernández et al., 2013; Reilly et al., 2012; Smalling et al., 2013; Weston & Lydy, 2010b). Sin embargo, la mayoría de las investigaciones realizadas se centran en fuentes difusas de grandes extensiones de monocultivos que se encuentra en torno a ríos caudalosos. Comparativamente, hay poca información sobre la contaminación por plaguicidas resultante exclusivamente de la actividad hortícola (Allinson et al., 2014; Kreuger et al., 2010; Mac Loughlin et al., 2017; Wightwick et al., 2012). Además, una pequeña fracción de estos estudios se han realizado en pequeños cuerpos de agua, sistemas que tienen la característica de tener un alto riesgo de contaminación por plaguicidas (Szöcs et al., 2017).

##### **4.1.1 Horticultura en la ciudad de La Plata**

La principal actividad productiva en el partido de La Plata no es la agricultura extensiva, sino los cultivos hortícolas. Recientemente, el Cinturón Hortícola Platense (CHP) ha crecido tanto en su superficie cultivada como en productividad e importancia, a nivel regional, provincial y nacional. Muchos han sido los factores que han facilitado y hasta potenciado este auge. Uno de ellos ha sido la temprana, profunda y continua incorporación de la tecnología del invernáculo, caracterizada por estructuras de madera recubiertas con polietileno que buscan controlar el ambiente (M. García, 2011). Además del control del ambiente, el resto de los factores productivos están más cercanos al óptimo de cada cultivo, lo que trae como consecuencia un mayor rendimiento y superior calidad comercial. El cinturón verde hortícola de La Plata es uno de los más importantes del país, donde se dedican más de 6.000 hectáreas a la producción de hortalizas frescas, de las cuales el 65,6% son a campo y 34,4% están bajo cubierta (Municipalidad de La Plata, 2005; Sarandón, 2015).

De los principales cultivos que se producen en la región se destacan las distintas variedades de lechuga (capuchina, crespa, criolla, etc.), seguida en un distante segundo lugar por el tomate (**Figura 4.1**, se listan aquellos que ocupan más de 10 ha).



*Figura 4.1. Principales cultivos hortícolas (mayores a 10 ha) en Cinturón del Gran Buenos Aires Sur: La Plata, Florencio Varela, Berazategui y Esteban Echeverría. Elaboración propia. Fuente: Sarandón (2015).*

Este modelo tecnológico posee una serie de exigencias, entre ellas: la alta demanda y dependencia de agroquímicos (M. García, 2011; Sarandón, 2015). Por ejemplo, en los cultivos de tomate se contabilizaron el uso de más de 60 principios activos. Esto no sólo plantea un problema de contaminación ambiental, sino que, a su vez, los plaguicidas contaminan a los alimentos, tornando su consumo riesgoso para la población (Mac Loughlin et al., 2018). Según estudios realizados, el caso más problemático lo constituyen las hortalizas para el consumo en fresco donde el tiempo de carencia no es respetado por los productores a lo que se suma

la inexistencia de controles en los mercados concentradores (Souza Casadinho & Bocero, 2008).

Sin embargo, esta situación es más compleja aún: existe una heterogeneidad entre los emprendimientos hortícolas en lo que respecta a niveles de capitalización, adopción tecnológica, y escala productiva (M. García, 2008). El CHP alberga gran cantidad de pequeños productores en situaciones productivas adversas y en condiciones de vida precarias, contrastando con productores empresariales. La gran mayoría de los pequeños productores no son dueños de la tierra, debiendo pagar altos precios de arrendamiento para acceder a ella: el 50% de la superficie hortícola se arrienda, mientras que 66-75% de los productores no son propietarios de la tierra que producen (Municipalidad de La Plata, 2005). La presión económica por pagar la renta y la falta de regulación y acompañamiento del estado hacia este estrato de la sociedad genera un manejo poco o nada cuidadoso de la tierra (sin descansos, con altas aplicaciones de fertilizantes y plaguicidas) que degradan este bien (M. García, 2015).

De acuerdo al *Relevamiento de la utilización de agroquímicos en la Provincia de Buenos Aires* (Sarandón, 2015), en el CHP se aplican 168 ingredientes activos, de distintas categorías toxicológicas y bandas (**Figura 4.2**). En consecuencia, la ciudad posee el valor más alto del índice de peligrosidad hortícola (**Figura 4.3**), resultado de la cantidad de activos que se usan para cada producción, la peligrosidad de cada activo, y la superficie cultivada, entre otros factores.

Cabe destacar que, entre los activos de banda roja, se encuentra el endosulfán, un insecticida organoclorado que mediante la Resolución 511/2011 del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) quedó prohibida su importación y productos formulados

desde julio de 2012; y desde de julio 2013 quedó prohibida la elaboración, formulación, comercialización y uso de productos que lo contengan.

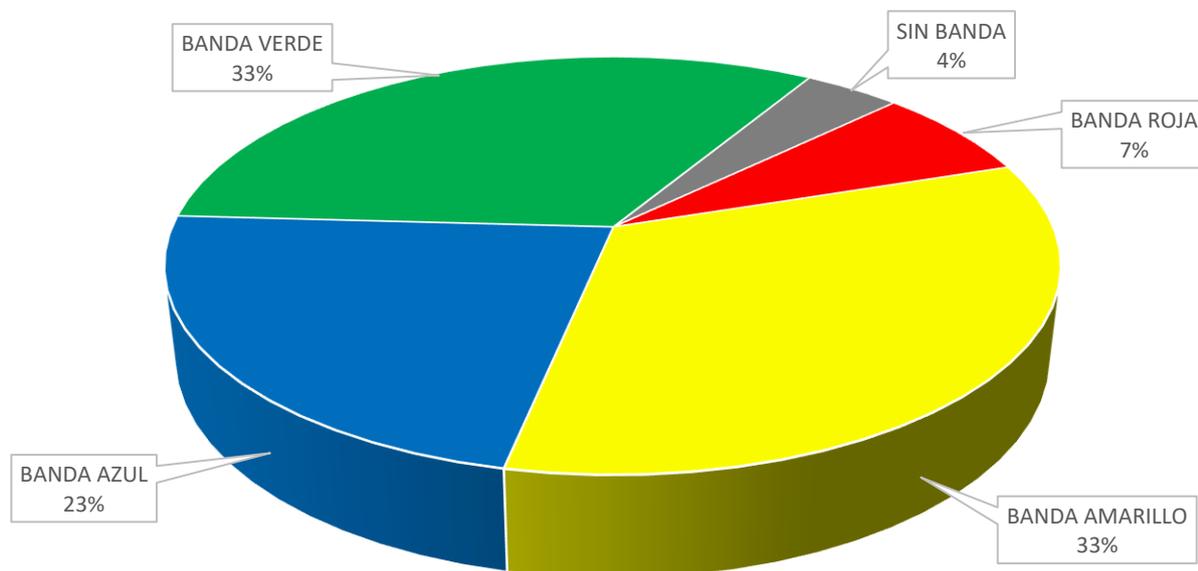


Figura 4.2. Distribución de las bandas toxicológicas de los ingredientes activos utilizados en el CHP. Elaboración propia. Fuente: Sarandón (2015).

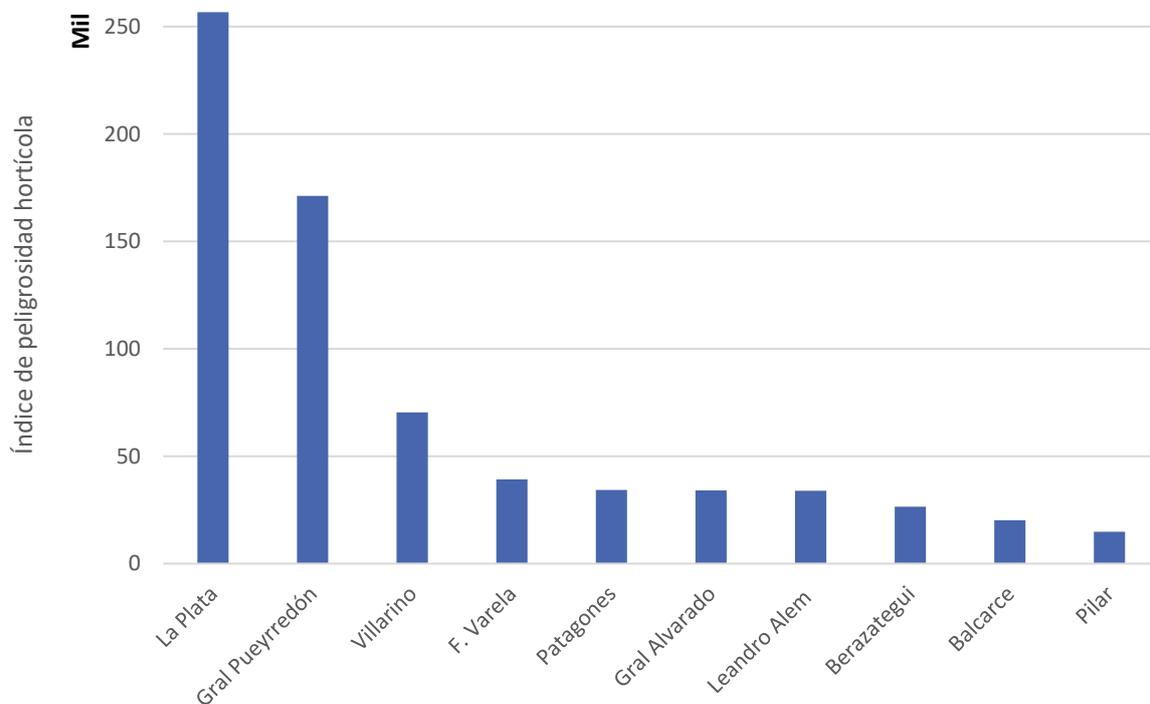


Figura 4.3. Partidos de Buenos Aires con los 10 mayores índices de peligrosidad hortícola. Elaboración propia. Fuente: Sarandón (2015).

A pesar de la relevancia de esta actividad a nivel mundial, hay escasez de información sobre el impacto de la horticultura en los ambientes acuáticos. Al mismo tiempo, existe poca información sobre la contaminación por plaguicidas en pequeñas masas de agua. En este contexto el objetivo del presente trabajo es evaluar el riesgo sobre organismos acuáticos derivado del uso de plaguicidas en horticultura, con base en información real de concentraciones de herbicidas, insecticidas y fungicidas en las diferentes matrices del medio acuático, así como evaluar su comportamiento en función de la dinámica de las precipitaciones.

### **4.2 Características del área de estudio**

El Gran La Plata es un aglomerado urbano formado alrededor de la ciudad de La Plata. Está compuesto por parte de la población urbana del Partido de La Plata, y de los Partidos de Ensenada y Berisso. Posee 787.294 habitantes en su zona urbana, con 196.527 habitantes correspondientes al casco urbano. El relieve de la zona presenta pendientes relativamente cortas y empinadas hacia los arroyos de la vertiente del Río de La Plata, mientras que existen pendientes largas hacia la zona de la vertiente del río Samborombón. La temperatura media anual es de 16,2 °C, con enero como el mes más cálido (22,8 °C) y julio como el más frío (9,9 °C). Es un clima húmedo, mesotérmico, con nula o pequeña diferencia de agua y baja concentración térmica estival. La intensidad media anual de los vientos es de 12 km·h<sup>-1</sup>, predominando los provenientes del este y secundariamente los del noreste y suroeste. Las mayores intensidades se dan en octubre, diciembre y enero, con valores medios entre 15 a 7 km·h<sup>-1</sup>. La humedad relativa media anual es de 77%.

El arroyo Carnaval y sus afluentes constituyen una cuenca suburbana ubicada en el área de La Plata en el noreste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. La cuenca tiene una superficie de 105 km<sup>2</sup>. Su coeficiente de urbanización se estima en 15% a 20%. Su canal principal se origina en la laguna García, tiene una longitud de 14,5 km y una profundidad promedio de 0,8 m, y muestra alta turbidez y baja velocidad de corriente. Los sedimentos poseen más de 90% de finos, por lo que corresponden a la clasificación de arcillo-limosos. En la parte superior y media de la cuenca, las principales actividades de uso de la tierra son la horticultura y la floricultura. En el CHP, hay más de 1.000 parcelas que producen y acondicionan vegetales para su distribución y comercialización. La mayor densidad de población, junto con algunas industrias, se concentra en la cuenca baja (Banda Noriega & Ruíz de Galarreta, 2002; Hurtado & Giménez, 2006).

##### 4.2.1 Elección de los sitios de muestreo

A partir de los datos mencionados anteriormente sobre producción hortícola en la periferia de La Plata, se seleccionaron 5 sitios de muestreos, en función de la magnitud y tipo de actividad productiva presente, con el fin de estudiar el impacto del uso de plaguicidas sobre un curso de agua característico de la región, como es el arroyo Carnaval. En este sentido se tomó un sitio de muestreo lo más próximo posible a la naciente del curso de agua, una zona inmersa en plena área de producción o *de alto impacto* y una zona aguas abajo posterior a cultivo, fuera del área productiva y previa a la entrada del curso a la zona urbanizada. Los mismos se numeran, a partir de la naciente, como sitio 1 a sitio 5 (**Tabla 4.1**). Los sitios de muestreo y uso del suelo se presentan en la **Figura 4.4**. Asimismo, en la **Figura 4.5** se puede ver una imagen satelital de los mismos, donde es posible apreciar los invernaderos y parcelas

productivas ubicados en la cuenca del arroyo Carnaval. Se utilizaron los registros de la estación meteorológica del Aeródromo de La Plata, siendo la más cercana al sistema de estudio.

Tabla 4.1. Sitios de muestreo del CHP.

Sitio de muestreo	Región del curso	Coordenadas	Abreviatura
Sitio 1	Cercano a naciente	34°57'7,79"S, 58°7'56,18"O	S1
Sitio 2	En zona productiva hortícola	34°55'51,58"S, 58°6'47,13"O	S2
Sitio 3	En zona productiva hortícola	34°55'44,93"S, 58°6'44,94"O	S3
Sitio 4	En zona productiva hortícola	34°55'1,63"S, 58°6'30,33"O	S4
Sitio 5	Post zona hortícola, previo a zona urbana	34°54'4,79"S, 58°5'49,86"O	S5

#### 4.2.2 Campañas de muestreo

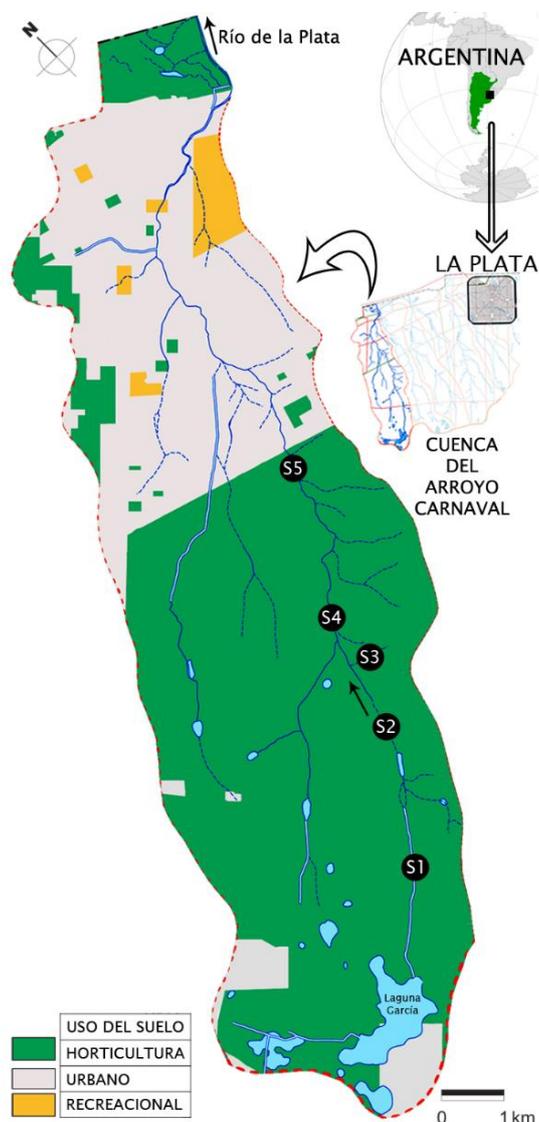
En el marco de la presente tesis doctoral se realizaron 4 campañas de muestreo, mientras que las primeras dos se realizaron en el marco de la tesina de grado por parte del mismo autor. Para realizar un análisis integrador de los resultados, se analizarán las 6 campañas en conjunto, cuyas fechas se detallan en la **Tabla 4.2**. En cada campaña de muestreo se recolectaron muestras de agua, MPS y sedimento en los sitios seleccionados. Durante las campañas CHP4 y CHP6 no se midieron los parámetros fisicoquímicos *in situ* en el S1 debido a la escasa cantidad de agua y gran cantidad de material particulado en suspensión, buscando no dañar el instrumento multiparamétrico. En ese mismo sitio de muestreo, por la abundante vegetación, sólo se pudo recolectar la cantidad de sedimento suficiente para el análisis químico durante la campaña CHP5, mientras que, para la siguiente campaña de muestreo CHP6, no fue posible recolectar sedimento. En total, se analizaron 30 muestras de agua, 30

de MPS y 29 de sedimento. En la **Figura 4.6** y **Figura 4.7** se presentan unas fotografías de los sitios de muestreo.

*Tabla 4.2. Fechas de las campañas de muestreo en el CHP.*

Campaña	Fecha	Estación	Código
1	12-08-2015	Invierno-2015	CHP1*
2	24-01-2016	Verano-2016	CHP2*
3	09-07-2016	Invierno-2016	CHP3
4	25-02-2017	Verano-2017	CHP4
5	31-08-2017	Invierno-2017	CHP5
6	16-12-2017	Verano-2018	CHP6

\* Muestras realizadas en el marco de la tesina de grado por parte del mismo autor.



*Figura 4.4. Sitios de muestreo en el CHP. Ubicación respecto de la ciudad de La Plata. Las flechas indican el sentido de circulación del agua. Usos del suelo de la cuenca. Adaptado de Hurtado & Giménez (2006).*

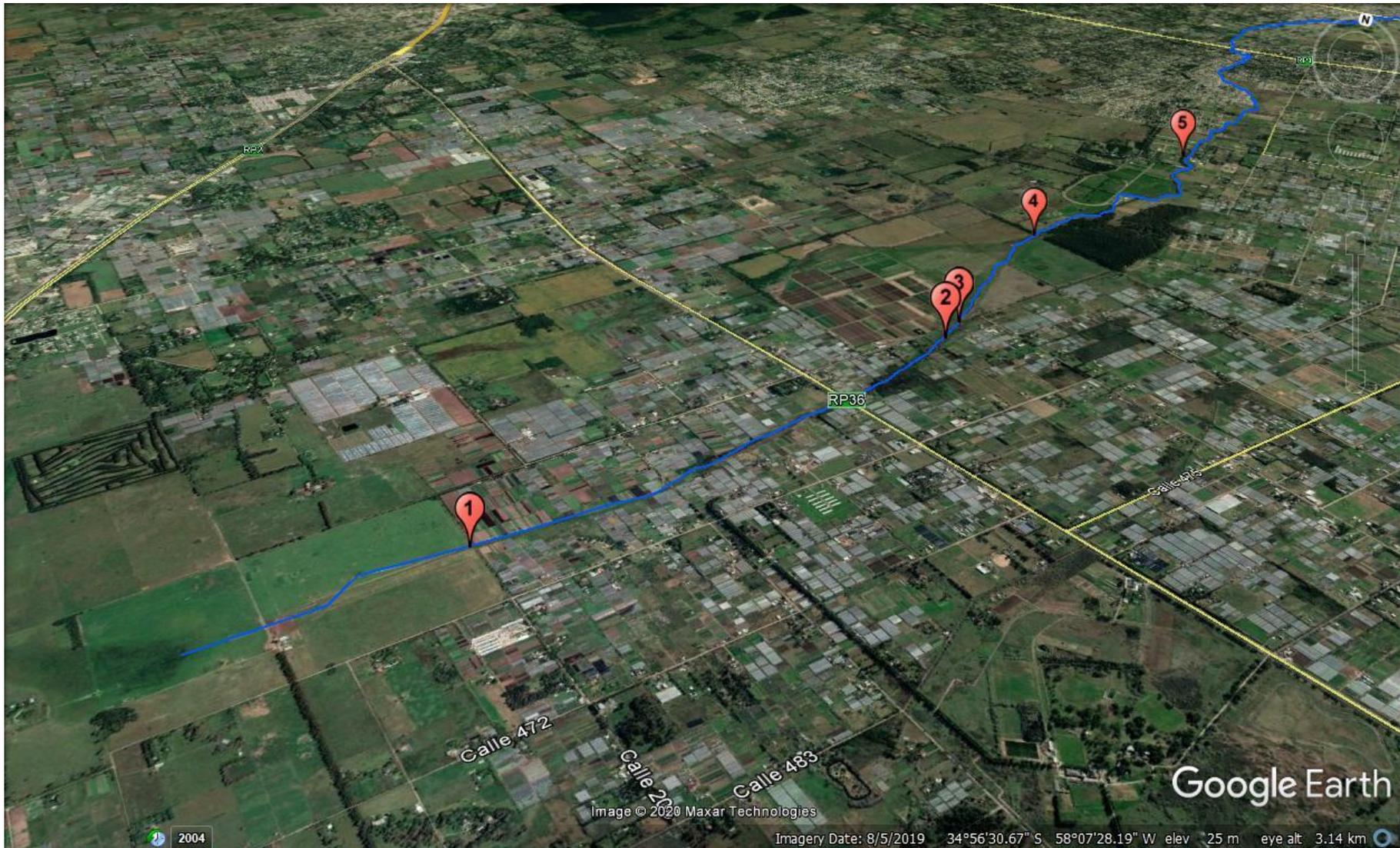


Figura 4.5. Vista satelital de los sitios de muestreo en el CHP.  
Fuente: Google Earth.



*Figura 4.6. Fotografías de los sitios de muestreo en el Cordón Hortícola Platense.  
En sentido horario, empezando por la esquina superior izquierda: CHP1-S2, CHP1-S4, CHP2-S4, CHP2-S5.  
Fotografía sacada por el autor.*



*Figura 4.7. Fotografías de los sitios de muestreo en el Cordón Hortícola Platense.  
De izquierda a derecha: CHP5-S1, CHP5-S3, CHP6-S5.  
Fotografía sacada por el autor.*

### 4.2.3 Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA)

Los cuerpos de agua superficiales están sujetos a una multitud de estresores que pueden afectar su estado químico y ecológico. Debido a su intrínseca actividad biológica, los plaguicidas pueden afectar negativamente tanto a organismos individuales, por ejemplo: algas, plantas macrófitas, invertebrados y peces, como a comunidades acuáticas, alterando funciones fundamentales del ecosistema, como la descomposición de detritos y producción primaria bruta (Bundschuh et al., 2014).

#### 4.2.3.1 Coeficiente de riesgo

La Evaluación de Riesgo Ambiental (*Environmental Risk Assessment*, ERA) de los plaguicidas se expresa como una función de la exposición ambiental y los efectos ecotoxicológicos (Palma et al., 2014; Papadakis et al., 2015). Dos de los enfoques más ampliamente aplicados para la ERA son los Cocientes de Riesgo (*Risk Quotient*, RQ) y las Unidades Tóxicas (UT). Si bien las UT consideran la relación entre las concentraciones ambientales medidas (*Measured Environmental Concentrations*, MEC) y los criterios de evaluación de toxicidad clásicos, como la concentración letal media ( $LC_{50}$ ), la concentración efectiva media (*median effective concentration*,  $EC_{50}$ ) o la concentración sin efecto observado (*No-Observed-Effect Concentration*, NOEC), el enfoque de RQ tiene en cuenta un factor asociado a la incertidumbre.

El uso del RQ se ha empleado para la evaluación inicial (nivel 1) del riesgo ecotoxicológico en distintos cuerpos de agua (Thomatou et al., 2013; Vryzas et al., 2009). Este parámetro se expresa como la relación entre el nivel de exposición, que generalmente se conoce como

concentración ambiental prevista (*Predicted Environmental Concentration*, PEC), y los efectos ecotoxicológicos, que generalmente se representan mediante la concentración predicha sin efecto (*Predicted No Effect Concentration*, PNEC). La PNEC se obtiene seleccionando el bioensayo más sensible, que representa el nivel trófico más sensible, y aplicando un factor de evaluación apropiado (*Assessment Factor*, AF), que tiene en cuenta la variación intra e inter- laboratorio de los datos, la variación biológica, la extrapolación de corto a largo plazo, y extrapolación de laboratorio a campo (Palma et al., 2014; Vašíčková et al., 2019).

En lugar de los valores de PEC derivados de la aplicación de modelos de exposición, se usaron concentraciones ambientales medidas (*Measured Environmental Concentration*, MEC), con las concentraciones máximas (peor de los escenarios) obtenidas de las campañas de muestreo (Thomatou et al., 2013; Vryzas et al., 2009).

En este trabajo de tesis, el riesgo ambiental se evaluó con base en el enfoque RQ (**Ecuación 4.1**), que tiene como supuesto un efecto de adición de concentración, donde la toxicidad de la mezcla se conforma con la adición de efectos de cada plaguicida (Bundschuh et al., 2014).

$$RQ = \frac{MEC}{PNEC}$$

*Ecuación 4.1. Cálculo del cociente de riesgo*

La PNEC se calculó según la **Ecuación 4.2**:

$$PNEC = \frac{CC}{AF}$$

*Ecuación 4.2. Cálculo de la concentración predicha sin efecto*

donde CC es la concentración crítica.

Los puntos finales de evaluación de toxicidad se obtuvieron de la *Pesticide Properties DataBase-PPDB* (Lewis et al., 2016). Las CC en aguas superficiales se establecieron como las

NOEC más bajas en los puntos finales crónicos para tres niveles tróficos (peces, invertebrados y algas). Las CC para peces se basaron en experimentos NOEC de 21 días con trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792 (Salmoniformes: Salmonidae), las CC para invertebrados acuáticos se basaron en experimentos NOEC de 21 días con pulga de agua *Daphnia magna* Straus, 1820 (Cladocera: Daphniidae), y las CC para distintas especies de algas, como *Scenedesmus subspicatus* Chodat 1926 (Sphaeropleales: Scenedesmaceae) o *Selenastrum capricornutum* Printz 1914 (Sphaeropleales: Selenastraceae), se basaron en valores de EC<sub>50</sub> de pruebas de inhibición del crecimiento a 96 h. En los casos de en ausencia de datos de toxicidad de la especie previamente mencionada para algunos plaguicidas, se utilizaron los datos del mismo grupo de organismos reportados en la PPDB. En caso de ausencia de NOEC para todos estos taxones, se utilizó el valor más bajo de LC<sub>50</sub> o EC<sub>50</sub> (Bundschuh et al., 2014). Los AF se establecieron siguiendo la metodología propuesta por Papadakis et al. (2015), siendo 10 si hay tres NOEC disponibles, 50 si hay dos NOEC disponibles, 100 si solo hay un valor de NOEC disponible (para peces o invertebrados acuáticos) y 1000 si no hay ningún valor de NOEC disponible y se utilizó la LC<sub>50</sub> o EC<sub>50</sub> para su estimación.

Para cada muestra de agua y campaña se calculó la suma de RQ del sitio ( $\sum RQ$ ), de acuerdo con la **Ecuación 4.3**:

$$\sum RQ = \sum_{i=1}^n RQ_i$$

*Ecuación 4.3. Cálculo la suma de cocientes de riesgo de un mismo sitio.*

donde RQ<sub>i</sub> es el RQ del plaguicida i.

$\Sigma RQ \geq 1$  corresponde a posibles efectos dañinos esperados (alto riesgo),  $\Sigma RQ$  entre 0,1 y 1 a riesgo medio esperado,  $\Sigma RQ$  entre 0,01 y 0,1 corresponde a bajo riesgo ambiental, mientras que  $\Sigma RQ < 0,01$  muestra un riesgo ambiental insignificante (Vašíčková et al., 2019).

La contribución de cada plaguicida al  $\Sigma RQ$  se expresó como porcentaje, según la **Ecuación 4.4** (Vašíčková et al., 2019):

$$\text{contribución\%} = \left( \frac{RQ_i}{\Sigma RQ} \right) \times 100$$

*Ecuación 4.4. Cálculo de la contribución porcentual de cada plaguicida a la sumatoria de cocientes de riesgo.*

Los puntos finales agudos y crónicos para los 3 taxones de interés, las CC, AF y PNEC calculadas se presentan en la **Tabla A1** en el **Anexo**.

#### 4.2.3.2 Distribución de Sensibilidad de Especies

Las Distribuciones de Sensibilidad de Especies (*Species Sensitivity Distributions, SSD*) son una herramienta común que se utiliza para establecer límites seguros para las concentraciones químicas en las aguas superficiales. Una SSD refleja diferencias en sensibilidad entre especies a una sustancia química. Estas se obtienen ajustando un modelo estadístico a los datos de ecotoxicidad específicos del compuesto (Posthuma et al., 2019).

Para desarrollar los modelos, se emplearon datos de  $LC_{50}$  para organismos acuáticos obtenidos de la base de datos ECOTOX de USEPA (<https://www.epa.gov/chemical-research/ecotoxicology-database>, consultada el 06 de noviembre de 2020, última actualización el 15 de septiembre de 2020), dada la mayor disponibilidad de datos para este parámetro ecotoxicológico (punto final agudo). Los criterios para la selección de datos

obtenidos fueron los siguientes: 96 horas de ensayo, exposición estática, la etapa de vida más temprana (en caso de haber varias disponibles para la misma especie) y concentraciones de bioensayos medidas. De la base de datos descargada, y después de aplicar los criterios mencionados, se obtuvieron la siguiente cantidad de datos para cada plaguicida: CLP=35, CYP=16, DEL=6,  $\lambda$ -CIAL=32. Para modelar las curvas de SSD y parámetros asociados se utilizaron los programas E<sub>T</sub>X 2.2 (van Vlaardingen et al., 2004) y CADDIS Volume 4: SSD Generator V1 de la USEPA (<https://www.epa.gov/caddis-vol4/caddis-volume-4-data-analysis-download-software>). Los datos ingresados de LC<sub>50</sub> siguieron una distribución normal (prueba de Anderson-Darling,  $\alpha=0,01$ ).

#### 4.1 Resultados y discusión

En la **Tabla 4.3** se presentan los resultados de los parámetros fisicoquímicos medidos *in situ*, la cantidad de MPS, humedad y porcentaje de carbono orgánico de los sedimentos, y lluvia acumulada 14 días antes del muestreo. Las concentraciones de plaguicidas detectados en al menos una muestra de agua total (**Tabla 4.4**), MPS (**Tabla 4.5**) y sedimentos (**Tabla 4.6**) se presentan a continuación. A partir de las detecciones previamente presentadas, en la **Tabla 4.7** se resumen las frecuencias de detección correspondiente a las campañas de muestreo llevadas a cabo en el Cordón Hortícola Platense.

4. Dinámica ambiental de plaguicidas en el Cordón Hortícola Platense

Tabla 4.3. Parámetros fisicoquímicos, masa de MPS, propiedades de los sedimentos y lluvias del CHP.

Campaña	Sitio	pH	OD (mgO <sub>2</sub> ·L <sup>-1</sup> )	T (°C)	σ (μS·cm <sup>-1</sup> )	MPS (mg·L <sup>-1</sup> )	%H	%C <sub>org</sub>	Lluvia 14-d (mm)
<b>CHP1</b>	<b>S1</b>	8,09	9,9	18,3	312	236,0	40,6	3,8	89,9
	<b>S2</b>	7,44	5,4	14,7	367	25,0	62,9	8,9	
	<b>S3</b>	7,35	7,6	13,1	356	50,0	43,0	4,6	
	<b>S4</b>	7,27	7,4	13,6	374	37,0	31,0	2,0	
	<b>S5</b>	7,21	6,8	11,7	304	114,0	34,4	2,5	
<b>CHP2</b>	<b>S1</b>	6,51	4,0	28,0	271	273,0	47,9	4,5	8,4
	<b>S2</b>	6,40	7,3	27,6	190	47,0	65,0	7,2	
	<b>S3</b>	7,01	7,0	27,5	860	29,0	42,4	4,5	
	<b>S4</b>	6,65	6,8	30,0	261	24,0	51,1	5,1	
	<b>S5</b>	6,24	7,3	24,3	291	66,0	46,1	5,0	
<b>CHP3</b>	<b>S1</b>	6,72	6,4	11,5	126	46,2	38,8	2,5	151,9
	<b>S2</b>	6,94	6,9	14,0	124	34,0	58,0	7,8	
	<b>S3</b>	6,90	10,5	11,6	130	57,0	43,0	3,9	
	<b>S4</b>	7,26	6,0	11,3	135	38,0	55,9	5,0	
	<b>S5</b>	7,40	6,9	10,8	174	44,0	41,5	2,3	
<b>CHP4</b>	<b>S1</b>	NA	NA	NA	NA	188,5	52,4	3,8	57,9
	<b>S2</b>	7,61	2,2	22,2	800	8,0	57,9	8,8	
	<b>S3</b>	7,64	1,9	23,3	801	12,5	40,2	9,1	
	<b>S4</b>	8,16	6,6	21,1	867	31,0	50,0	4,3	
	<b>S5</b>	7,56	5,3	26,6	662	15,7	52,6	4,9	
<b>CHP5</b>	<b>S1</b>	6,98	4,8	20,4	185	218,5	69,1	9,2	44,2
	<b>S2</b>	7,69	5,0	17,4	465	46,0	57,5	8,8	
	<b>S3</b>	7,76	4,8	19,6	667	88,0	49,7	4,6	
	<b>S4</b>	7,64	6,0	19,5	436	60,0	42,3	2,9	
	<b>S5</b>	7,51	5,2	19,4	305	24,3	38,1	2,3	
<b>CHP6</b>	<b>S1</b>	NA	NA	NA	NA	292,0	NA	NA	83,1
	<b>S2</b>	7,13	0,6	23,3	828	45,0	62,4	7,8	
	<b>S3</b>	7,41	2,1	23,3	957	24,0	51,6	4,4	
	<b>S4</b>	7,50	4,1	24,3	947	61,0	49,4	2,7	
	<b>S5</b>	7,60	1,8	26,1	835	18,0	42,9	2,4	

NA: No analizado.

Tabla 4.4. Concentraciones de plaguicidas en agua superficial (agua total), expresada en  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , para las campañas realizadas en el CHP.

Campaña	Sitio	GLY	AMPA	TRF	ATZ	ATC	BIF	CYP	DEL	$\lambda$ -CIAL	CLP	END	AZX
<b>CHP1</b>	<b>S1</b>	<LD	2,26	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>S2</b>	<LD	2,60	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>S3</b>	<LD	2,39	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>S4</b>	<LD	2,72	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>S5</b>	<LD	2,89	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
<b>CHP2</b>	<b>S1</b>	20,04	4,00	<LD	0,028	<LD	<LD	0,085	<LD	<LD	0,092	<LD	0,038
	<b>S2</b>	18,02	3,64	DNC	0,033	<LD	<LD	0,288	0,259	0,010	2,645	<LD	<LD
	<b>S3</b>	15,31	3,46	0,1183	0,013	<LD	<LD	0,344	0,176	0,004	0,044	<LD	0,142
	<b>S4</b>	7,84	4,86	0,0095	0,044	<LD	<LD	3,888	0,115	0,009	0,096	<LD	0,178
	<b>S5</b>	8,63	3,10	DNC	0,021	<LD	<LD	2,164	0,168	0,005	0,732	0,33	0,385
<b>CHP3</b>	<b>S1-S5</b>	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
<b>CHP4</b>	<b>S1</b>	7,55	2,31	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>S2</b>	2,54	0,71	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>S3</b>	1,30	0,77	1,8035	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,323
	<b>S4</b>	0,86	0,83	0,9137	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>S5</b>	4,08	2,25	0,0632	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,283
<b>CHP5</b>	<b>S1</b>	1,58	0,19	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,660	<LD	0,009	<LD	<LD
	<b>S2</b>	2,23	0,74	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	1,432	<LD	0,030	<LD	<LD
	<b>S3</b>	3,71	1,18	<LD	<LD	<LD	0,022	<LD	0,619	<LD	0,016	<LD	0,013
	<b>S4</b>	4,88	1,46	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,257	<LD	0,007	<LD	0,007
	<b>S5</b>	5,55	0,56	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	3,944	<LD	0,054	<LD	0,062
<b>CHP6</b>	<b>S1</b>	0,25	0,41	<LD	<LD	0,618	<LD	<LD	<LD	<LD	0,012	<LD	<LD
	<b>S2</b>	0,75	0,70	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,055	<LD	<LD
	<b>S3</b>	2,35	0,72	0,0252	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>S4</b>	3,02	1,21	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,016	<LD	<LD
	<b>S5</b>	4,35	0,94	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,720	<LD	<LD

<LD: Debajo del límite de detección; DNC: Detectable no cuantificable.

Tabla 4.5. Concentraciones de plaguicidas en MPS, expresada en  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , para las campañas realizadas en el CHP.

Campaña	Sitio	GLY	AMPA	CYP	$\lambda$ -CIAL	END	AZX	EPX
CHP1	S1	<LD	642	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S2	<LD	550	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S3	<LD	318	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S4	<LD	495	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S5	<LD	1.356	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
CHP2	S1	17.582	4.455	12.915	<LD	<LD	810	<LD
	S2	3.735	984	9.830	<LD	<LD	<LD	883
	S3	5.753	1.197	18.954	<LD	<LD	<LD	<LD
	S4	4.496	1.432	11.443	<LD	<LD	<LD	<LD
	S5	11.084	4.172	116.703	<LD	165.353	19.085	13.547
CP3	S1-S5	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
CHP4	S1	1.573	53	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S2	3.187	158	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S3	953	150	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S4	530	105	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S5	1.133	317	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
CHP5	S1	1.983	43	194.137	<LD	<LD	<LD	<LD
	S2	10.702	662	52.517	<LD	<LD	<LD	<LD
	S3	9.514	143	59.607	538.970	<LD	<LD	<LD
	S4	9.606	654	5.296	4.970	<LD	<LD	<LD
	S5	35.620	3.133	128.677	<LD	<LD	<LD	<LD
CHP6	S1	359	1.644	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S2	490	4.999	<LD	13.672	<LD	<LD	<LD
	S3	754	19.586	<LD	20.2877	<LD	<LD	<LD
	S4	245	6.548	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S5	789	14.489	<LD	45.353	<LD	<LD	<LD

<LD: Debajo del límite de detección; DNC: Detectable no cuantificable.

Tabla 4.6. Concentraciones de plaguicidas en sedimentos, expresada en  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ , para las campañas realizadas en el CHP.

Campaña	Sitio	GLY	AMPA	TRF	ATZ	ATC	CYP	$\lambda$ -CIAL	CLP	END	AZX	EPX
CHP1	S1	<LD	18,0	<LD	5,1	<LD	<LD	<LD	78	<LD	<LD	<LD
	S2	<LD	31,0	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	528	<LD	<LD	<LD
	S3	88,1	40,3	740,34	32,7	<LD	<LD	649,0	2.258	<LD	153	<LD
	S4	11,0	26,4	<LD	18,0	<LD	<LD	<LD	118	<LD	<LD	214
	S5	98,9	54,2	<LD	7,5	<LD	<LD	<LD	83	<LD	<LD	<LD
CHP2	S1	374,4	124,9	<LD	<LD	<LD	7	<LD	<LD	13,9	DNC	<LD
	S2	393,6	224,9	<LD	<LD	<LD	11	9,3	<LD	<LD	3	<LD
	S3	247,4	86,2	<LD	<LD	<LD	5	1,8	<LD	14,8	<LD	<LD
	S4	211,5	139,0	<LD	<LD	<LD	4	3,5	<LD	<LD	DNC	<LD
	S5	404,3	123,4	<LD	<LD	<LD	15	3,0	<LD	<LD	DNC	<LD
CHP3	S1-S5	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
CHP4	S1	294,1	358,9	<LD	183,0	171,0	<LD	443,4	<LD	<LD	<LD	652
	S2	325,9	396,3	34,62	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S3	419,1	308,5	205,34	<LD	<LD	<LD	2.604,7	<LD	<LD	<LD	<LD
	S4	305,1	366,5	16,85	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	S5	601,8	4.032,7	3,40	<LD	<LD	<LD	1.001,7	<LD	<LD	<LD	<LD
CHP5	S1	446,8	139,3	<LD	<LD	4.315,3	<LD	403,7	<LD	<LD	<LD	<LD
	S2	38,0	270,0	<LD	<LD	127,8	<LD	200,1	202	<LD	<LD	<LD
	S3	395,8	65,5	55,88	<LD	<LD	<LD	331,5	158	<LD	<LD	<LD
	S4	144,5	72,0	2,99	<LD	98,6	<LD	53,1	70	<LD	<LD	<LD
	S5	130,3	46,5	<LD	<LD	134,9	<LD	<LD	98	<LD	<LD	<LD
CHP6	S1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	S2	173,6	68,2	15,73	<LD	<LD	<LD	<LD	562	<LD	<LD	<LD
	S3	1.146,5	98,4	124,06	<LD	<LD	792	1.790,8	187	<LD	<LD	<LD
	S4	97,1	4,6	<LD	<LD	<LD	651	654,7	270	<LD	<LD	<LD
	S5	390,3	19,7	<LD	<LD	<LD	1.076	<LD	163	<LD	<LD	<LD

<LD: Debajo del límite de detección; DNC: Detectable no cuantificable, NA: No analizado.

Tabla 4.7. Frecuencia de detección (%) de plaguicidas en las distintas matrices analizadas en las campañas del muestreo de la cuenca del arroyo Carnaval.

Campaña	GLY	AMPA	TRF	ATZ	ATC	CYP	λ-CIAL	CLP	END	DEL	BIF	EPX	AZX
AGUA	CHP1		100										
	CHP2	100	100	40	100		100	80	100	20	80		80
	CHP3												
	CHP4	100	100	60									40
	CHP5	100	100						100		100	20	60
	CHP6	100	100	20		20			80				
	PROMEDIO	67	83	20	17	3	17	13	47	3	30	3	
MPS	CHP1		100										
	CHP2	100	100				100		20			40	40
	CHP3												
	CHP4	100	100										
	CHP5	100	100				100	40					
	CHP6	100	100					60					
	PROMEDIO	67	83				33	17		3			7
SEDIMENTO	CHP1	60	100	20	80		20	100	0			20	20
	CHP2	100	100				100	80	40				80
	CHP3												
	CHP4	100	100	80	20	20		60				20	
	CHP5	100	100	40		80		80	80				
	CHP6	100	100	50			75	50	100				
	PROMEDIO	77	83	32	17	17	29	48	47	7			7

Celdas vacías indican que el plaguicida no fue detectado en esa matriz-campaña.

#### 4.1.1 Frecuencia de detección

En 5 de las 6 campañas de muestreo, se detectaron plaguicidas en todas las matrices analizadas de cada sitio muestreado. En las semanas previas a la tercera campaña, CHP3, las precipitaciones totales ascendieron a 151,9 mm (cf. **Tabla 4.3**), 3 veces el promedio histórico de ese mes. El diseño de muestreo tenía planificado evaluar el rol de las precipitaciones sobre la movilidad de los plaguicidas y su comportamiento sobre el cuerpo de agua estudiado. Con el objetivo de determinar si, después de fuertes lluvias, prevalece la movilización o dilución de plaguicidas en el ambiente. Como resultado destacado no se detectaron plaguicidas en

ninguna de las matrices analizadas, este comportamiento lleva a proponer que la dilución fue el efecto principal después de lluvias superiores a 150 mm, tal como fue evaluado por Aparicio et al. (2013) para cuerpos de agua del sur de la provincia de Buenos Aires. Dado que en el sistema de estudio los plaguicidas estudiados fueron diluidos a niveles por debajo de los límites de detección instrumentales, CHP3 no se considerará en la siguiente discusión. No obstante, es importante destacar que luego de dicho evento, en las siguientes campañas de muestreo, se volvieron a detectar plaguicidas, tanto en las campañas de invierno como de verano. El hecho de que se hayan vuelto a encontrar estos xenobióticos está relacionado con el uso continuo de estos productos en la actividad hortícola y la dinámica del curso de agua, donde en solo 6 meses después se encontraron 6 compuestos diferentes en sedimentos.

La **Figura 4.8** muestra la frecuencia de detección promedio para cada matriz ambiental. De los plaguicidas analizados, 12 se detectaron en aguas superficiales, 7 en MPS y 11 en muestras de sedimentos de fondo. El número de plaguicidas y la frecuencia de detección presentaron diferencias estadísticamente significativas entre campañas de muestreo ( $p=0,0015$ ), con mayores porcentajes durante las campañas de verano. Al mismo tiempo, también se encontraron diferencias entre las matrices analizadas, con plaguicidas resultando con mayor frecuencia en sedimentos, evidenciando el rol ambiental de este compartimento que actúa como sumidero natural de estos contaminantes (Burton & Landrum, 2003; Mac Loughlin et al., 2017; Ronco et al., 2016).

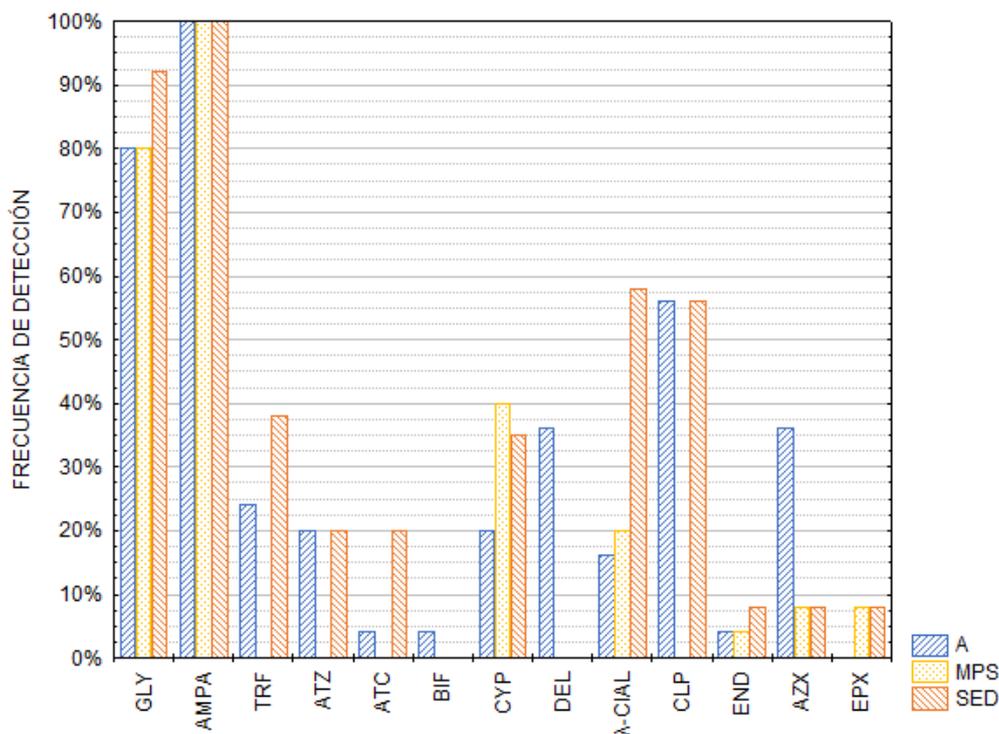


Figura 4.8. Frecuencia de detección promedio para los plaguicidas detectados en las campañas de muestreo en el Cordón Hortícola Platense en cada matriz: agua (A), azul; materia particulada en suspensión (MPS), amarillo; sedimentos (SED), naranja.

Los herbicidas TRF y ATZ se detectaron con frecuencias superiores al 10%. Allinson et al. (2014) analizaron herbicidas en aguas superficiales de una cuenca de producción hortícola en el sureste de Australia y encontraron ATZ en solo el 6% de las 106 muestras analizadas. Sin embargo, en Suecia, la frecuencia de detección de ATZ fue mayor (22%) en áreas con cultivos hortícolas (Kreuger et al., 2010), de manera similar a los resultados del CHP (20%). Reilly et al. (2012) informaron haber encontrado TRF en el 13% de 60 muestras de agua, mientras que aquí estuvo presente en más del 20% de las muestras de agua, e incluso con una mayor frecuencia (38%) en muestras de sedimentos. Estos herbicidas, ambos de aplicación pre-emergente y no específicos, son utilizados para preparar el suelo. Si bien TRF se utiliza en cultivos como lechuga y pimientos, la ATZ se emplea generalmente para el maíz dulce, que no se produce en el CHP (Sarandón, 2015).

En todas las matrices, el insecticida más frecuentemente detectado fue el CLP, presente en el 37% del total de muestras analizadas. En segundo lugar, los piretroides CYP y  $\lambda$ -CIAL se detectaron en el 30% del total de muestras, principalmente asociados a matrices sólidas. También se detectaron otros insecticidas, como DEL, END y BIF, pero a frecuencias iguales o inferiores al 10%. Los piretroides BIF y PER suelen detectarse en arroyos urbanos (Weston & Lydy, 2010b), por lo que el hecho de que estos compuestos fueron analizados y considerando el criterio anterior, donde sólo se detectó BIF en una muestra de agua, confirma que los plaguicidas encontrados en este curso de agua son consecuencia de la actividad hortícola circundante.

Particularmente, la presencia de CLP en más del 50% de las muestras de agua y sedimentos está relacionada con el uso frecuente de este insecticida organofosforado en la producción de frutas y hortalizas (Mac Loughlin et al., 2018). En el tramo argentino de la Cuenca del Paraná se detectó CLP en muestras de agua y en sedimentos de fondo (56%) (Etchegoyen et al., 2017). El mismo trabajo encontró CYP en el 100% de las muestras de agua y sedimentos analizadas. En Suecia, CLP y CYP se encontraban entre los plaguicidas analizados utilizados en cultivo hortícolas de campo y en invernaderos, pero no se detectaron en ninguna muestra (Kreuger et al., 2010). Es entonces cuando estos insecticidas se utilizan preferentemente en la producción agrícola en Argentina y desde hace más de 15 años se han detectado en aguas superficiales en diferentes regiones productivas agrícolas extensivas del país (Marino & Ronco, 2005).

Por último, se detectaron 2 fungicidas de los 5 buscados: epoxiconazol y azoxistrobina. La presencia de EPX, a pesar de ser baja, es relevante dado que este ingrediente activo no está aprobado en la producción hortícola (Mac Loughlin et al., 2018; Sarandón, 2015), por lo que

su presencia en estos ambientes expone su desvío de uso. Más del 30% de las muestras de agua tenían concentraciones cuantificables de AZX, mientras que se cuantificó en el 50% de las muestras de arroyos suecos (Kreuger et al., 2010) y estadounidenses (Reilly et al., 2012). A diferencia del EPX, el AZX si se encuentra autorizado para ser utilizado en cultivos hortícolas y en términos generales la detección de un plaguicida cuyo uso no está autorizado para la producción hortícola es un reflejo de la desinformación y la falta de regulación existente, seguimiento y presencia del estado en estos sistemas de producción de alimentos (Mac Loughlin et al., 2018).

##### **4.1.1.1 Ocurrencia de glifosato y AMPA en horticultura**

Los herbicidas tienen como blanco a las malezas que crecen alrededor de los invernaderos y para realizar el barbecho químico previo al ciclo de cultivo sobre la parcela destinada a horticultura (Allinson et al., 2014; Kreuger et al., 2010; Neal, 2015; Sarandón, 2015). La presencia de GLY y AMPA en cuerpos de agua se ha estudiado en otros países (Battaglin et al., 2014; Scribner et al., 2007); y a pesar del amplio uso de GLY en Argentina, si bien se han realizado estudios sobre la contaminación por ese herbicida en cuerpos de agua en este país (Aparicio et al., 2013; Bonansea et al., 2017; Primost et al., 2017; Ronco et al., 2016) dada la extensión geográfica y volumen de uso sigue siendo limitada la información.

Al momento de la escritura del presente trabajo, no se han publicado otros trabajos sobre la presencia de GLY y AMPA en aguas superficiales como resultado de las prácticas hortícolas. En Australia, Allinson et al. (2014) investigaron la presencia de 10 herbicidas en una cuenca de producción hortícola, pero no determinaron GLY, aunque el uso de ese compuesto en la

región fue reconocido en el artículo. En Suecia, Kreuger et al. (2010) excluyeron a GLY de su investigación ya que ese herbicida no se usa específicamente en horticultura en esa región y la cuantificación requería un método analítico selectivo, a pesar de que GLY era el compuesto más vendido. En Argentina (Aparicio et al., 2013; Lupi et al., 2015; Primost et al., 2017) y los Estados Unidos (Battaglin et al., 2014; Scribner et al., 2007), las áreas estudiadas fueron sometidas principalmente a una agricultura extensiva con cultivos resistentes a GLY. Por lo tanto, las comparaciones realizadas en el presente trabajo fueron entre diferentes sistemas de producción: horticultura versus agricultura extensiva.

Glifosato y AMPA fueron los compuestos detectados con mayor frecuencia, en más del 80% de las muestras de todas las matrices analizadas en el CHP. Se detectó GLY en el 67% de las muestras de agua y MPS, y AMPA en el 83% de las muestras de agua y MPS. En sedimentos, se detectó AMPA en el 100% de las muestras. Como este compuesto es el metabolito ambiental de GLY, el compuesto parental estuvo, en algún momento, presente en el sistema hortícola (Aparicio et al., 2013; Ronco et al., 2016). Previamente, Primost et al. (2017) identificó al GLY como un contaminante pseudo-persistente en suelos agrícolas, ya que los eventos de aplicación se dan en intervalos de tiempo inferiores a la vida media de este compuesto en el ambiente, resultado que luego fue confirmado para suelos de la provincia de Buenos Aires (Soracco et al., 2018). Su detección, o la de su metabolito, en concentraciones cuantificables refleja esta característica como un contaminante pseudo-persistente, esta vez en ambientes acuáticos asociados a horticultura.

Se han reportado diferencias en las frecuencias de detección de herbicidas entre el agua y las fracciones de partículas en varios cursos de agua. En los Estados Unidos, Battaglin et al. (2014) detectó GLY en 52,5% y AMPA en 71,6% de las muestras de agua, mientras que Scribner et al.

(2007) encontró GLY en 38,7% y AMPA en 57,7% de las corrientes hídricas investigadas. En Argentina, Primost et al. (2017), al estudiar arroyos a través de plantaciones de soja, detectó GLY y AMPA en el 100% de las muestras de MPS, pero GLY en el 27% y AMPA en el 55% de las muestras de agua en esos mismos sitios. En diversos sistemas agro productivos, Aparicio et al. (2013) encontró GLY y AMPA en aproximadamente el 15% y el 12% de las muestras de agua, y en el 67% y el 20% de las muestras de MPS, respectivamente. En los principales afluentes de la cuenca del Paraná, Ronco et al. (2016) detectó GLY en 15% y 20% de las muestras de agua y MPS, respectivamente; pero AMPA no estaba presente en las muestras de agua y se detectó sólo en 4% de las muestras de MPS. En todos esos ejemplos, la presencia de GLY y AMPA se asoció con mayor frecuencia con el material particulado. En el presente trabajo, en todos los casos en que se detectó uno de esos compuestos, ese herbicida estaba presente tanto en la fracción soluble como asociado al MPS.

En los Estados Unidos, se encontró GLY en ausencia de AMPA en solo el 2,3% de las muestras analizadas, mientras que AMPA sin GLY detectable se encontró en el 17,9% de las muestras (Battaglin et al., 2014). En el CHP, la primera situación no se dio, ya que en todas las muestras donde se detectó GLY, también se detectó AMPA, mientras que la segunda, AMPA sin GLY, sólo se vio durante CHP1. Como el AMPA es un producto de degradación ambiental, este metabolito generalmente se da la coocurrencia con su compuesto original (Aparicio et al., 2013). Los hallazgos aquí presentados sobre la ocurrencia de GLY y AMPA proporcionan nueva evidencia sobre el uso de este herbicida en particular dentro de las zonas de producción de zonas verdes alrededor de las ciudades (Bonansea et al., 2017), ya que GLY no se usa exclusivamente en cultivos resistentes a éste, sino que el uso de ese plaguicida se ha expandido a áreas donde se cultivan vegetales no resistentes como parte del manejo del

suelo. Esta presencia no selectiva de GLY en ambos sistemas de agro producción, tomando como base la información previa y en función de los resultados obtenidos en el presente estudio, lo convierte en un potencial compuesto marcador para la indicación de contaminación en cuerpos de agua como resultado de cualquier tipo de actividad agrícola, tanto extensiva como intensiva.

##### 4.1.2 Variación espacial y temporal

No se encontraron diferencias significativas en la presencia y concentración de plaguicidas, en las distintas matrices evaluadas, con respecto a los sitios de muestreo dentro de cada campaña, probablemente debido a la presencia de distintas fuentes difusas de plaguicidas en esta cuenca (Szöcs et al., 2017). Por lo tanto, los sitios se consideraron réplicas dentro del sistema. Sobre la base de que GLY y AMPA se encontraron en el más del 95% de las muestras y su carga másica intra-muestra varía entre un 49% y un 98%, esta evaluación temporal se realizó por familias de acción plaguicida y a su vez se trabajó como conjunto independiente de datos al GLY y AMPA por su presencia generalizada y dominante en las distintas matrices ambientales. La evaluación temporal de las campañas de muestreo con respecto a la carga total de plaguicidas (A+MPS+SED), tanto al considerar GLY+AMPA ( $p=0,0012$ ), como cuando no se los consideró ( $p=0,0053$ ), mostró diferencias y, por tanto, variación en el sistema a lo largo del tiempo.

En agua superficial, la concentración total de plaguicidas, entre campañas de muestreo, con y sin GLY+AMPA, presentó diferencias entre las mismas ( $p=0,0036$ ;  $p=0,0071$ ). Profundizando en el análisis, se pudo observar, nuevamente, diferencias significativas en la carga total de

herbicidas, con y sin GLY+AMPA ( $p=0,0053$ ;  $p=0,0159$ ). Asimismo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de insecticidas ( $p=0,0005$ ) y fungicidas ( $p=0,0366$ ). Los rangos de concentraciones para esta matriz se presentan en la **Figura 4.9**. Estas diferencias indican que el agua superficial, al ser el primer compartimento que recibe el aporte de plaguicidas, ya sea por escorrentía superficial o por deriva de aplicación, revela información actual sobre los plaguicidas que se están utilizando (Fairbairn et al., 2015).

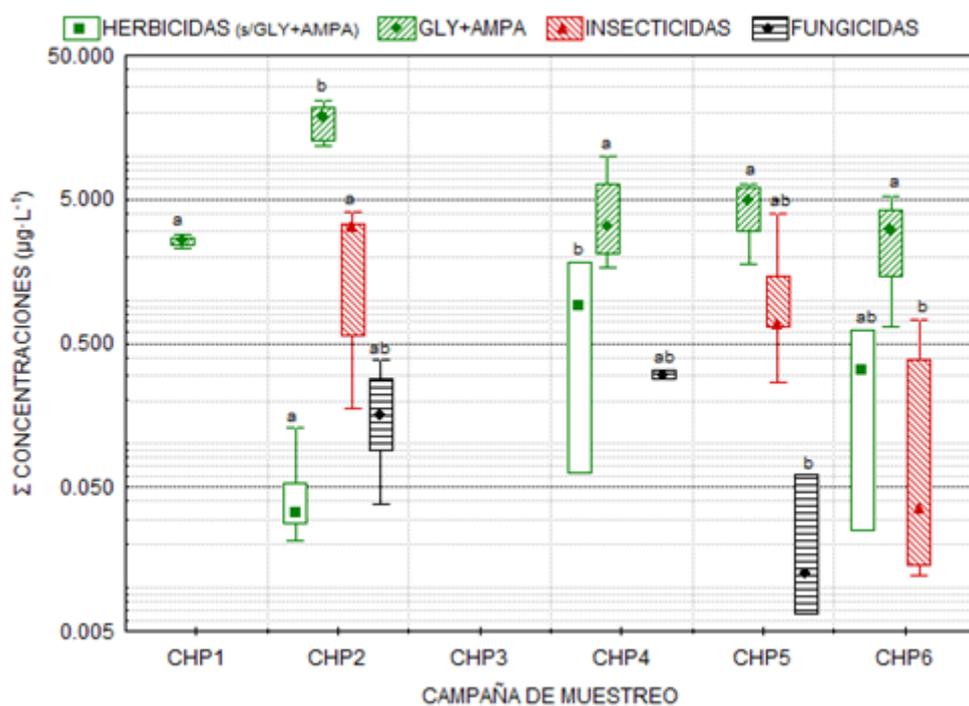


Figura 4.9. Concentraciones de plaguicidas agrupados por tipo (herbicidas, insecticidas, fungicidas) detectadas en aguas superficiales del Cordón Hortícola Platense. Las concentraciones se presentan en el eje-y en escala logarítmica para cada campaña de muestreo en el eje-x.

Al igual que en aguas superficiales, en las muestras de MPS se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre campañas al considerar y no el aporte de GLY+AMPA ( $p=0,0006$ ;  $p=0,0017$ ). Por separado, los tipos de plaguicidas mostraron diferencias significativas en esta matriz (**Figura 4.10**): GLY+AMPA ( $p=0,0017$ ), insecticidas ( $p=0,0017$ ). Por otra parte, los fungicidas sólo fueron detectados en CHP2. Topaz et al. (2018) informaron una

correlación entre la magnitud de los eventos de inundación y las concentraciones en la fase de partículas de la columna de agua. Dada la naturaleza más bien transitoria del MPS, la diferencia encontrada aquí podría muy bien ser el resultado de aportes bastante recientes al sistema y/o la resuspensión y movilización del material depositado de los sedimentos del fondo (Burton & Landrum, 2003). Independientemente de la razón, estas diferencias muestran la necesidad de una mayor investigación de esta matriz ambiental en el trabajo futuro.

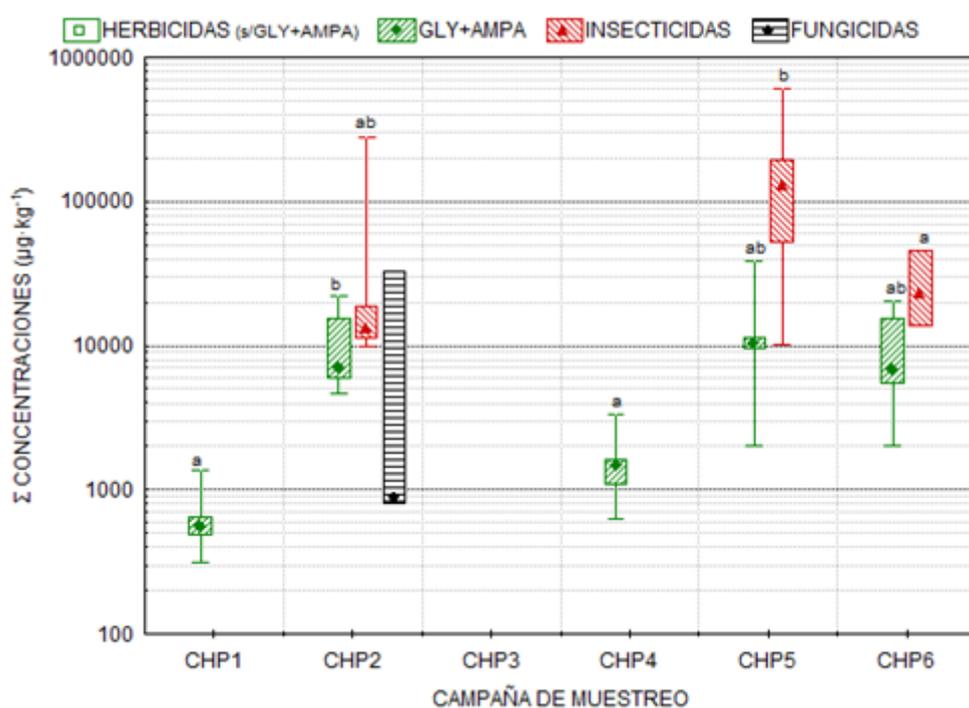


Figura 4.10. Concentraciones de plaguicidas agrupados por tipo (herbicidas, insecticidas, fungicidas) detectadas en material particulado en suspensión del Cordón Hortícola Platense. Las concentraciones se presentan en el eje-y en escala logarítmica para cada campaña de muestreo en el eje-x.

A diferencia de las matrices anteriores, no hubo diferencias en la carga total de plaguicidas para el sedimento, considerando y no GLY+AMPA en la masa total de plaguicidas ( $p=0,1136$ ;  $p=0,0880$ ). Sin embargo, al realizar el mismo análisis por tipo de plaguicida hubo diferencias significativas para herbicidas, con ( $p=0,0383$ ) y sin GLY+AMPA ( $p=0,0072$ ). Además, hubo

diferencias entre campañas en la concentración GLY+AMPA en los sedimentos de fondo ( $p=0,0035$ ). Este comportamiento temporal no se reflejó en las concentraciones de insecticidas ( $p=0,1417$ ) o fungicidas ( $p=0,0898$ ). Las concentraciones en sedimentos se muestran en la **Figura 4.11**. El comportamiento de estos dos últimos grupos de plaguicidas tuvo la capacidad de enmascarar el comportamiento variable en el tiempo de la concentración de herbicidas en los sedimentos. La presencia de insecticidas y fungicidas es un reflejo de su uso continuo en las diferentes producciones hortícolas que se llevan a cabo en la zona (Sarandón, 2015).

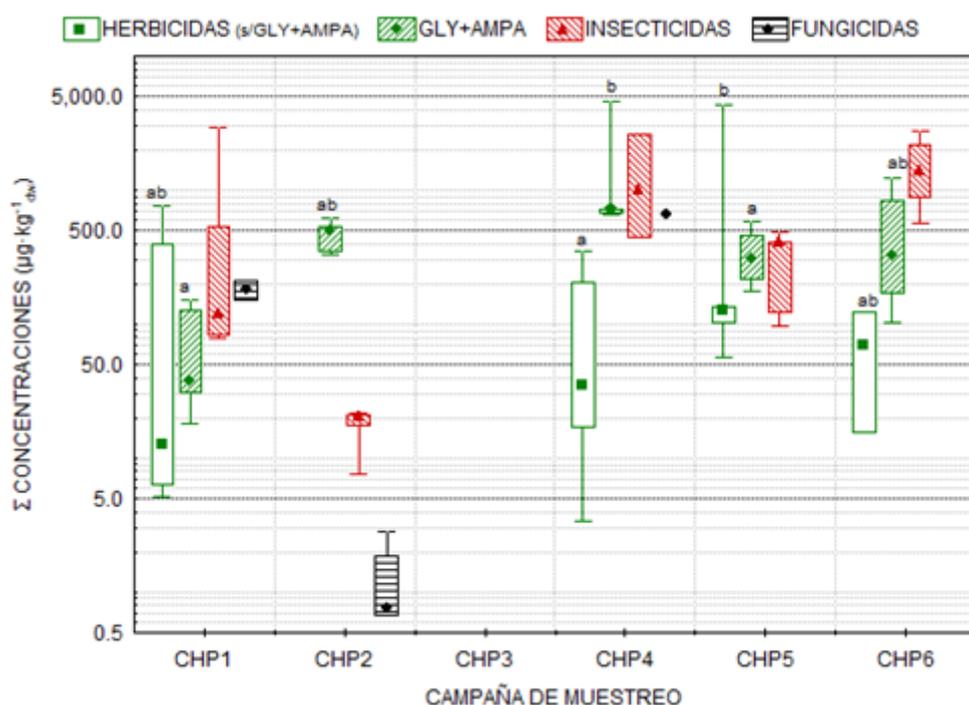


Figura 4.11. Concentraciones de plaguicidas agrupados por tipo (herbicidas, insecticidas, fungicidas) detectadas en sedimentos de fondo del Cordón Hortícola Platense. Las concentraciones se presentan en el eje-y en escala logarítmica para cada campaña de muestreo en el eje-x.

Adicionalmente, el hecho de que la carga de este tipo de plaguicidas en los sedimentos, cuyos logaritmos de  $K_{ow}$  son  $>4,5$  (cf. **Tabla 3.1**), se mantenga invariable en el tiempo le da,

nuevamente, a esta matriz la característica de sumidero para los plaguicidas estudiados tanto por la naturaleza química de las moléculas como por las características del medio físico.

Habiendo analizado el mismo sistema durante 3 años, se puede observar que la carga de plaguicidas en las matrices agua superficial y MPS fluctúa a lo largo de las estaciones del año, mientras que en los sedimentos se mantiene dentro de rangos de concentraciones estables. De manera similar, Fairbairn et al. (2015) observaron una estacionalidad en las concentraciones en el medio acuático, pero no en los sedimentos. Entonces es posible proponer que el agua y el MPS reflejan mejor los plaguicidas que están siendo aplicados actualmente en las diferentes etapas de la producción hortícola, mientras que el sedimento brinda información histórica sobre los ingresos de plaguicidas al sistema, manteniendo en sí un registro de los compuestos utilizados durante mucho tiempo.

##### 4.1.2.1 Variación temporal de GLY y AMPA

Dada la relevancia de aparición y las concentraciones medidas para el herbicida y su metabolito ambiental, se realizó un análisis en particular. Al comparar las campañas de muestreo (**Figura 4.12**) para la columna de agua evaluada por la suma de la fracción soluble y el aporte por MPS, se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre las diferentes campañas estacionales ( $p=0,0007$ ). Como se mencionó anteriormente, la campaña de muestreo CHP3 se llevó a cabo después de precipitaciones superiores a 150 mm, y por ello no se detectaron plaguicidas (todos los valores por debajo del LD). No se encontraron diferencias entre las campañas CHP1, CHP4, CHP5 y CHP6, todas realizadas en verano e invierno de diferentes años. La campaña CHP2 (enero de 2016), sin embargo, difirió

notablemente del resto, cuya excepción podría haber sido el resultado de un aporte reciente de herbicidas (Aparicio et al., 2013). Estos resultados hacen proponer que el ingreso de GLY y AMPA en el arroyo es independiente de la estacionalidad en estos escenarios hortícolas, ya que esta actividad, de hecho, se lleva a cabo con regularidad durante todo el año.

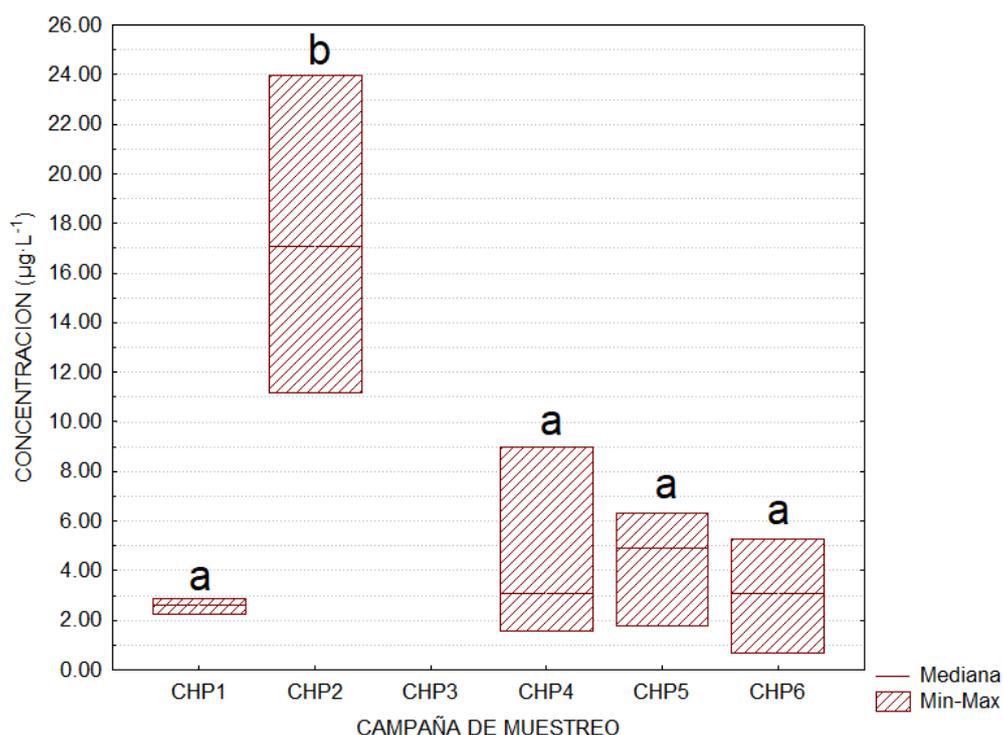


Figura 4.12. Concentraciones de GLY+AMPA de las fracciones solubles + MPS (expresadas en  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) se grafican en el eje-y para cada campaña de muestreo indicada en el eje-x. En las gráficas de caja, la línea horizontal denota la mediana y los valores superior e inferior los máximos y mínimos. La letra "b" en CHP2 indica una diferencia significativa respecto de las otras campañas de muestreo.

#### 4.1.3 Plaguicidas más relevantes asociados con la horticultura

En esta sección se discuten las concentraciones más relevantes que fueron cuantificadas en muestras obtenidas del CHP. Se procederá por cada matriz, con las concentraciones del GLY y AMPA en otro apartado.

## 4.1.3.1 Agua

En la **Tabla 4.8** se presenta un resumen de las concentraciones más relevantes, todos insecticidas, que se encuentran en el agua superficial.

*Tabla 4.8. Concentraciones de plaguicidas en aguas superficiales y comparación con la literatura académica. La concentración máxima cuantificada está subrayada.*

Plaguicida	Campaña de muestreo	Concentración promedio (mín.-máx.) ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )		Comparación con concentración máx.	Sitio <sup>referencia</sup>
		CHP	Reportada		
CLP	CHP2	0,722 (0,044- <u>2,645</u> )	0,0018 (máx. 0,0056)	×472	Río Suquía, Argentina <sup>1</sup>
	CHP5	0,023 (0,007-0,054)	0,001-0,003	×882	Río Ebro, España <sup>2</sup>
	CHP6	0,201 (0,012-0,720)	0,11 (máx. 0,47)	×6	Cuenca del río Paraná, Argentina <sup>5</sup>
CYP	CHP2	1,354 (0,085- <u>3,888</u> )	0,0315 (máx. 0,1217)	×32	Río Suquía, Argentina <sup>1</sup>
			máx. 0,04958	×78	Río Dongjiang, China <sup>3</sup>
			0,74 (0,01-6,62)	×½	Cuenca del río Paraná, Argentina <sup>5</sup>
			máx. 0,0572	×68	Río Ebro, España <sup>6</sup>
			máx. 3,58	≈	Río Arrecifes, Argentina <sup>7</sup>
DEL	CHP2	0,179 (0,115-0,259)	máx. 0,044	×90	Río Dongjiang, China <sup>3</sup>
	CHP5	1,383 (0,257- <u>3,944</u> )	0,00803 (0,00017-0,03556)	×110	Río Tagus, Portugal <sup>4</sup>
λ-CIAL	CHP2	0,004- <u>0,010</u>	0,01810	×½	Río Dongjiang, China <sup>3</sup>
			0,04209 (0,01468-0,10107)	×⅓	Río Tagus, Portugal <sup>4</sup>
			máx. 0,031	×⅓	Lago Vistonis, Grecia <sup>8</sup>
			máx. 0,0175	×½	Delta de California, Estados Unidos <sup>9</sup>

<sup>1</sup> Bonansea et al. (2013); <sup>2</sup> Ccancapa et al. (2016); <sup>3</sup> Chen et al. (2018); <sup>4</sup> Cruzeiro et al. (2016); <sup>5</sup> Etchegoyen et al. (2017); <sup>6</sup> Feo et al. (2010); <sup>7</sup> Marino & Ronco (2005); <sup>8</sup> Papadakis et al. (2015); <sup>9</sup> Weston & Lydy (2010b).

Las concentraciones máximas de CLP informadas por Bonansea et al. (2013) y Ccancapa et al. (2016) estuvieron por debajo del LC en el presente trabajo. (0,006  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , cf. **Tabla 3.8**). Por tanto, la concentración más baja cuantificada aquí resultó ser mayor que estos máximos. De manera similar, la concentración máxima de CYP encontrada fue más de 30 veces la máxima

informada en otros países. Sin embargo, al comparar con otras publicaciones de Argentina donde se realiza agricultura extensiva, el máximo en la cuenca del Carnaval fue similar o menor. En áreas con cultivos hortícolas en Suecia, CLP y CYP se detectaron sólo en concentraciones traza (Kreuger et al., 2010).

La concentración más baja de DEL fue aún mayor que la concentración máxima encontrada en China (Chen et al., 2018) y Portugal (Cruzeiro et al., 2016). La baja ocurrencia y concentración de  $\lambda$ -CIAL en el agua superficial puede ser el resultado de sus propiedades fisicoquímicas: He, Troiano, Wang, & Goh (2008) reportaron una rápida tasa de disipación del medio acuático, quedando un 30% de la dosis aplicada después de 1 día en la fase acuosa. Este comportamiento se refleja en la ocurrencia y concentraciones de  $\lambda$ -CIAL en sedimentos, que se discutirán más adelante.

Otros dos plaguicidas que merecen ser mencionados, detectados en más del 20% de las muestras de agua, son el herbicida TRF (26%) y el fungicida AZX (36%). Ambos compuestos se utilizan en la producción de tomate (Sarandón, 2015), característica de la zona durante el verano. El primero sólo se detectó durante las campañas de muestreo de verano, en concentraciones que iban por debajo del LC ( $0,0005 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) a  $1,8305 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , mientras que AZX se encontró en el rango de  $0,007$ - $0,385 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . De manera similar, Reilly et al. (2012) encontraron hasta  $2,1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de TRF en áreas donde se cultivan papas. En Suecia, AZX se encontró en una concentración máxima de  $3,9 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 10 veces más que en el presente manuscrito (Kreuger et al., 2010).

En general, las concentraciones de plaguicidas en agua reportadas aquí, en un pequeño cuerpo de agua impactado exclusivamente por la producción hortícola, exceden las

concentraciones previamente reportadas en otros sistemas donde el ingreso de plaguicidas es el resultado de diversas actividades productivas, principalmente agricultura extensiva de granos y oleaginosas. Además, los datos ofrecen más pruebas que apoyan el postulado que establece el mayor riesgo por plaguicidas para los pequeños arroyos; y afirma la necesidad de realizar más estudios sobre este tipo de cuerpos de agua con el desafío de la medición del máximo número posible de compuestos, que resultan ser receptores primarios de contaminación difusa por plaguicidas.

##### **4.1.3.2 Material particulado en suspensión**

Existe escasa información reportada sobre las concentraciones de plaguicidas en el MPS, ya que la mayoría de los trabajos de investigación analizan el agua superficial, la fracción entera o soluble, y no examinan la contribución de los plaguicidas asociados a la fracción particulada de la columna de agua. Por lo tanto, los datos sobre insecticidas que se presentan en esta sección se comparan con la poca literatura disponible. Esta diferenciación es más frecuente para GLY y AMPA y, la discusión de estos resultados se llevará a cabo en profundidad más adelante.

Los piretroides CYP y  $\lambda$ -CIAL fueron los insecticidas detectados con mayor frecuencia en MPS. Las concentraciones detectadas estuvieron entre 5.296-194.137  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  para CYP y 4.970-538.970  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  para  $\lambda$ -CIAL. En el río Tajo, Cruzeiro et al. (2016) informaron concentraciones de 109.770 a 198.910  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  para CYP y un máximo de 1.600  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  para  $\lambda$ -CIAL. La mayoría de las concentraciones de CYP están por debajo del mínimo informado para el río Tajo, pero el máximo del CHP se encuentra entre esos valores. Por el contrario, las

concentraciones de  $\lambda$ -CIAL fueron más altas que el máximo de  $1.600 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , siendo la concentración más baja más de 3 veces dicho valor. De manera similar, en ambos casos se observó una mayor carga de plaguicidas en el MPS durante los meses más cálidos, que coincide con el aumento en la producción, la consecuente apariciones de plagas (artrópodos) y el aumento en las aplicaciones de insecticidas por superficie y por unidad de tiempo. A esto se le suman el menor volumen de precipitaciones, menor caudal del curso de agua y una mayor cantidad de material particulado en suspensión en la columna de agua (cf. MPS y precipitaciones en la **Tabla 4.3**), ya que es un comportamiento contrario al esperado como una función de la temperatura sobre la constante de reparto fisicoquímico (Etchegoyen et al., 2020).

##### 4.1.3.3 Sedimentos de fondo

En la **Tabla 4.9** se presenta un resumen de las concentraciones más relevantes, todos insecticidas, que se encuentran en el agua superficial.

En general, las concentraciones de plaguicidas encontradas en este estudio superan ampliamente las concentraciones informadas previamente en la literatura de referencia. CLP y  $\lambda$ -CIAL fueron los plaguicidas detectados con mayor frecuencia en los sedimentos, ambos en más del 50% de las muestras. La concentración más alta de CLP fue de  $2.258 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ , detectada en S3 de CHP1. En ese mismo sitio, se encontraron  $649,0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  de  $\lambda$ -CIAL. La concentración mínima de CLP estuvo entre 2 y 10 veces por encima de muchos de los máximos publicados para otras regiones. Estos resultados están de acuerdo con la disposición

espacial de los sitios de muestreo en el arroyo Carnaval, ya que S3 está ubicado en el área de producción central.

*Tabla 4.9. Concentraciones de plaguicidas en sedimentos y comparación con la literatura académica. La concentración máxima cuantificada está subrayada.*

Plaguicida	Campaña de muestreo	Concentración promedio (mín.-máx.) ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ )		Comparación con concentración máx.	Sitio referencia
		CHP	Reportada		
CLP	CHP1	613 (78- <u>2.258</u> )	7,66 (máx. 36,17)	×62	Río Ebro, España <sup>1</sup>
	CHP5	132 (70-202)	máx. 13,5	×167	Cuenca del río Paraná, Argentina <sup>2</sup>
	CHP6	295 (163-562)	máx. 7,41	×305	Buenos Aires, Argentina <sup>4</sup>
CYP	CHP2	8 (4-15)	máx. 211	×5	Cuenca del río Paraná, Argentina <sup>2</sup>
			máx. 71,9	×15	Río Ebro, España <sup>3</sup>
	CHP6	839 (651- <u>1.076</u> )	máx. 8,32	×129	Buenos Aires, Argentina <sup>4</sup>
$\lambda$ -CIAL	CHP2	4,4 (1,8-9,3)	máx. 6,09	×428	Buenos Aires, Argentina <sup>4</sup>
	CHP4	1349,9 (443,4- <u>2.607,7</u> )			
	CHP5	247,1 (53,1-403,7)			
	CHP6	1.222,8 (654,7-1.790,8)			

<sup>1</sup> Ccanccapa et al. (2016); <sup>2</sup> Etchegoyen et al. (2017); <sup>3</sup> Feo et al. (2010); <sup>4</sup> Hunt et al. (2016).

Se detectó TRF en concentraciones entre 2,99 y 740,34  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ , presentando sus máximos de cada campaña en S3, con concentraciones de 740,34  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ , 205,34  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ , 55,88  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  y 124,06  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  para las campañas CHP1, CHP4, CHP5 y CHP6, respectivamente. En CHP5, se detectó ATC en concentraciones entre 98,6 a 4.315,3  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ , registrándose en S1 la concentración más alta de plaguicida encontrada en este estudio. Asimismo, en la campaña anterior (CHP4), solo se detectó ATC en S1 a una concentración de 171,0  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ , y en esa misma muestra se detectaron 183,0  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  de ATZ. Finalmente, y a pesar de ser raramente detectado, las concentraciones de fungicidas excedieron las reportadas anteriormente. Por ejemplo, Smalling et al. (2013) informó una concentración máxima de AZX

de  $2,5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ , mientras en el CHP se cuantificó una concentración máxima de AZX de  $153 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  en S3 de CHP1. Además, se detectó EPX en concentraciones de hasta  $652 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  en S1 de CHP4. Estos datos representan el primer reporte de algunos de estos plaguicidas, como TRF y AZX, en sedimentos del país.

#### 4.1.1 Caso particular: GLY y AMPA

Las concentraciones medianas (mínima-máxima) de GLY y AMPA, respectivamente, fueron  $3,1 (0,2-17,0)$  y  $1,4 (0,2-4,5) \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  en las fracciones solubles de las muestras de agua (Figura 4.13), y en la masa de MPS fueron de  $3.735 (245-35.620)$  y  $662 (43-19.586) \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  o  $0,2 (0,0001-5)$  y  $0,02 (0,0006-1) \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  referido a la cantidad de MPS en de la columna de agua (Figura 4.14).

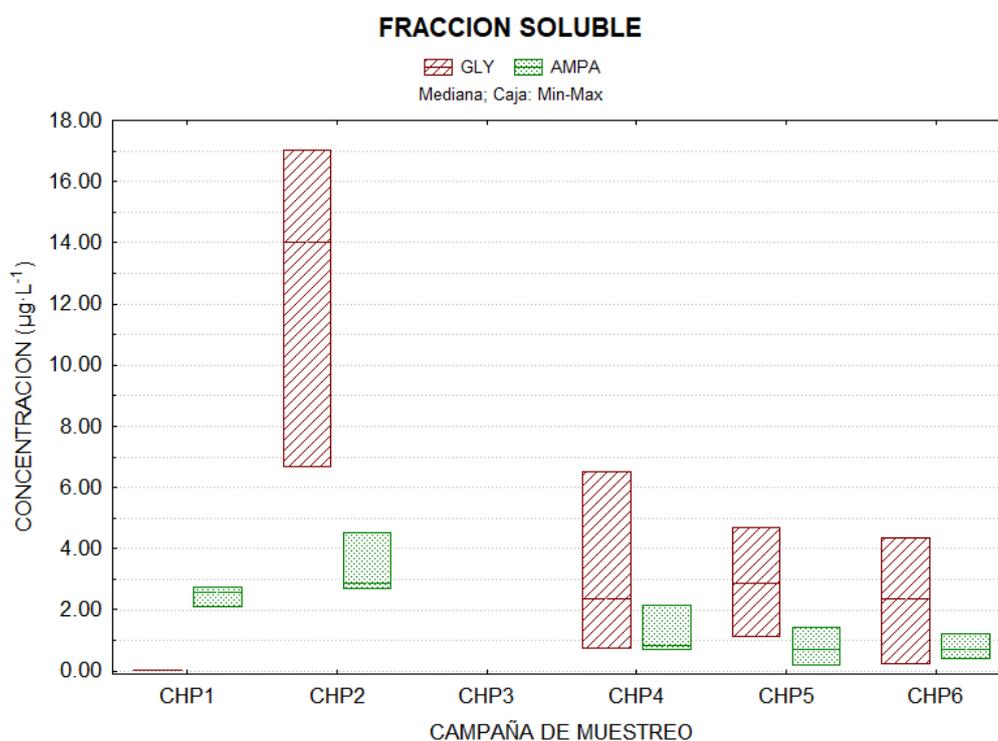


Figura 4.13. Concentración de GLY y AMPA en la fracción soluble. En el gráfico, la línea horizontal indica la mediana y los bordes de la caja los valores máximos y mínimos.

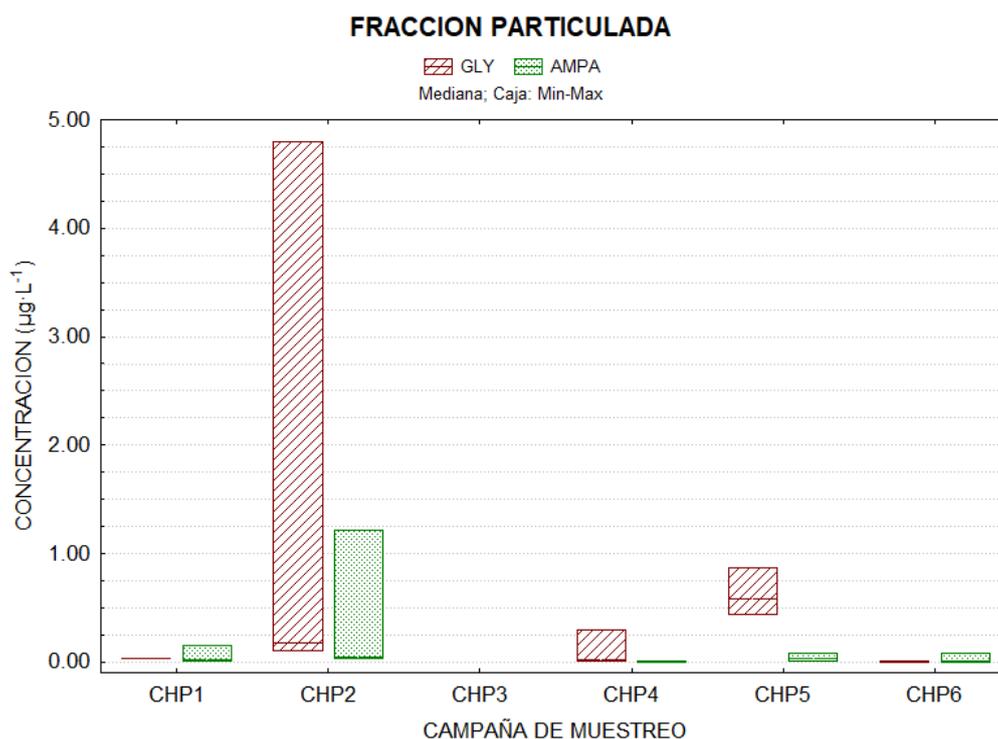


Figura 4.14. Concentración de GLY y AMPA asociadas a la fracción particulada. En el gráfico, la línea horizontal indica la mediana y los bordes de la caja los valores máximos y mínimos.

En cuerpos de agua de Estados Unidos, Battaglin et al. (2014) encontró una concentración mediana de GLY de  $0,03 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , valor que es 100 veces menor que el del presente trabajo ( $3,1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). La concentración mediana de AMPA allí ( $0,20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) fue la misma que la mínima en este trabajo y la concentración máxima en el mismo orden de magnitud. En cuanto a los datos de GLY en agua, el mínimo del presente estudio fue del mismo orden de magnitud que los valores promedio en publicaciones anteriores para Argentina (Primost et al., 2017; Ronco et al., 2016). La concentración máxima ( $17,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) fue más alta que todas las reportadas previamente, con la única excepción de una sola muestra cerca de cultivos intensivos donde se encontraron  $125,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  en ríos de bajo caudal en la provincia de Córdoba (Bonansea et al., 2017). Las concentraciones de AMPA reportadas en las publicaciones antes mencionadas estaban dentro del rango mínimo-máximo del presente estudio. Según esta nueva información, y en función de las concentraciones medidas en agua, se puede demostrar que

el uso de GLY en las prácticas hortícolas del CHP – y siendo este un escenario característico para este tipo de producción – las concentraciones del herbicida fueron mayores que los medidos en cuerpos de agua impactados por cultivos extensivos.

En la fracción asociada al MPS, las concentraciones medianas de GLY en los diferentes sitios de muestreo duplicaron el valor reportado por Ronco et al. (2016) para distintos afluentes del río Paraná y duplicó el máximo para el río Suquía en la provincia de Córdoba (Bonansea et al., 2017). De hecho, esa cifra cuadruplicó las concentraciones de las vías fluviales de primer y segundo orden que drenan los campos de soja en Urdinarrain, provincia de Entre Ríos (Primost et al., 2017), y fue un orden de magnitud mayor que el valor máximo informado en el sureste de la provincia de Buenos Aires (Aparicio et al., 2013). La concentración máxima encontrada en el río Suquía ( $685 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) fue similar a la mediana de nuestro estudio ( $662 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), y la máxima en Buenos Aires ( $210 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) fue 3 veces menor que la mediana.

La relación entre las concentraciones totales de GLY y AMPA (total = soluble + MPS) en cada muestra se investigó mediante una regresión lineal simple (**Figura 4.15**). Se encontró una correlación estadísticamente significativa entre el herbicida y su metabolito ( $r^2=0,6058$ ;  $p=0,00005$ ) que demuestra la relación entre el compuesto parental y su metabolito de degradación ambiental y por lo tanto la aparición de AMPA se corresponde con una misma fuente de origen de GLY (Primost et al., 2017).

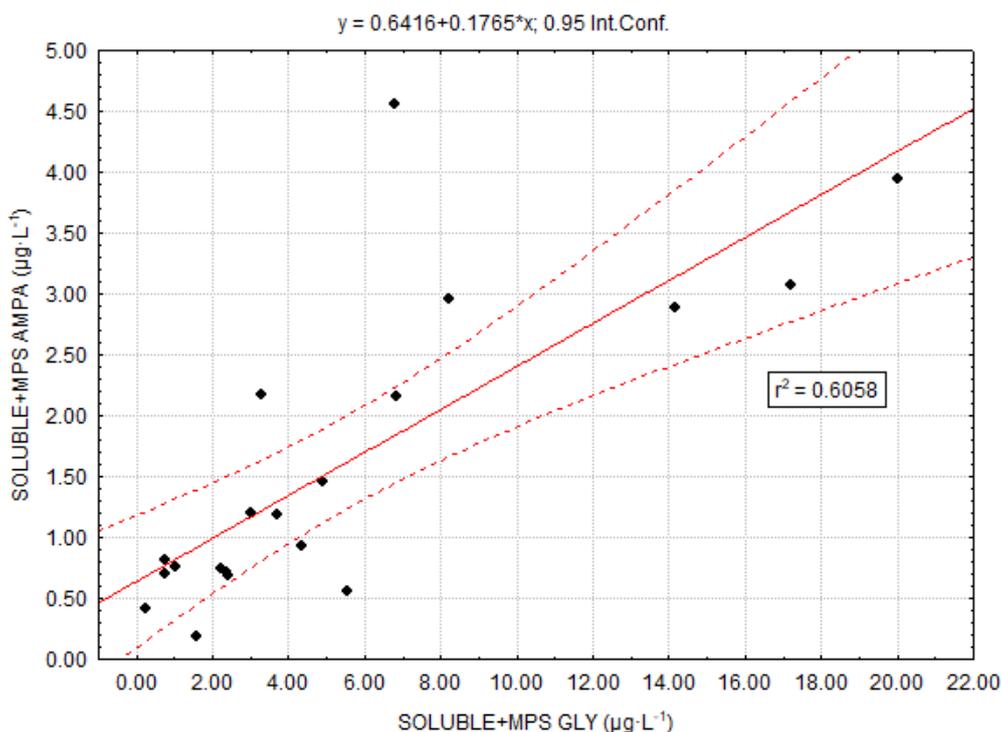


Figura 4.15. Relación entre la concentración total (soluble + MPS) de GLY (eje-x) y la concentración total de AMPA (eje-y) en cada muestra individual (indicado con un ●). La línea roja continua indica la función de regresión lineal y las líneas rojas punteadas los intervalos de confianza asociados.

Al igual que lo registrado en las muestras de aguas y de MPS, GLY y AMPA fueron los compuestos más detectados en los sedimentos. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de GLY+AMPA entre todas las campañas de muestreo ( $p=0,0025$ ). Sin embargo, dentro de las campañas de verano (CHP2, CHP4, CHP6;  $p=0,1676$ ) e invierno (CHP1, CHP5;  $p=0,1752$ ) no se encontraron diferencias (**Figura 4.16**). Las concentraciones medias de las campañas de verano (GLY=350,1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ , AMPA=131,9  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ ) fueron más altas que las de invierno (GLY=114,6  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ , AMPA=50,3  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ ), lo que refleja el ciclo de mayores aplicaciones durante primavera-verano (Marino & Ronco, 2005). Asimismo, se cuantificaron los máximos durante el verano: GLY=1.146,5  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  y AMPA=4.032,7  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ , y mínimos durante el invierno: GLY=11,0  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  y AMPA=4,6  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ .

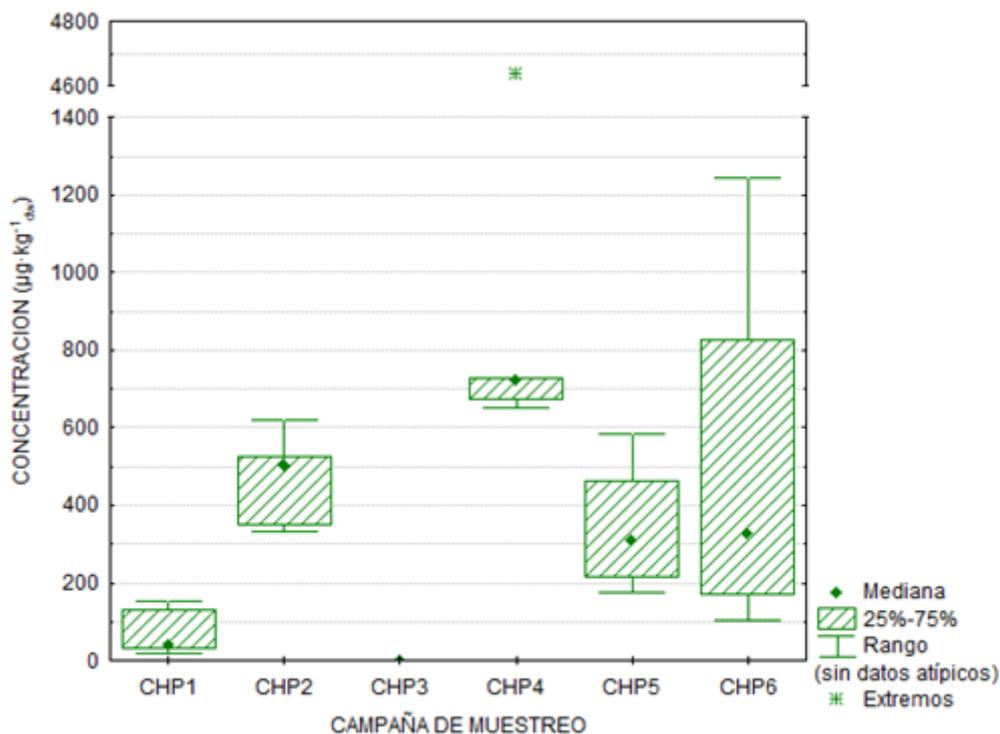
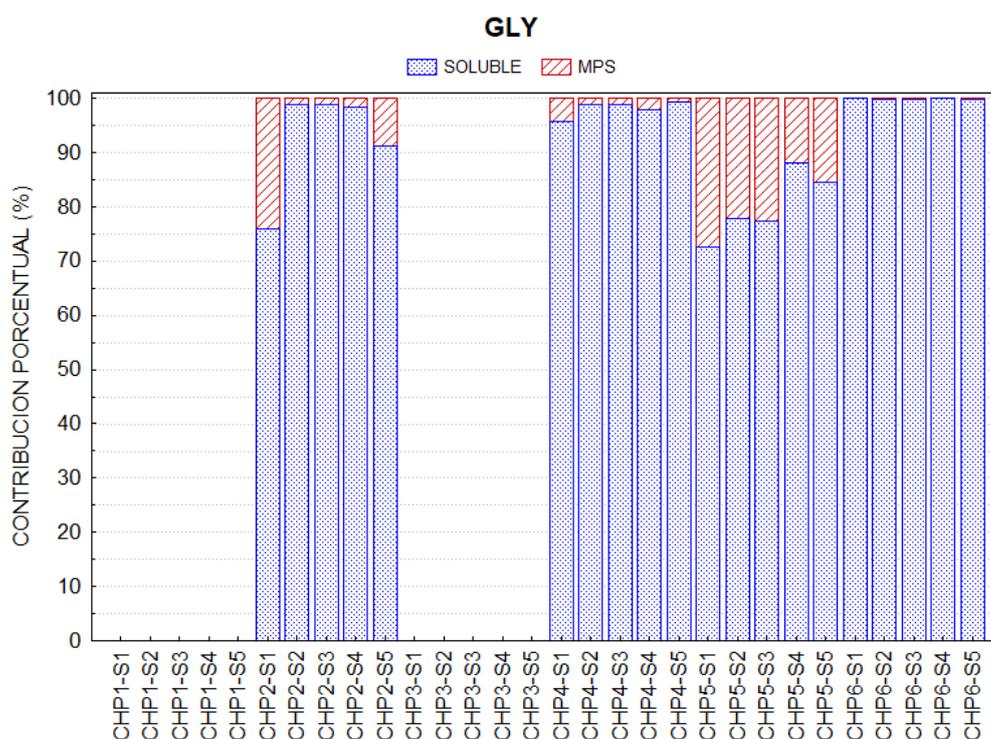


Figura 4.16. Concentración de GLY+AMPA en sedimentos de fondo del Cordón Hortícola Platense.

Las publicaciones que reportan concentraciones de GLY y AMPA en Argentina se enfocan en áreas con agricultura extensiva. Aparicio et al. (2013) encontraron concentraciones máximas de GLY y AMPA de  $221 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  y  $235 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ , respectivamente. Mientras que Primost et al. (2017) encontraron concentraciones máximas de  $\text{GLY}=1.549 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  y  $\text{AMPA}=4.028 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ . Estas concentraciones en sedimentos de cuerpos de agua con influencia directa por la agricultura extensiva dependiente del uso de GLY presentan un rango de valores tal que las concentraciones medidas en este trabajo de tesis para una pequeña cuenca con actividad hortícola, están incluidas en dicho intervalo. Estos resultados evidencian la generalidad de su uso y confirman la tendencia de este comportamiento en los distintos compartimentos ambientales estudiados.

#### 4.1.1 Contribución a la carga total y al coeficiente de partición $K_d$

Los estudios previamente citados informaron que GLY y AMPA se encontraron más frecuentemente asociados al MPS que a la fase soluble, a pesar su alta solubilidad (cf. **Tabla 3.1**). Como resultado de estos hallazgos, Ronco et al. (2016) y Primost et al. (2017) recomendaron el análisis del MPS como una estrategia más sensible para la detección de GLY y AMPA en aguas superficiales. Como producto del diseño experimental se determinaron las concentraciones de GLY y AMPA en la fracción soluble y particulada, así como la cantidad de MPS correspondientes por unidad de volumen, es posible calcular el grado en que cada fracción contribuye a la carga total de herbicida en la columna de agua. La **Figura 4.17** ilustra los resultados para GLY muestra a muestra, y la **Figura 4.18** para AMPA. La contribución de la fracción soluble fue mucho mayor que la particulada: en promedio, la fracción soluble representó el 92,7% de la contribución de GLY y el 95,7% de la AMPA, con máximos de 99,9%.



*Figura 4.17. Contribución porcentual de las fracciones solubles (barra azul) y particulada (barra roja) a la concentración de GLY en cada muestra del CHP.*

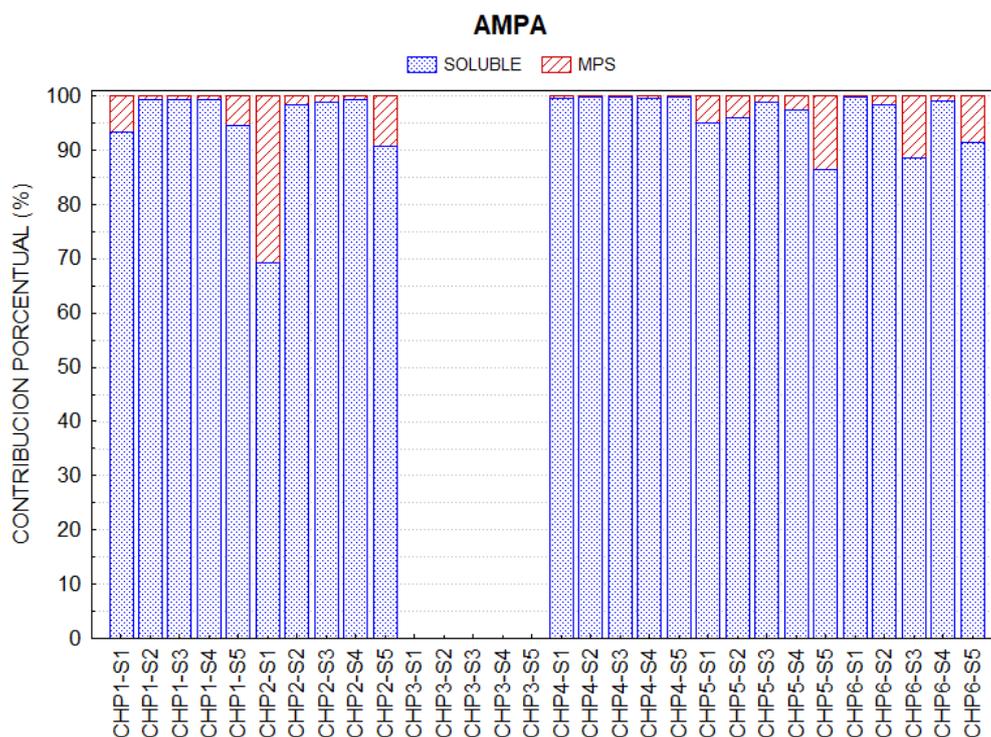


Figura 4.18. Contribución porcentual de las fracciones solubles (barra azul) y particulada (barra roja) a la concentración de AMPA en cada muestra del CHP.

Con los mismos datos, se estimó el coeficiente de partición ( $K_d$ ) – la relación de las concentraciones de fase sólida a soluto – para los dos compuestos en cada muestra. Los valores medios de  $K_d$  (mínimo-máximo) (expresados en  $L \cdot kg^{-1}$ ) fueron 833 (81-7564) y 325 (25-3584) para GLY y AMPA, respectivamente. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de  $K_d$  para los dos compuestos (prueba de Wilcoxon,  $p > 0,05$ ). Las posibles relaciones entre las concentraciones, los valores de  $K_d$  y los parámetros fisicoquímicos medidos se investigaron mediante la matriz de correlación de Spearman, pero no se encontraron relaciones significativas.

En el sur de la región pampeana de la provincia de Buenos Aires, Lupi et al. (2015) informaron un valor de coeficiente de escorrentía de sedimento de  $26 L \cdot kg^{-1}$ . La diferencia entre los valores informados previamente y los reportados aquí podría atribuirse a variaciones en los tamaños y naturaleza de partículas de las dos matrices sólidas. Estudios realizados sobre una

fracción de suelo erosionable por agua producida experimentalmente (<250 micras) reportaron valores de  $K_d$  dos veces mayores respecto de los obtenidos con suelo tamizado por 2 mm (Amiot et al., 2014). Si se considera la heterogeneidad del tamaño natural y la composición de las partículas, es de esperar la alta variabilidad observada en distintas regiones.

Aunque el coeficiente de partición  $K_d$  indicó que GLY y AMPA tenían tendencia a ser absorbidos por las partículas, la cantidad de partículas por unidad de volumen en la columna de agua es como máximo  $292,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (CHP6; cf. **Tabla 4.3**). Por lo tanto, la contribución másica de estos contaminantes observada es, en promedio, menos del 10% de la concentración total. Independientemente de la contribución a la columna de agua, a través de procesos de sedimentación el MPS se convierte en parte de la matriz de bentos; y en dicho compartimento, GLY y AMPA se encontraron con frecuencia en la cuenca del arroyo Carnaval.

Si bien el análisis de la MPS sigue siendo un método más sensible para cuantificar la presencia de GLY y AMPA – ya que la filtración de grandes volúmenes y la desorción en algunos mililitros de extractante produce una concentración de esa fase –, el análisis en fracción soluble se lleva a cabo sin ninguna forma de concentración. Aunque Ronco et al. (2016) y Primost et al. (2017) recomiendan el análisis de MPS como el método de detección más sensible, los resultados actuales indican que la fracción soluble no debe omitirse del análisis general, ya que esa fracción aporta más del 90% del GLY y/o AMPA encontrado en la columna de agua y cada cuerpo de agua debe evaluarse en particular frente a esta distribución líquido-sólido.

Al mismo tiempo, se calcularon los coeficientes de distribución sedimento-agua observados ( $K_{d-obs}$ ) para GLY y AMPA, entre la fracción soluble y el sedimento. Es importante señalar que

se trata de pseudo-coeficientes, ya que no se puede suponer que un sistema en movimiento, por lento que sea, se encuentre en equilibrio (Fairbairn et al., 2015). La mediana (mínimo-máximo) de  $K_{d-obs}$  para GLY y AMPA fueron 54 (18-488)  $L \cdot kg^{-1}$  y 53 (4-1.861)  $L \cdot kg^{-1}$ , respectivamente (**Figura 4.19**). Estos valores están dentro de los valores de  $K_d$  informados para GLY: 5,3-900  $L \cdot kg^{-1}$  y AMPA: 15-1.554  $L \cdot kg^{-1}$  (EC, 2002). No se observaron diferencias significativas con respecto a las campañas de muestreo, así como posibles correlaciones con temperatura o precipitación.

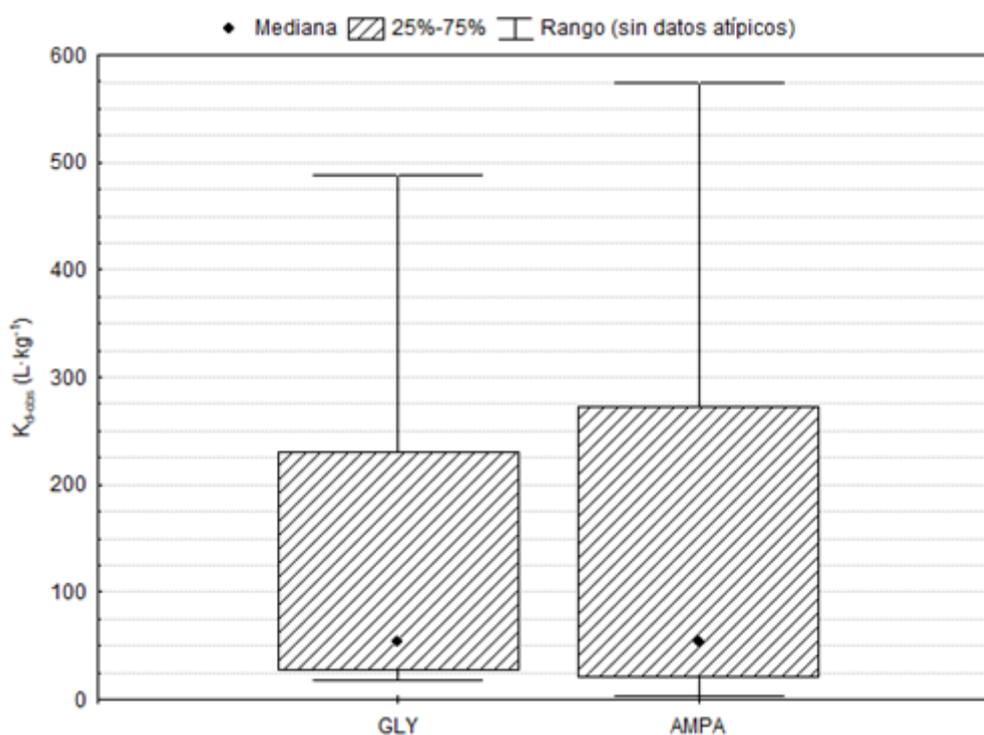


Figura 4.19. Constantes de reparto  $K_{d-obs}$  calculadas para muestras del Cordón Hortícola Platense.

La sorción de compuestos polares e hidrófilos, como GLY y AMPA, como lo demuestra su solubilidad y  $\log K_{ow}$  negativo (**Tabla 3.1**), está fuertemente influenciada por interacciones no hidrófobas cuando estén presentes componentes relevantes de materia orgánica o fracción mineral del suelo. Dado que las muestras de sedimentos se obtuvieron de la misma cuenca, no se esperan grandes diferencias en la composición mineral. Asimismo, la variación temporal

y espacial en el contenido de materia orgánica no presentó diferencias estadísticamente significativas. Es entonces que este rango de coeficientes puede relacionarse más con las variaciones de concentraciones en el ambiente y con la velocidad de los diferentes procesos fisicoquímicos de sorción, que con la naturaleza de la matriz sólida.

Como se presentó anteriormente, se detectaron diferencias significativas en las concentraciones de GLY y AMPA en agua. Ingresos recientes de GLY y/o AMPA al sistema darían lugar a concentraciones en el agua que cambian más rápidamente que los procesos de sorción-desorción. Fairbairn et al. (2015) propusieron que las concentraciones en agua son parcialmente responsables de las variaciones en los coeficientes de distribución observados, lo que demuestra, como en este estudio de caso, que el sistema de hecho no está en equilibrio. Alternativamente, en los sedimentos, estos compuestos pueden no biodegradarse tan rápidamente como en el agua debido a las condiciones anóxicas que generan una mayor vida media del herbicida en estos ambientes – hasta dos órdenes de magnitud más que en el agua (Ronco et al., 2016; USEPA, 2008). Ambos escenarios resultan en un aumento de  $K_{d-obs}$  y pone en valor la evaluación de este tipo de constantes fisicoquímicas en los escenarios naturales/reales *versus* los valores bibliográficos o de laboratorio.

#### **4.1.2 Relación entre dinámica de lluvias y concentración de plaguicidas en agua**

Se utilizaron modelos de regresión teniendo en cuenta las precipitaciones acumuladas de 3, 5, 7, 10 y 14 días antes del muestreo y las concentraciones totales de plaguicidas en agua superficial, como la suma de las concentraciones de plaguicidas en cada muestra dada. Los sitios de muestreo de cada campaña se consideraron réplicas del sistema para el modelo de

regresión, ya que anteriormente no se encontraron diferencias en la distribución espacial de las concentraciones de plaguicidas.

Primero, se encontraron diferencias significativas entre las cargas totales de plaguicidas en aguas superficiales entre las diferentes campañas de muestreo ( $p=0,0036$ ). Sin embargo, para los pares de campañas CHP1-CHP6 y CHP4-CHP5, con volúmenes de lluvia similares, no se observaron diferencias ( $p=0,6905$  y  $p=0,8413$ , respectivamente), independientemente de la estacionalidad. Para ambientes que reciben continuas aplicaciones, el régimen de lluvias resultó ser más relevante que la estación del año en los niveles observados. Por lo tanto, se utilizó el conjunto de datos completo con la precipitación promedio para dichos pares de campañas de muestreo. El mejor ajuste se obtuvo con una curva exponencial al considerar las precipitaciones acumuladas de 14 días previos a la fecha de muestreo (**Figura 4.20**,  $p<0,0001$ ).

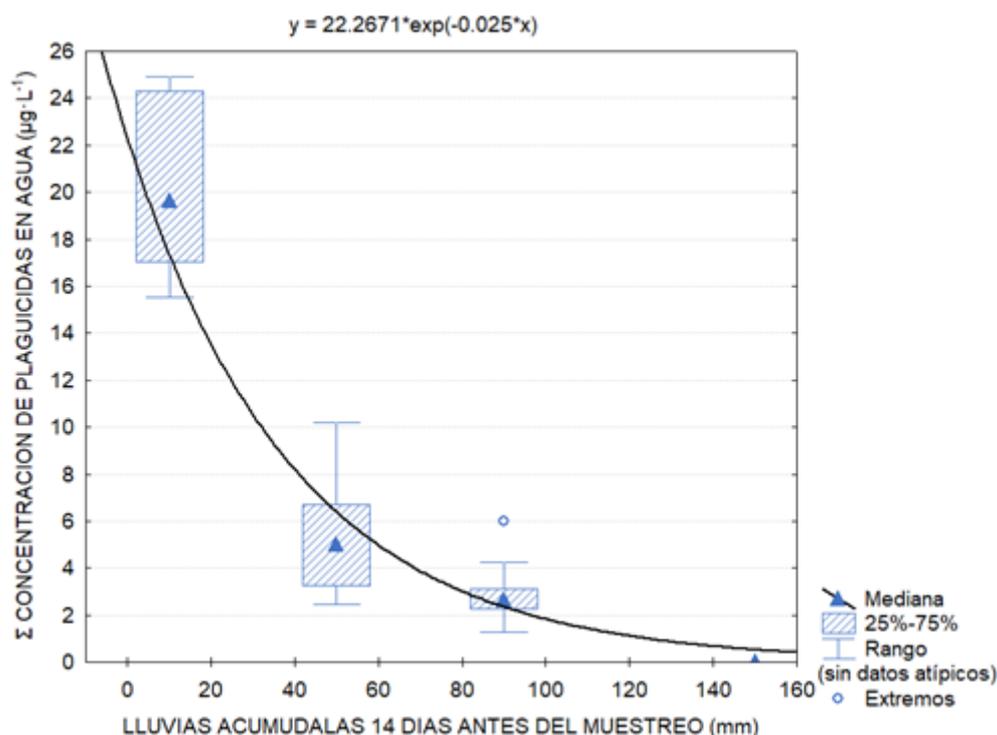


Figura 4.20. Relación entre las precipitaciones acumuladas durante 14 días antes del muestreo (eje-x) y la concentración total de plaguicidas en el agua superficial (eje-y) en cada campaña de muestreo. La línea negra continua indica la función de regresión.

El movimiento de los plaguicidas por el medio acuático, desde su ingreso al sistema, su permanencia y finalmente la salida del sistema, depende del área de la cuenca, del caudal del cuerpo de agua y especialmente del hecho de que se trata de una fuente de contaminación no puntual, tanto en el espacio como en el tiempo (Szöcs et al., 2017; Topaz et al., 2018). Aunque 14 días puede parecer mucho tiempo para que los plaguicidas permanezcan en un cuerpo de agua en movimiento, el arroyo Carnaval y sus afluentes poseen una baja velocidad de corriente (Banda Noriega & Ruíz de Galarreta, 2002), y nuevos ingresos – no limitados a eventos de escorrentía superficial influenciados por lluvia – en esa ventana de tiempo son posibles. Sumado a esto, una mayor turbidez significa menos penetración de la luz solar y consecuentemente menor tasa de fotólisis. En términos generales y, según los resultados medidos y contextualizados en el escenario ambiental, la carga de plaguicidas en el curso de agua después de precipitaciones entre 40 y 90 mm tiende a permanecer relativamente estables, independientemente de la época del año. En conjunto, y como ya se expuso en lluvias superiores a 150 mm prima la dilución y en menores a los 40 mm una movilidad suficiente pero una baja capacidad de dilución por parte del cuerpo receptor. Consecuentemente en el diseño de muestreo de aguas superficiales la variable de precipitaciones puede incidir sobre los resultados. Para el sistema estudiado, la mayor representatividad se dio en el rango citado y puede tomarse como recomendación para la planificación de campañas de monitoreo de cuerpos de aguas de bajo caudal.

### 4.1.3 Comparaciones con niveles guía de calidad de agua ambiente para protección de la biota acuática

Las muestras de agua de CHP2, CHP4, CHP5 y CHP6 contenían al menos un plaguicida que no era GLY y/o AMPA. Cada una de esas concentraciones de plaguicidas se comparó con su respectivo nivel guía de calidad de agua ambiente para protección de la biota acuática (NGPBA), tanto nacional como internacional o propuesto por literatura científica, cuando la primera no se encontraba disponible. El nivel guía nacional para GLY es de  $2.400 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (SRHN, 2003c). La concentración más alta de GLY encontrada en este trabajo ( $17,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) fue 120 veces inferior a dicho límite. Las concentraciones de atrazina fueron más de 60 veces inferiores a lo establecido por la normativa nacional (SRHN, 2003a).

En CHP2, se detectaron hasta 10 plaguicidas en la misma muestra de agua (S5), y un promedio de más de 8 compuestos por muestra. Solo los insecticidas estaban por encima de su NGPBA (**Figura 4.21**), mientras que los herbicidas GLY, AMPA, ATZ y TRF estaban por debajo (CCME, 1999b; SRHN, 2003a, 2003c), y no se encontró nivel guía para el fungicida AZX (concentración máxima:  $0,385 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) durante la revisión de la literatura. Los insecticidas CYP (SRHN, 2003b) y CLP (SRHN, 2005) estuvieron presentes en todas las muestras en las concentraciones 141-6480 y 7-441 veces por encima de cada NGPBA. Otros dos insecticidas, DEL (CCME, 1999a) y  $\lambda$ -CIAL (Silva et al., 2005), se detectaron en 4 de 5 ubicaciones de muestreo en concentraciones 286-648 y 4-10 veces por encima del nivel guía. En S5, END también se detectó por encima de la guía (SRHN, 2004). Etchegoyen et al. (2017), en las 23 muestras evaluadas de la cuenca del río Paraná, encontró concentraciones de END, CLP y CYP que superaban los respectivos niveles guía para todas ellas.

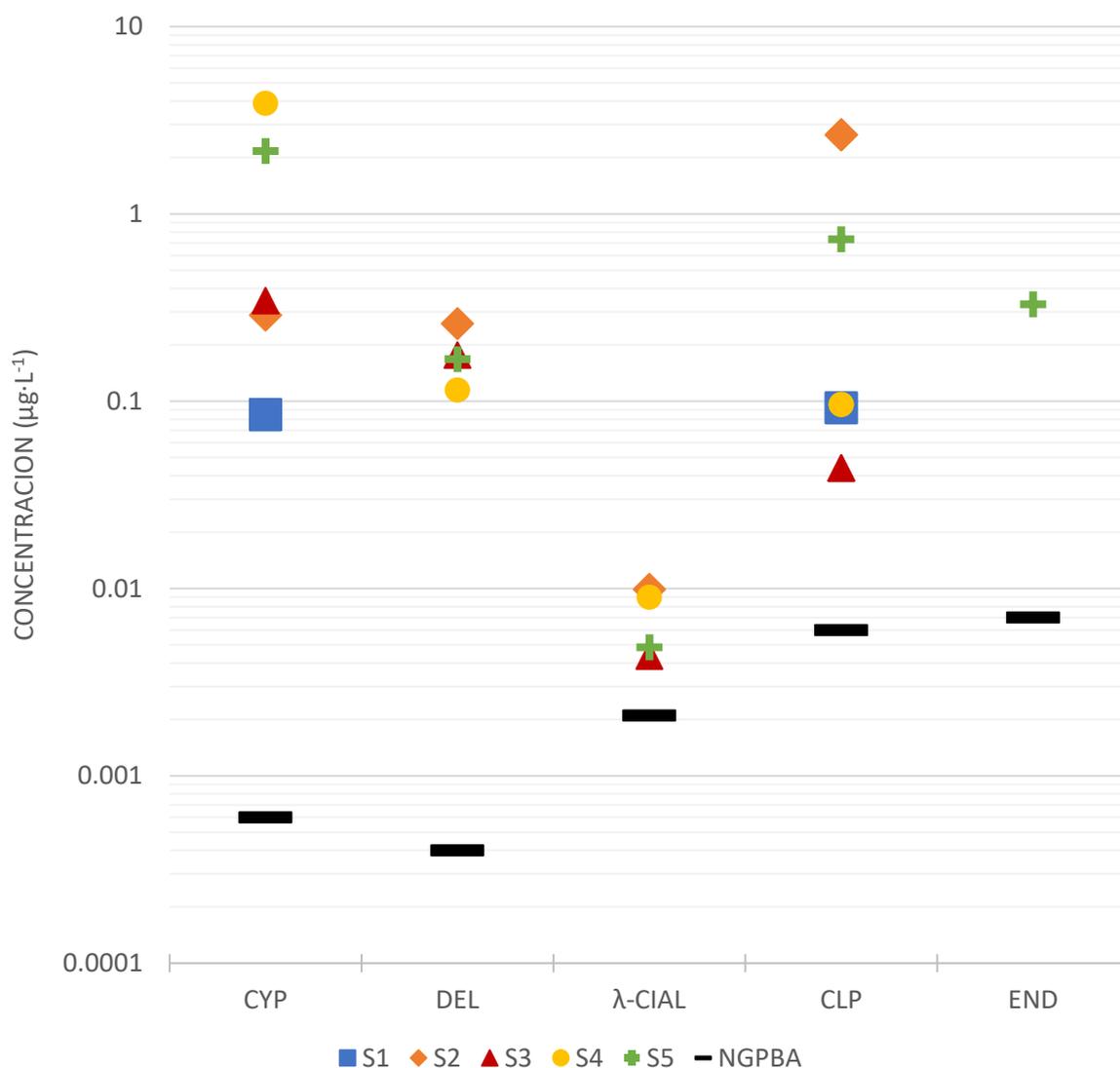


Figura 4.21. Comparación de concentraciones encontradas en agua superficial de la campaña CHP2 con su respectivo nivel guía para la protección de la biota acuática (NGPBA). Las concentraciones en la ordenada se presentan en escala logarítmica de base 10 para cada uno de los diferentes plaguicidas analizados que se muestran en la abscisa, con los sitios de muestreo indicados por código de símbolo y color: S1 (cuadrado azul), S2 (diamante naranja), S3 (triángulo rojo), S4 (círculo amarillo) y S5 (cruz verde). La línea negra horizontal sólida muestra el NGPBA.

Durante CHP4, las concentraciones de TRF estuvieron por encima de la pauta en S3 y S4. En CHP5 (Figura 4.22), se detectaron dos insecticidas en todos los sitios por encima del NGPBA: CLP en concentraciones de 1,2 a 9 veces el nivel guía y DEL 643-9859 veces por encima del nivel establecido. El piretroide BIF solo se detectó en S3, no obstante, 36 veces por encima del nivel guía propuesto (Palumbo et al., 2010). Por último, se detectó CLP en 4 de 5

ubicaciones de muestreo a concentraciones de 2 a 120 veces mayores que las de su NGPBA durante CHP6.

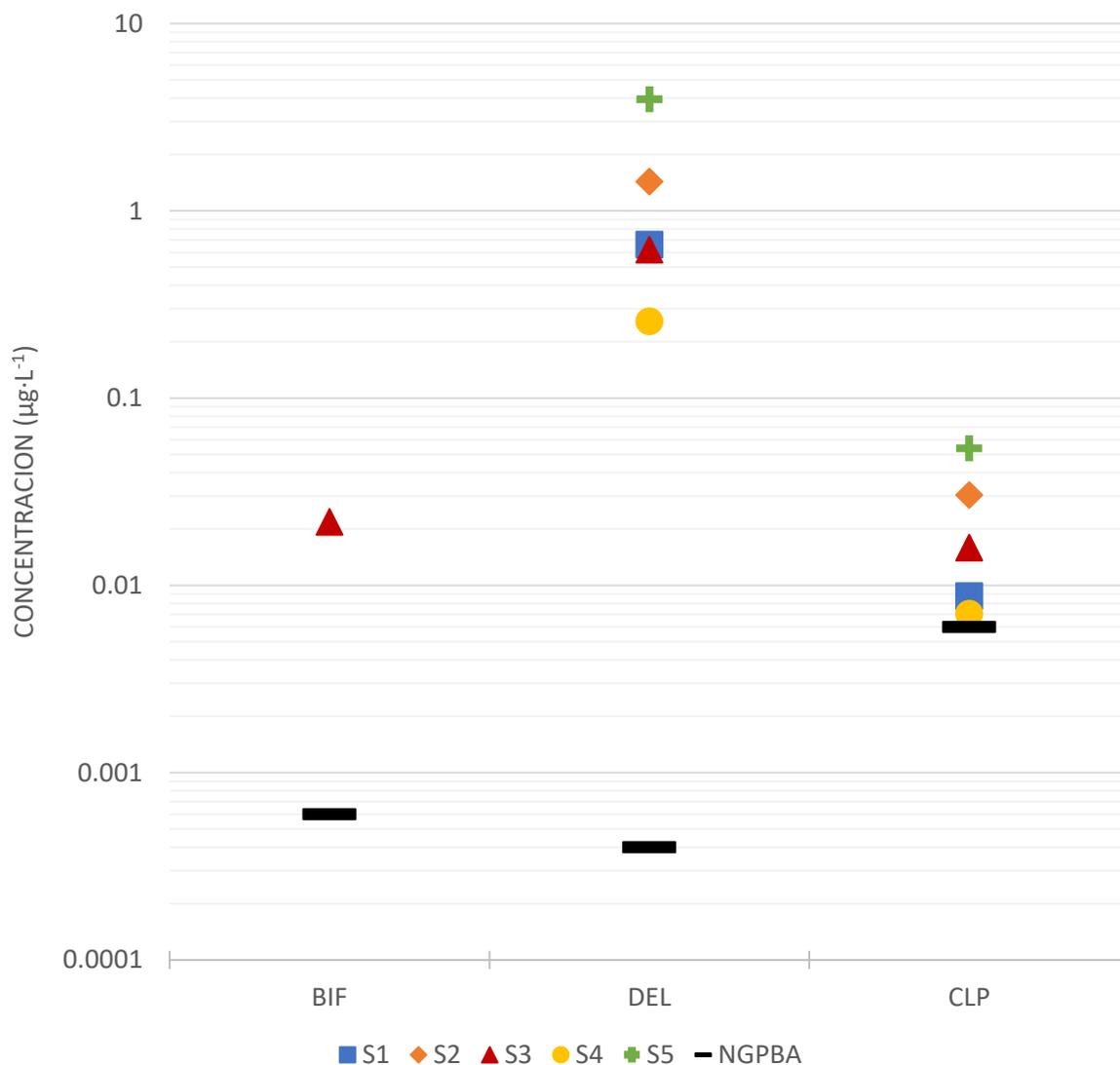


Figura 4.22. Comparación de concentraciones encontradas en agua superficial de la campaña CHP5 con su respectivo nivel guía para la protección de la biota acuática (NGPBA).

Las concentraciones en la ordenada se presentan en escala logarítmica de base 10 para cada uno de los diferentes plaguicidas analizados que se muestran en la abscisa, con los sitios de muestreo indicados por código de símbolo y color: S1 (cuadrado azul), S2 (diamante naranja), S3 (triángulo rojo), S4 (círculo amarillo) y S5 (cruz verde). La línea negra horizontal sólida muestra el NGPBA.

Es entonces, que después de eventos de escorrentía superficiales de campos de cultivo e invernaderos, los plaguicidas alcanzan cursos de agua cercanos e impactan negativamente en la biota local. Las concentraciones medidas en agua de la cuenca del arroyo Carnaval

estuvieron, en 4 de 6 campañas, y para al menos 1 plaguicida – alcanzando hasta 5 en la misma muestra (CHP2, S5) – por encima de sus respectivos NGPBA. En última instancia, estas comparaciones muestran evidencias que el uso de plaguicidas en la producción hortícola conduce a posibles efectos perjudiciales para el medio ambiente.

Estos resultados ameritan una mayor exploración respecto a sus respuestas tóxicas, más al pertenecer a familias de insecticidas, por lo que en apartados sucesivos se realizarán abordajes integrales para estimar respuestas tóxicas por distintos taxones y organismos.

#### 4.1.4 Resultados de Evaluación de Riesgo Ambiental

##### 4.1.4.1 Coeficiente de riesgo

El  $\Sigma$ RQ para cada campaña de muestreo-sitio se presenta en la **Tabla 4.10**. La contribución de cada plaguicida al  $\Sigma$ RQ se representa gráficamente en la **Figura 4.23**. Más de la mitad de los sitios presentaron  $\Sigma$ RQ $\geq$ 1. Más aún, el 30% de las muestras presentó un  $\Sigma$ RQ mayor a 1.000, con dos valores superiores a 10.000 y uno superior a 300.000.

*Tabla 4.10. Riesgo crónico, expresado como la como el RQ del sitio ( $\Sigma$ RQ) para biota acuática en cada campaña de muestreo y sitios del CHP.*

	CHP1	CHP2	CHP3	CHP4	CHP5	CHP6
S1	0,11	35	<0,01	0,15	8.053	11
S2	0,13	3.492	<0,01	0,05	17.464	3,96
S3	0,12	2.288	<0,01	3,73	7.723	0,10
S4	0,14	2.741	<0,01	1,87	3.139	1,24
S5	0,14	331.839	<0,01	0,32	48.098	51

<0,01 = riesgo insignificante (verde); 0,01-0,1 = riesgo bajo (amarillo); 0,1-1 = riesgo medio (naranja);  $\geq$ 1 = riesgo alto (rojo);  $\geq$ 10 riesgo muy alto (bordó).

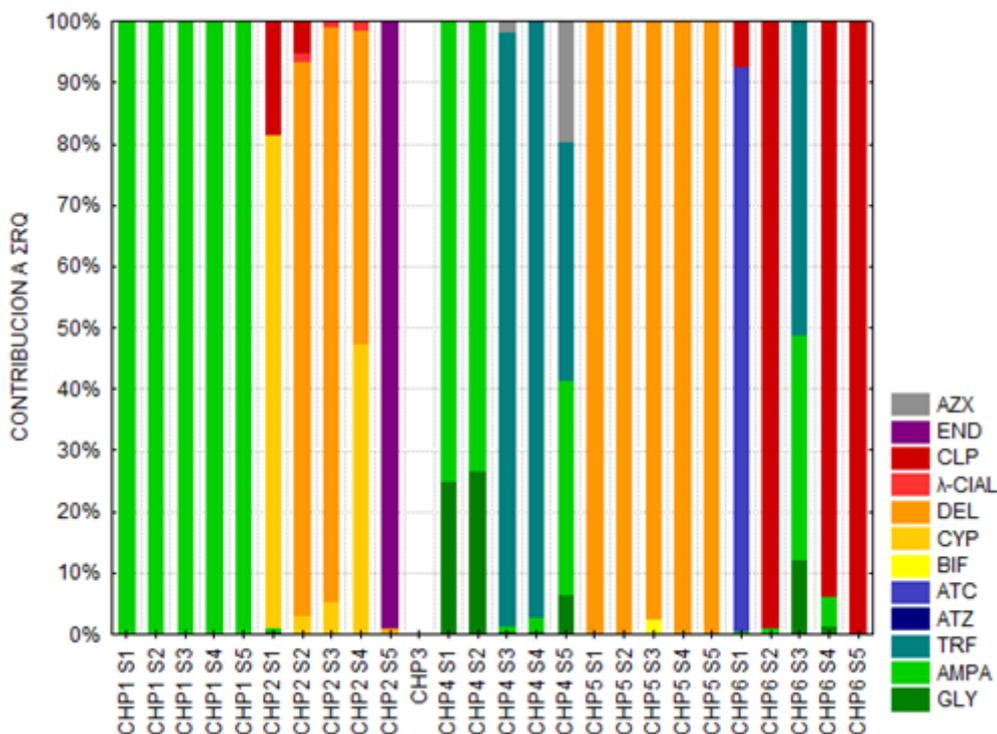


Figura 4.23. Contribución porcentual de cada plaguicida al  $\Sigma RQ$ .

Hasta la fecha se han realizado pocas ERAs en Argentina para plaguicidas. Iturburu et al. (2019) realizaron una revisión de todas las publicaciones donde se reportan concentraciones de plaguicidas en la región pampeana y la consecuente ERA con los datos recolectados, y concluyeron que estos productos persistentes son contribuyentes importantes a los RQ, recalando que este grupo de agroquímicos es a menudo obviado en las evaluaciones de riesgos, a pesar de su persistencia en el ambiente. Si bien en este trabajo se analizaron plaguicidas pertenecientes a este grupo, como los organoclorados, el único que se detectó, y en una sola muestra, fue END. Sin embargo, esta única detección de  $0,33 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (CHP2-S5) fue suficiente para significar el máximo RQ calculado ( $>300.000$ ). Los insecticidas, en particular los piretroides, contribuyeron en gran medida a los altos valores de  $\Sigma RQ$ , con la concentración más baja representando  $RQ=20$  ( $\lambda$ -CIAL, CHP2-S3) y la más alta un  $RQ=48.094$  (DEL, CHP5-S5).

Más recientemente, Pérez et al. (2021) realizaron una investigación en el arroyo Tapalqué (centro de la provincia de Buenos Aires), influenciado por diversos usos del suelo, como rural, minero, industrial y urbano. De los 3 eventos de muestreo, en ningún caso se registró un  $\sum RQ \geq 1$ . Los herbicidas ATZ, GLY y ATC se identificaron como los principales contribuyentes a la toxicidad crónica para los organismos acuáticos. En el presente estudio, los herbicidas no jugaron un papel importante, ya que siempre se detectaron GLY y AMPA, pero aportaron, en promedio, un RQ de 0,06. Cabe destacar que la única detección de ATC ( $0,618 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , CHP6-S1) resultó en más de 10 RQ, y, a pesar de haber detectado también CLP en la misma muestra, contribuyó en más del 90% al  $\sum RQ$ . Otro herbicida que alcanzó concentraciones tales que representaron un  $RQ \geq 1$  fue TRF (CHP4-S3 y CHP4-S4). Comparado con un sistema con múltiples influencias, especialmente la agricultura y ganadería extensiva, la cuenca del arroyo Carnaval y la actividad hortícola circundante, especialmente por el uso de insecticidas, presenta un mayor riesgo para la biota acuática que las actividades agrícolas extensivas, evidenciado por los altos valores de  $\sum RQ$  calculados en esta ERA.

##### 4.1.4.2 Distribución de Sensibilidad de Especies

Los modelos desarrollados se muestran en la **Figura 4.24** para CYP, **Figura 4.25** para DEL, **Figura 4.26** para  $\lambda$ -CIAL, y **Figura 4.27** para CLP.

A partir de las curvas SSD ajustadas para cada insecticida fue posible obtener información respecto de cuáles son las concentraciones que pueden ser consideradas umbrales, y a cuántas especies afectarían las concentraciones medidas en el CHP. Los resultados del análisis de SSD realizado mediante el software E<sub>T</sub>X 2.2 se resumen en la **Tabla 4.11**.

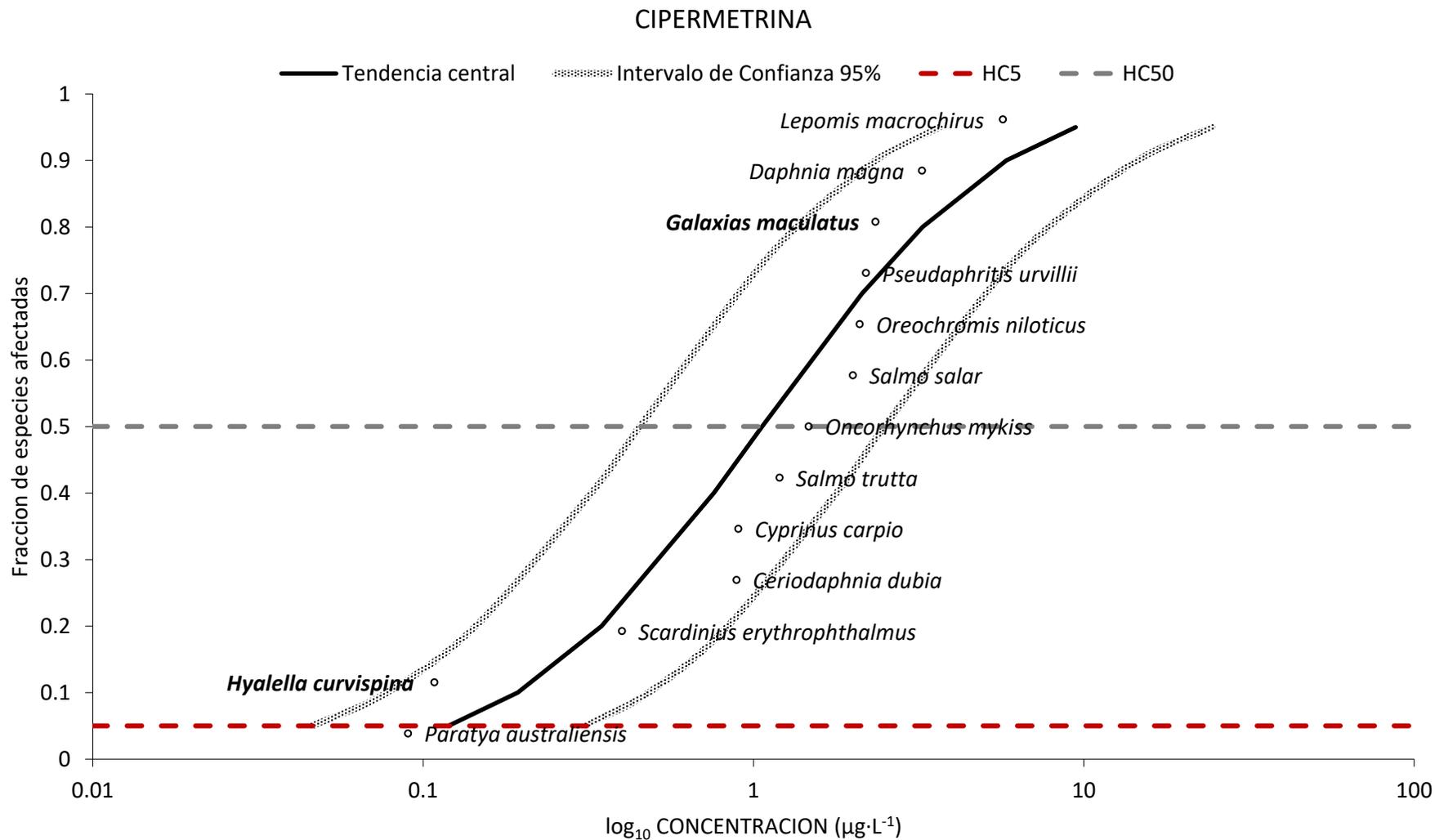


Figura 4.24. Curva de distribución de sensibilidad de especies para cipermetrina (CYP). La curva negra muestra la tendencia central, y las líneas grises el intervalo de confianza de 95%. La línea punteada negra y bordó marcan los niveles de  $HC_{50}$  y  $HC_5$ , respectivamente. Las especies resaltadas en negrita son aquellas que pueden ser encontradas en la cuenca del arroyo Carnaval.

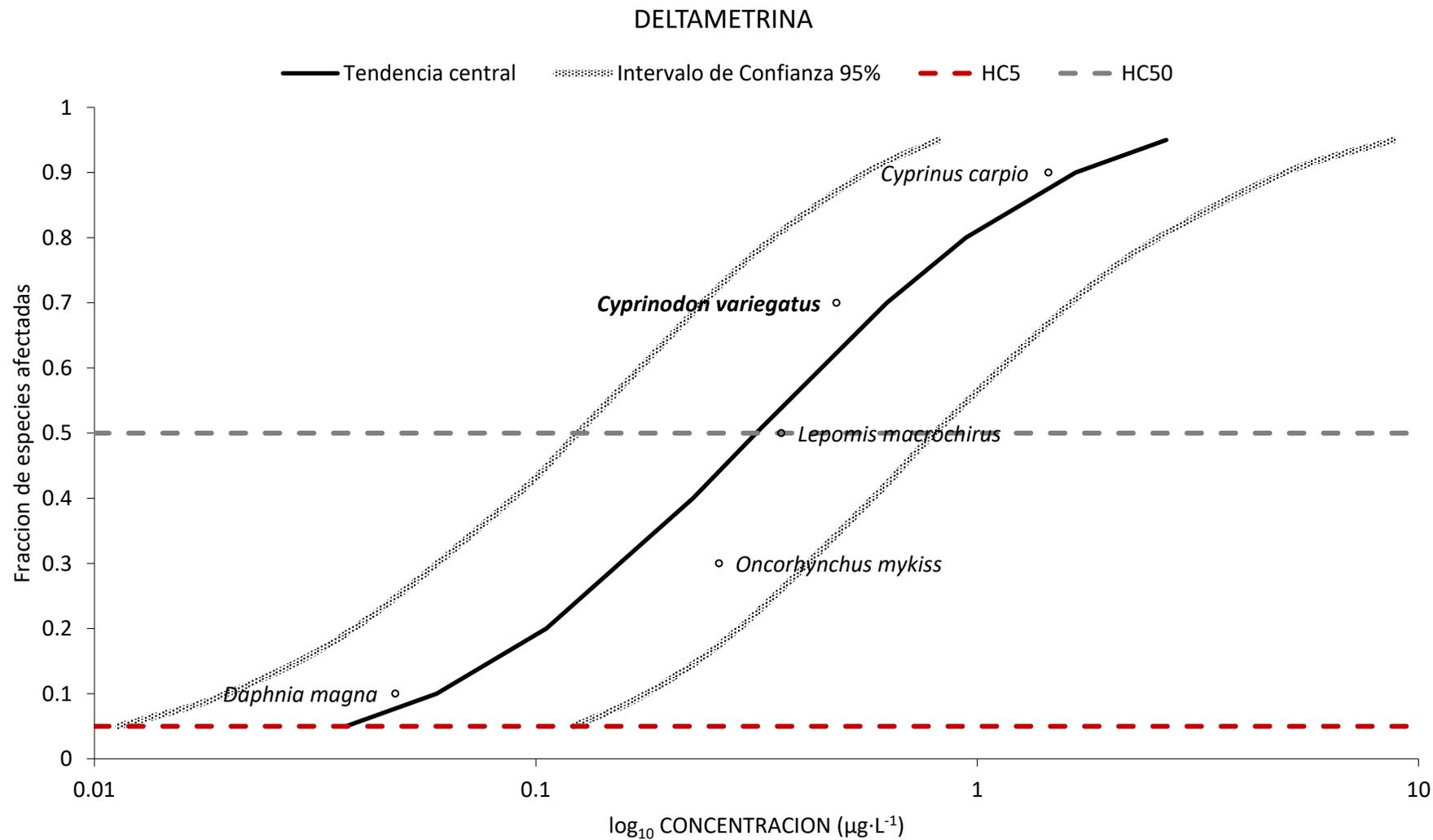


Figura 4.25. Curva de distribución de sensibilidad de especies para deltametrina (DEL). La curva negra muestra la tendencia central, y las líneas grises el intervalo de confianza de 95%. La línea punteada negra y bordó marcan los niveles de HC<sub>50</sub> y HC<sub>5</sub>, respectivamente. Las especies resaltadas en negrita son aquellas que pueden ser encontradas en la cuenca del arroyo Carnaval.

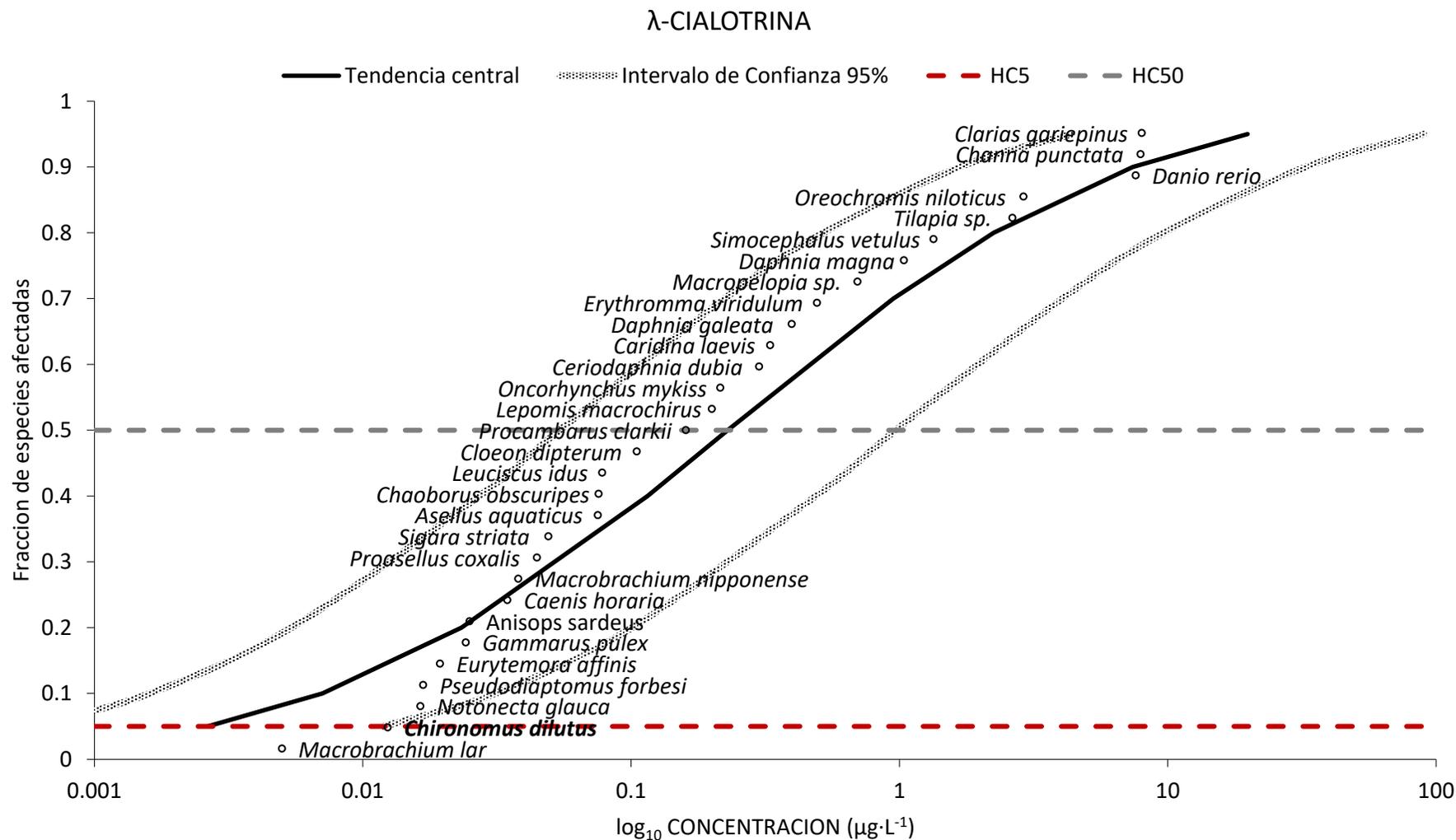


Figura 4.26. Curva de distribución de sensibilidad de especies para  $\lambda$ -cialotrina ( $\lambda$ -CIAL). La curva negra muestra la tendencia central, y las líneas grises el intervalo de confianza de 95%. La línea punteada negra y bordó marcan los niveles de  $HC_{50}$  y  $HC_5$ , respectivamente. Las especies resaltadas en negrita son aquellas que pueden ser encontradas en la cuenca del arroyo Carnaval.

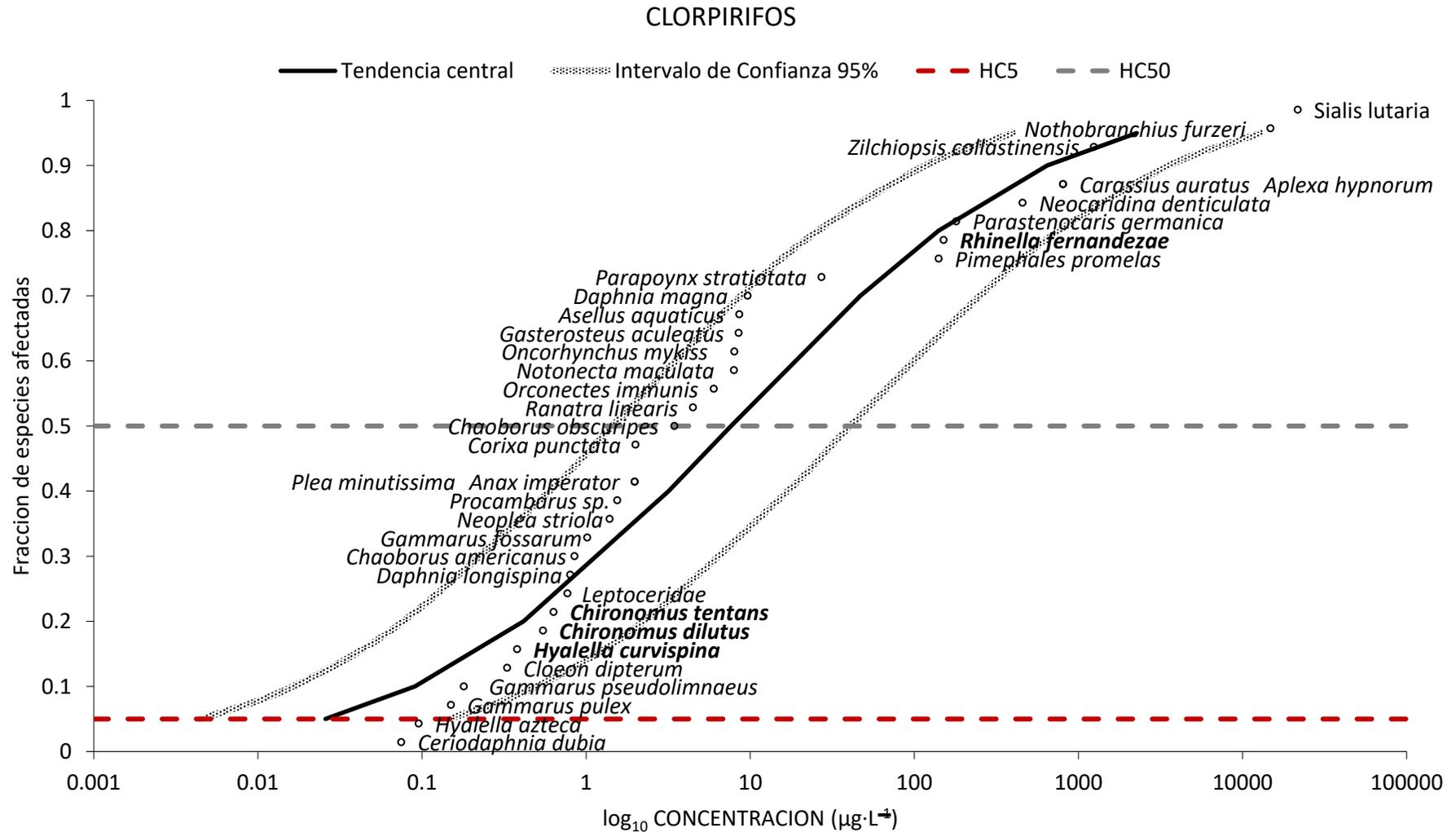


Figura 4.27. Curva de distribución de sensibilidad de especies para clorpirifós (CLP). La curva negra muestra la tendencia central, y las líneas grises el intervalo de confianza de 95%. La línea punteada negra y bordó marcan los niveles de HC<sub>50</sub> y HC<sub>5</sub>, respectivamente. Las especies resaltadas en negrita son aquellas que pueden ser encontradas en la cuenca del arroyo Carnaval

*Tabla 4.11. Resultados de las curvas de sensibilidad de especies y distribución de concentraciones ambientales.*

	CYP	DEL	$\lambda$ -CIAL	CLP
<b>HC<sub>5</sub> (<math>\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}</math>)</b>	0,1	0,01	0,003	0,03
<b>HC<sub>50</sub> (<math>\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}</math>)</b>	0,1	0,2	0,3	8
<b>Fracción afectada (concentración máxima)</b>	84%	97%	11%	37%
<b>Riesgo ecológico esperado</b>	39%	63%	9%	10%

Uno de estos parámetros de suma relevancia que se calcularon fue la HC<sub>5</sub>; esta es la concentración peligrosa en el 5<sup>to</sup> percentil, es decir, el valor por debajo del cual se encuentra 5% de las especies. Las HC<sub>5</sub> calculadas se encontraban todas por encima del respectivo NGPBA (sección 4.1.3), lo que evidencia que estos niveles guía son adecuados respecto de las curvas de SSD modeladas. De la misma forma, se calculó la HC<sub>50</sub>, que corresponde al percentil 50, es decir, el 50% de las especies serían afectadas. Ninguna de las concentraciones de CLP o  $\lambda$ -CIAL se encontraban por arriba de los valores de HC<sub>50</sub>. Sin embargo, el 80% de las concentraciones de CYP y el 44% de las de DEL superaron la HC<sub>50</sub> calculada.

Dada una concentración puntual, es posible utilizar ese dato en conjunto con la SSD para calcular qué fracción de los organismos serían afectados por la misma. Ello se aplicó para la concentración máxima de cada plaguicida, obteniendo los siguientes resultados: CLP 37%; CYP 84%;  $\lambda$ -CIAL 11%, DEL 97%. El máximo para los primeros tres insecticidas provino de la misma campaña (CHP2). Al realizar el mismo análisis para la concentración media de cada plaguicida, todas las fracciones afectadas fueron superiores al 5%, es decir, fueron superiores a HC<sub>5</sub>. Por último, con el conjunto de datos de concentraciones ambientales y las SSD se calculó el riesgo ecológico esperado (*cf.* **Tabla 4.11**), que es literalmente es la probabilidad de que una especie extraída al azar para un sorteo aleatorio de exposición se vea afectada, dada la SSD y la distribución de concentraciones (van Vlaardingen et al., 2004). Este tratamiento de los datos también se lo conoce como curvas de probabilidad conjunta (*Joint Probability*

*Curves*, JCP) (ECOFRAM, 1999). El caso que más preocupación genera es el de DEL, donde la probabilidad de riesgo ecológico es mayor al 50%.

Estos resultados, en especial las HC<sub>5</sub> modeladas, muestran que los plaguicidas, específicamente los insecticidas, que se encontraron en la cuenca del arroyo Carnaval tienen el potencial de afectar negativamente la biota acuática. Al mismo tiempo, los NGPBA de los mismo siempre se encontraron por debajo de las concentraciones peligrosas, lo que denota que verdaderamente se aplicó un criterio destinado a la protección de la biota acuática en su génesis, según los escenarios estudiados. Al mismo tiempo, la capacidad de introducir concentraciones y determinar la fracción de especies afectadas o riesgo ecológico en el modelo de SSD es una herramienta de suma importancia y de fácil uso y comprensión para proyectar y predecir impactos sobre el ecosistema.

# CAPÍTULO 5

## DINÁMICA AMBIENTAL DE PLAGUICIDAS EN LA CUENCA DEL RÍO GUALEGUAY

## 5. Dinámica ambiental de plaguicidas en la cuenca del río Gualeguay

### 5.1 Descripción general de la región

En Argentina, la Región Pampeana comprende las provincias de Buenos Aires, La Pampa, Entre Ríos, Santa Fe y Córdoba. Esta región es una amplia planicie de más de 50 millones de hectáreas con un clima templado y tierras aptas para el cultivo y la crianza de ganado, por lo que constituye el área de mayor importancia productiva del país a causa de las condiciones naturales y el desarrollo del proceso histórico que facilitó el aprovechamiento de esta.

A nivel nacional, Entre Ríos se ubica en la cuarta posición en área sembrada con soja; cuarta en explotaciones vacunas; primera en producción de lino; primera en producción y exportación de carne aviar; primera en área cultivada con naranjas y mandarinas; y segunda en producción de arroz (**Figura 5.1**) (Engler et al., 2008).

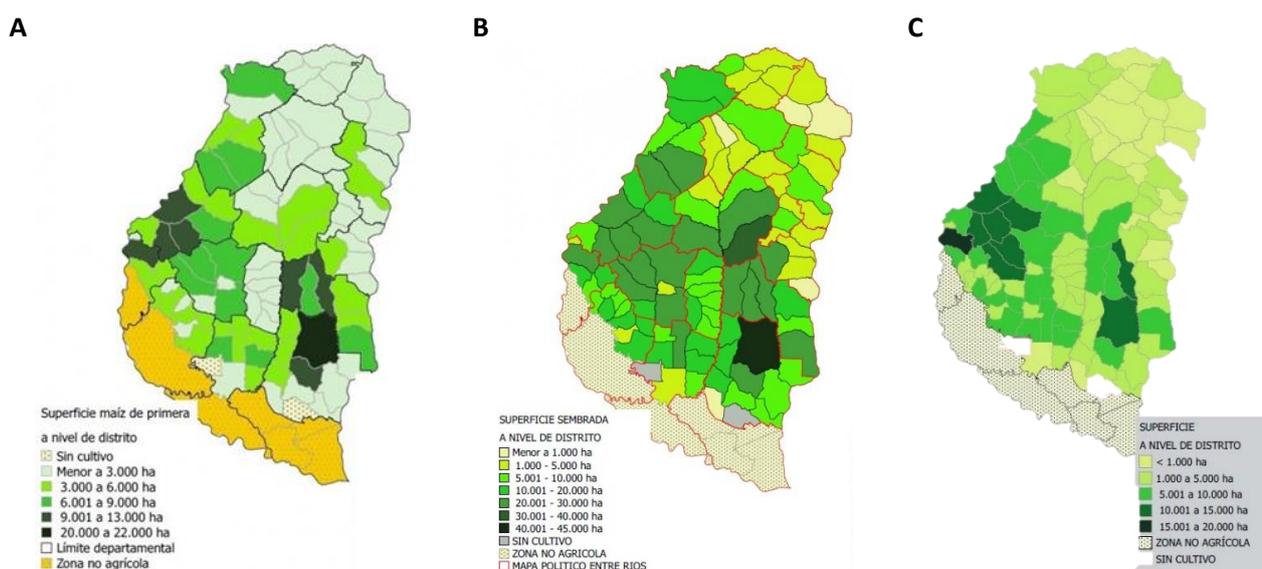


Figura 5.1. Superficie sembrada a nivel de distrito en Entre Ríos.  
(A) Maíz de primera, campaña 2019/20; (B) Soja, campaña 2018/19; (C) Trigo, campaña 2018/19.  
Fuente: Bolsa de Cereales de Entre Ríos.

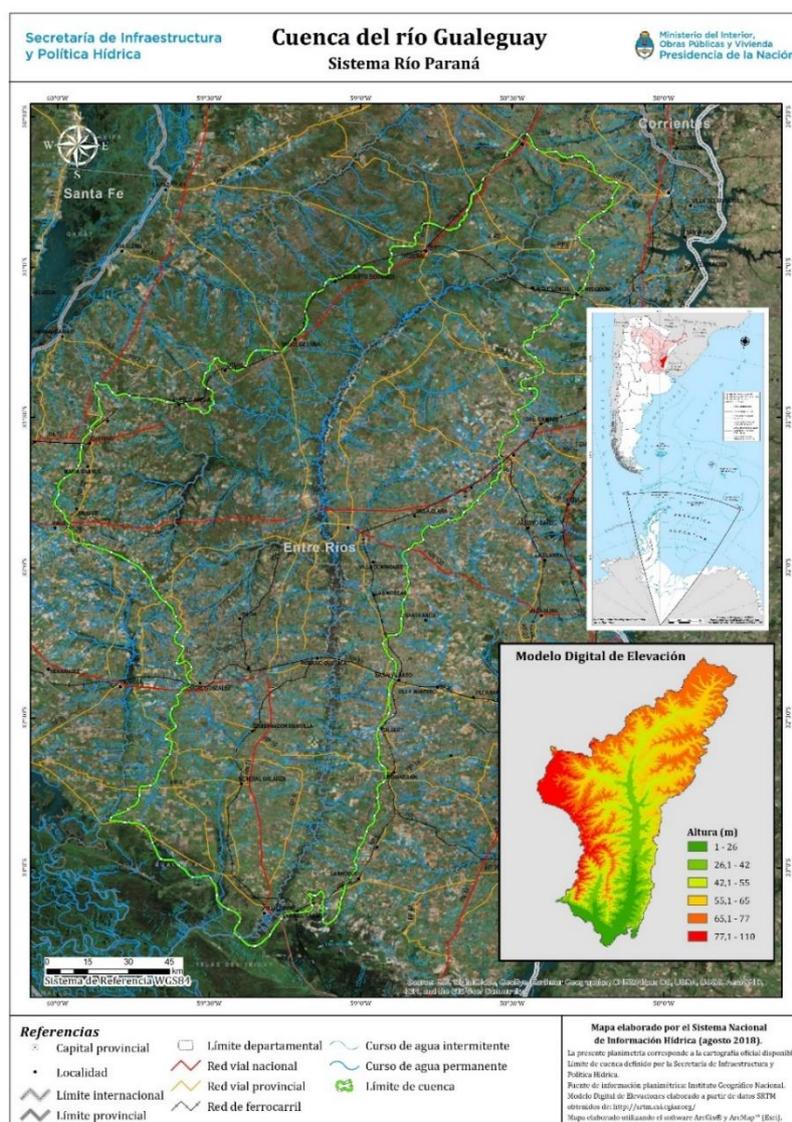
## 5.2 Características del área de estudio

La cuenca del río Gualeguay (**Figura 5.2**) nace al norte de la provincia de Entre Ríos en el departamento de Federación en la confluencia de las cuchillas Grande y de Montiel, en los bañados de altura a 75 m.s.n.m. El río recorre de norte a sur la provincia de Entre Ríos por 486 km hacia su desembocadura en el río Paraná. La temperatura media anual es de 17 °C y varía entre 25 °C en enero y 10 °C en julio. Las lluvias son suficientes y predominan los vientos procedentes del noreste, con aire subtropical cálido y húmedo, y los del sureste, con aire polar marítimo, frío y húmedo. Tiene un caudal medio aproximado de  $210 \text{ m}^3\cdot\text{s}^{-1}$  en la desembocadura; drena un área de 22.350 km<sup>2</sup> y representa el 28% del territorio entrerriano. La principal fuente de agua de los cursos de la cuenca proviene de las precipitaciones. El relieve de la zona favorece un buen escurrimiento debido a que uno de los principales componentes edafológicos son las arcillas; estas aguas de lluvia son recolectadas por uno de los tantos cursos que tiene la cuenca y circula en los cauces de características meandrosas, así la evacuación se hace más lenta y genera desbordes del curso inundando la zona de valle aluvial.

El curso principal puede dividirse en cuatro tramos bien definidos. El tramo superior se encuentra entre las nacientes del río hasta un paraje llamado El Quebracho, localizado en el departamento de Villaguay. En el curso medio, que va desde el paraje El Quebracho hasta la ciudad de Rosario de Tala. El curso inferior va de la ciudad de Rosario de Tala hasta la ciudad de Gualeguay y recibe gran número de afluentes de poco caudal manteniendo la orientación norte-sur. Por último, en el tramo final, que va desde la ciudad de Gualeguay hasta la desembocadura en el río Paraná, el curso se torna meandroso debido al relieve, compuesto por una planicie de muy reducida pendiente y un lecho de suelos de deposición que la propia

## 5. Dinámica ambiental de plaguicidas en la cuenca del río Gualeguay

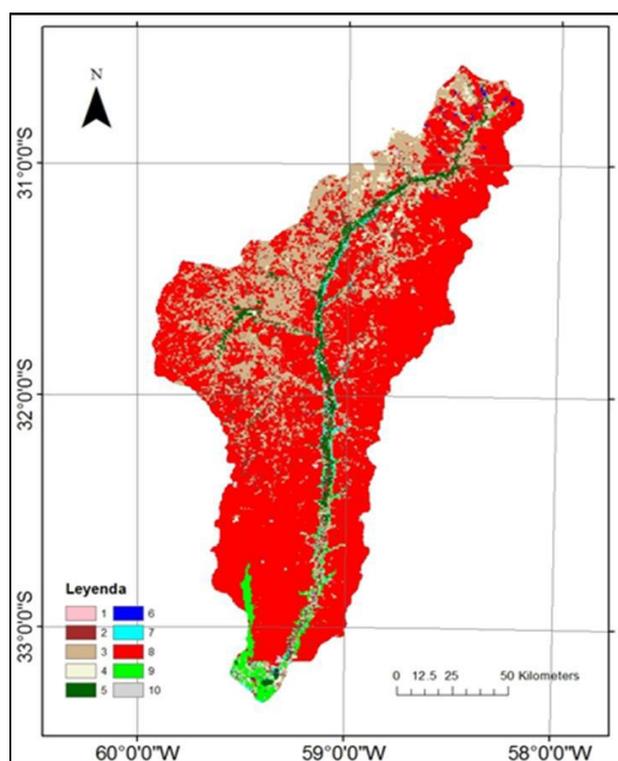
dinámica del río ha generado. Aquí se une el arroyo Clé, que puede ser tomado como una subcuenca. La zona del río Gualeguay se destina a la cría de ganado, ya que las tierras aledañas al río, por sus características, son más difíciles de trabajar. A medida que nos alejamos del curso principal las condiciones del suelo se tornan más propicias para el desarrollo de actividades agrícolas (Martínez, 2004). Los sedimentos sobre el curso principal presentan bajos porcentajes de finos, lo que los clasifica como arenosos; mientras que los sedimentos de los afluentes presentan mayores porcentajes de finos, siendo estos limo-arcillosos.



*Figura 5.2. Cuenca del río Gualeguay.*  
*Fuente: Secretaría de Infraestructura y Políticas Hídricas de la Nación.*

### 5.2.1 Elección de los sitios de muestreo

Como se puede observar en la **Figura 5.3**, la mayor parte de la cuenca se encuentra cultivada. Se escogieron puntos de muestro tanto sobre el curso principal del río Gualeguay, así como en afluentes de este para investigar la movilización de plaguicidas desde los campos donde se realiza agricultura extensiva hacia arroyos como receptores primarios y su transporte hacia el curso principal. Los sitios de muestreo se presentan en una imagen satelital de la zona de estudio en la **Figura 5.4**.



*Figura 5.3. Uso del suelo de la cuenca del río Gualeguay.*

*Referencia de la leyenda: 1 Vegetación natural o semi natural de áreas regularmente inundadas/anegadas o acuáticas; 2 Arbóreo terrestre cerrado; 3 Arbóreo terrestre abierto; 4 Arbóreo terrestre disperso ; 5 Pajonal; 6 Cuerpos de agua; 7 Salar; 8 Áreas terrestres cultivadas y/o manejadas; 9 Pastizal; 10 Superficies artificiales y áreas asociadas.*

*Fuente: Quignard et al. (2013).*

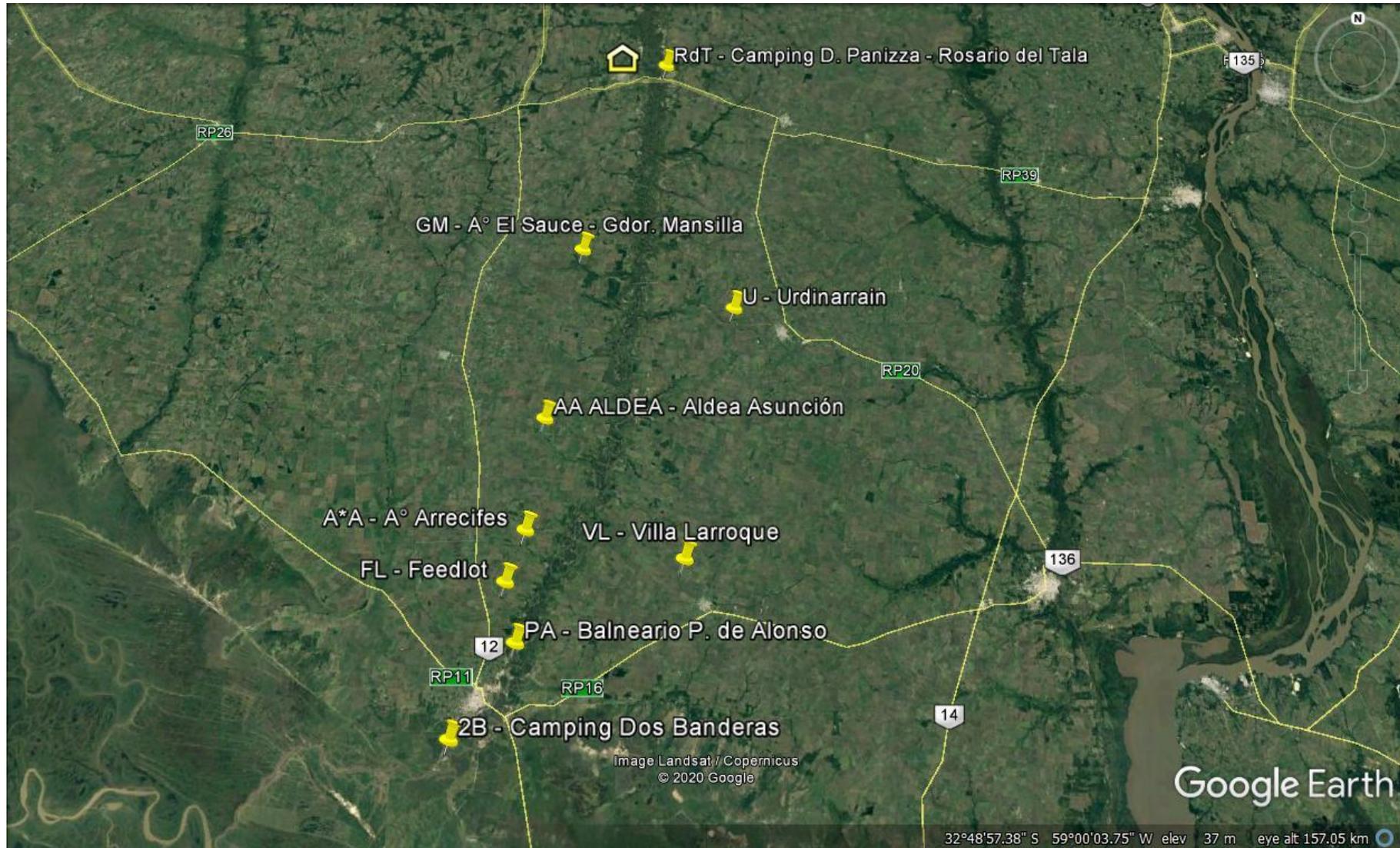


Figura 5.4. Vista satelital de los sitios de muestreo de la cuenca del río Gualeguay.  
Fuente: Google Earth.

En la cuenca del río Gualeguay se seleccionaron 9 sitios de muestreo que se identificaron por su topónimo. Un resumen de los sitios de muestreo, coordenadas geográficas y la abreviación dada a los topónimos se encuentra en la **Tabla 5.1**.

*Tabla 5.1. Sitios de muestreo de la cuenca del río Gualeguay.*

Sitio de muestreo	Nivel del curso	Coordenadas	Abreviatura
<b>Camping D. Panizza - Rosario del Tala</b>	Principal, aguas arriba	32°18'31,27"S 59° 4'35,45"O	RdT
<b>Balneario Paso de Alonso</b>	Principal, antes de la ciudad de Gualeguay	33°5'58,06"S 59°16'12,73"O	PA
<b>Camping Dos Banderas</b>	Principal, después de la ciudad de Gualeguay	33°12'28,01"S 59°21'8,60"O	2B
<b>Arroyo El Sauce - Gdor. Mansilla</b>	Afluente	32°35'33,71"S 59°11'58,94"O	GM
<b>Urdinarraín</b>	Afluente	32°40'30,13"S 58°58'1,17"O	U
<b>Aldea Asunción</b>	Afluente	32°49'29,86"S 59°14'41,44"O	AA
<b>Arroyo Arrecifes</b>	Afluente	32°57'57,00"S 59°15'51,88"O	A°A
<b>Villa Larroque</b>	Afluente	32°59'59,76"S 59°2'14,71"O	VL
<b>Arroyo sin nombre cercano a <i>feedlot</i></b>	Afluente	33° 1'42,08"S 59°17'20,07"O	FL

Además, se contó con muestras cedidas por integrantes del grupo de trabajo, obtenidas de sitios de estudio aguas abajo a los seleccionados en la presente tesis, los cuales se detallan en la **Tabla 5.2**. En la **Figura 5.5** se presentan una imagen satelital de los sitios de muestreo.

*Tabla 5.2. Sitios de muestreo cercanos al Delta del Paraná.*

Sitio de muestreo	Nivel del curso	Coordenadas	Abreviatura
<b>Puerto Ruiz</b>	Principal	33°13'24.03"S 59°21'48.35"O	PtoR
<b>Arroyo Clé</b>	Afluente	33°11'26.72"S 59°31'23.70"O	CLE
<b>Río Gualeguay, luego de confluencia con arroyo Clé</b>	Principal	33°11'51.09"S 59°32'33.24"O	AAC
<b>Desembocadura del río Gualeguay hacia el Delta del Paraná</b>	Principal	33°18'29.01"S 59°38'13.38"O	DG



*Figura 5.5. Sitios de muestreo cercanos al Delta del Paraná.  
Fuente: Google Earth.*

### 5.2.2 Campañas de muestreo

En el marco de la presente tesis se realizaron 4 campañas de muestreo en la cuenca del río Gualeguay, tanto de sus afluentes como del cuerpo principal, de manera sistemática y equivalentes. Complementariamente, se obtuvieron muestras durante dos campañas en 4 puntos de muestreo que se realizaron aguas abajo del último punto seleccionado en el diseño de muestreo de esta tesis, y más cercanos a la desembocadura del río Gualeguay hacia el Delta del Paraná (**Tabla 5.3**) como parte del objetivo del proyecto marco. Por cuestiones de distancia y logística, y para su realización se contó con el apoyo de la Estación Experimental Agropecuaria Paraná del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

Si bien la primera campaña de muestreo se realizó en septiembre del año 2016, y las siguientes campañas durante el 2017, se ordenaron las campañas de modo según las estaciones del año: otoño-invierno-primavera-verano. En la **Figura 5.6** y **Figura 5.7** se muestran fotografías de los sitios de muestreo.



*Figura 5.6. Fotografías de los sitios de muestreo en la cuenca del río Gualeguay, curso principal.  
En sentido horario, empezando por la esquina superior izquierda: RdT, PA, 2B.  
Fotografía sacada por el autor.*



*Figura 5.7. Fotografías de los sitios de muestreo en la cuenca del río Gualeguay, curso principal.  
En sentido horario, empezando por la esquina superior izquierda: VL, GM, A°A.  
Fotografía sacada por el autor.*

*Tabla 5.3. Fechas de las campañas de muestreo en la cuenca del río Gualeguay.*

Fecha	Estación	Código
Abril-2017	Otoño-2017	GUA1
Agosto-2017	Invierno-2017	GUA2
Septiembre-2016	Primavera-2016	GUA3
Diciembre-2017	Verano-2018	GUA4
Septiembre-2017	Invierno-2017	ΔG1
Febrero-2018	Verano-2018	ΔG2

### 5.3 Resultados y discusión

En la **Tabla 5.4** se presentan los resultados de los parámetros fisicoquímicos medidos *in situ*, así como la concentración de MPS en cada sitio, la humedad y porcentaje de carbono orgánico de los sedimentos de las campañas GUA1-GUA4. Las concentraciones de plaguicidas para las campañas GUA1-GUA4 en agua (**Tabla 5.5**), MPS (**Tabla 5.6**) y sedimentos (**Tabla 5.7**) se presentan a continuación. Para las campañas ΔG1 y ΔG2, se analizaron los parámetros fisicoquímicos (**Tabla 5.8**), y solamente GLY y AMPA en todas las matrices (**Tabla 5.9**).

En cada campaña de muestreo se recolectaron muestras de agua, MPS y sedimentos de fondo en los sitios seleccionados. Durante la campaña GUA1 no se midió el OD debido al mal funcionamiento de la sonda. Al mismo tiempo, fuertes precipitaciones durante el muestreo imposibilitaron el acceso a algunos de los sitios de muestreo debido a las condiciones de los caminos de tierra. Según los registros históricos de la Dirección Hidráulica de Entre Ríos, se registraron hasta 84 mm en la zona norte del segmento de la cuenca analizado en el día de este muestreo. En la tercera campaña de muestreo, las malas condiciones del camino no permitieron llegar hasta el sitio del arroyo Arrecifes (A°A). Finalmente, en la última campaña GUA4, el curso de agua cercano a la zona de *feedlots* (FL) se encontraba seco, por lo que no

fue posible obtener muestras de allí. En total, se analizaron 37 muestras de agua, 37 muestras de MPS y 37 muestras de sedimento.

Tabla 5.4. Parámetros fisicoquímicos, masa de MPS y propiedades de los sedimentos del GUA.

Campaña	Sitio	pH	OD (mgO <sub>2</sub> ·L <sup>-1</sup> )	T (°C)	ϰ (μS·cm <sup>-1</sup> )	MPS (mg·L <sup>-1</sup> )	%H	%C <sub>org</sub>
GUA1	RdT	6,43	NA	23,7	101	20,0	17,3	0,1
	PA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	2B	7,31	NA	24,6	150	104,0	30,2	1,7
	GM	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	U	6,72	NA	20,8	140	62,5	36,6	1,8
	AA	6,95	NA	23,1	136	170,5	30,7	1,6
	A°A	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	VL	7,70	NA	24,3	301	88,7	38,1	2,4
	FL	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
GUA2	RdT	6,70	5,7	15,4	120	271,0	13,0	0,2
	PA	6,89	6,6	15,8	126	368,0	20,9	0,6
	2B	7,10	6,3	15,4	130	297,0	33,5	1,6
	GM	7,01	5,3	14,8	248	237,0	36,6	5,2
	U	6,96	5,6	15,3	117	271,0	34,1	2,1
	AA	7,00	6,6	14,3	143	312,0	35,5	1,5
	A°A	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	VL	7,37	4,3	19,0	166	308,0	38,0	1,7
	FL	6,96	4,2	15,9	211	264,0	31,6	1,5
GUA3	RdT	7,51	6,0	13,7	460	125,0	7,8	0,1
	PA	7,65	6,8	14,4	425	90,1	26,3	0,8
	2B	7,43	6,5	16,8	336	173,8	31,9	2,3
	GM	7,61	6,9	13,2	474	27,2	25,9	1,3
	U	8,83	8,4	14	140	114,9	51,6	2,3
	AA	7,67	6,6	13,4	210	72,5	27,6	1,6
	A°A	7,37	5,9	13,8	625	13,4	23,6	1,1
	VL	8,30	7,5	14,6	275	79,3	36,1	4,1
FL	7,61	6,8	13,3	323	168,1	32,4	2,0	
GUA4	RdT	7,89	5,9	27,7	435	920,0	10,4	0,1
	PA	7,76	7,7	25,5	445	429,0	17,9	0,6
	2B	7,65	6,4	21,4	340	913,0	28,7	1,6
	GM	7,53	5,4	28,3	451	75,0	27,5	2,9
	U	6,97	6,0	22,8	141	283,0	29,3	1,8
	AA	7,66	6,0	28,9	1271	68,0	28,1	1,2
	A°A	7,21	7,4	26,8	719	44,0	20,3	0,8
	VL	7,59	7,0	25,2	334	201,0	26,9	2,1
	FL	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

NA: No analizado.

Tabla 5.5. Concentraciones de plaguicidas en agua superficial (agua total), expresada en  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , para las campañas realizadas en el GUA.

Campaña	Sitio	GLY	AMPA	TRF	ATZ	ATC	BIF	CYP	DEL	$\lambda$ -CIAL	CLP	AZX
GUA1	RdT	<LD	<LD	<LD	0,375	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,083	<LD
	PA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	2B	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,071
	GM	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	U	<LD	<LD	<LD	0,086	<LD	0,147	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	AA	<LD	<LD	<LD	0,381	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,153	<LD
	A°A	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	VL	<LD	<LD	<LD	0,102	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	FL	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
GUA2	RdT	1,10	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,011	<LD	0,010	<LD
	PA	1,28	<LD	<LD	0,012	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	2B	<LD	<LD	<LD	0,014	<LD	0,002	<LD	<LD	<LD	DNC	<LD
	GM	3,24	0,32	<LD	0,009	<LD	<LD	<LD	0,027	0,003	DNC	DNC
	U	3,50	0,70	<LD	0,142	<LD	0,007	<LD	0,033	<LD	0,006	<LD
	AA	2,20	<LD	0,3507	<LD	0,003	<LD	0,008	0,044	0,008	DNC	<LD
	A°A	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	VL	1,72	1,59	<LD	0,123	<LD	<LD	<LD	0,019	<LD	DNC	<LD
	FL	3,15	0,95	0,0069	0,254	<LD	<LD	<LD	0,019	<LD	DNC	<LD

<LD: Debajo del límite de detección; DNC: Detectable no cuantificable, NA: No analizado.

cont. Tabla 5.5. Concentraciones de plaguicidas en agua superficial (agua total), expresada en  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , para las campañas realizadas en el GUA.

Campaña	Sitio	GLY	AMPA	TRF	ATZ	ATC	BIF	CYP	DEL	$\lambda$ -CIAL	CLP	AZX
<b>GUA3</b>	<b>RdT</b>	0,25	0,17	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>PA</b>	0,18	0,22	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>2B</b>	0,33	0,18	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>GM</b>	0,21	0,24	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>U</b>	0,63	0,37	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>AA</b>	0,46	0,34	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>A°A</b>	0,17	0,19	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>VL</b>	0,62	0,35	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>FL</b>	0,72	0,87	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
<b>GUA4</b>	<b>RdT</b>	1,97	1,17	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>PA</b>	3,18	1,22	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>2B</b>	2,63	1,21	<LD	0,463	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>GM</b>	2,10	1,30	<LD	0,457	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>U</b>	1,21	1,66	0,0219	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>AA</b>	1,86	1,36	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,252	<LD
	<b>A°A</b>	1,46	3,32	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>VL</b>	2,04	2,08	<LD	2,113	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>FL</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

<LD: Debajo del límite de detección; DNC: Detectable no cuantificable, NA: No analizado.

Tabla 5.6. Concentraciones de plaguicidas en MPS, expresada en  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , para las campañas realizadas en el GUA.

Campaña	Sitio	GLY	AMPA	BIF	CYP	$\lambda$ -CIAL	CLP
GUA1	RdT	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	PA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	2B	<LD	<LD	177	<LD	<LD	<LD
	GM	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	U	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	AA	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	57
	A°A	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	VL	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	17
	FL	NA	NA	NA	NA	NA	NA
GUA2	RdT	1522	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	PA	1187	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	2B	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	GM	2600	439	<LD	<LD	<LD	<LD
	U	2208	532	<LD	<LD	<LD	<LD
	AA	1751	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	A°A	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	VL	3469	810	<LD	<LD	<LD	<LD
	FL	3358	978	<LD	<LD	<LD	<LD
GUA3	RdT	264	69	<LD	<LD	<LD	<LD
	PA	60	199	<LD	<LD	<LD	<LD
	2B	58	64	<LD	<LD	<LD	<LD
	GM	1166	694	<LD	<LD	<LD	<LD
	U	491	261	<LD	<LD	<LD	<LD
	AA	382	278	<LD	<LD	<LD	<LD
	A°A	1273	1155	<LD	<LD	<LD	<LD
	VL	468	220	<LD	<LD	<LD	<LD
	FL	173	620	<LD	<LD	<LD	<LD
GUA4	RdT	378	42	<LD	<LD	<LD	<LD
	PA	698	50	<LD	<LD	1	<LD
	2B	344	48	<LD	<LD	1	<LD
	GM	3639	161	<LD	10	<LD	<LD
	U	2155	685	<LD	7	<LD	<LD
	AA	3650	269	<LD	<LD	<LD	<LD
	A°A	6603	161	<LD	<LD	<LD	<LD
	VL	2098	652	<LD	<LD	3	<LD
	FL	NA	NA	NA	NA	NA	NA

<LD: Debajo del límite de detección, DNC: Detectable no cuantificable, NA: No analizado.

Tabla 5.7. Concentraciones de plaguicidas en sedimentos, expresada en  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ , para las campañas realizadas en el GUA.

Campaña	Sitio	GLY	AMPA	$\lambda$ -CIAL	CLP
GUA1	RdT	23,1	<LD	3,9	3
	PA	NA	NA	NA	NA
	2B	6,8	<LD	<LD	<LD
	GM	NA	NA	NA	NA
	U	35,0	19,4	<LD	<LD
	AA	17,3	31,6	<LD	DNC
	A°A	NA	NA	NA	NA
	VL	52,4	29,3	<LD	7
	FL	NA	NA	NA	NA
GUA2	RdT	55,8	24,5	<LD	<LD
	PA	73,2	14,6	<LD	<LD
	2B	49,0	10,5	<LD	<LD
	GM	137,0	28,0	<LD	<LD
	U	175,2	50,9	<LD	<LD
	AA	94,3	74,4	<LD	<LD
	A°A	NA	NA	NA	NA
	VL	87,8	8,9	<LD	<LD
	FL	46,1	81,2	<LD	<LD
GUA3	RdT	<LD	<LD	<LD	<LD
	PA	32,7	23,1	<LD	<LD
	2B	31,3	22,1	<LD	<LD
	GM	2,6	20,4	<LD	<LD
	U	2,5	19,6	<LD	<LD
	AA	12,2	27,2	<LD	<LD
	A°A	5,0	10,4	<LD	<LD
	VL	25,7	56,6	<LD	<LD
	FL	36,4	37,5	<LD	<LD
GUA4	RdT	1,8	16,2	<LD	<LD
	PA	2,3	13,8	<LD	<LD
	2B	107,1	104,7	<LD	<LD
	GM	4,4	15,1	<LD	<LD
	U	7,3	29,3	<LD	<LD
	AA	6,8	21,9	<LD	<LD
	A°A	10,1	19,8	<LD	<LD
	VL	118,4	81,7	<LD	<LD
	FL	NA	NA	<LD	<LD

<LD: Debajo del límite de detección, DNC: Detectable no cuantificable, NA: No analizado.

Tabla 5.8. Parámetros fisicoquímicos, masa de MPS y propiedades de los sedimentos del  $\Delta G$ .

Campaña	Sitio	pH	OD ( $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ )	T ( $^{\circ}\text{C}$ )	$\bar{U}$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	MPS ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	%H	%C <sub>org</sub>
$\Delta G1$	PtoR	7,27	6,7	19,6	116	16,20	24,5	1,3
	CLE	7,78	7,6	20,6	371	7,70	30,5	2,4
	AAC	7,15	7,0	19,2	123	17,40	28,5	2,3
	DG	7,10	6,8	18,7	159	15,52	30,5	1,8
$\Delta G2$	PtoR	7,89	7,8	NA	841	23,20	31,5	1,6
	CLE	7,57	7,3	NA	513	10,00	39,1	3,0
	AAC	7,35	7,8	NA	751	25,20	36,6	3,0
	DG	7,50	7,5	NA	150	21,72	39,1	2,3

NA: No analizado.

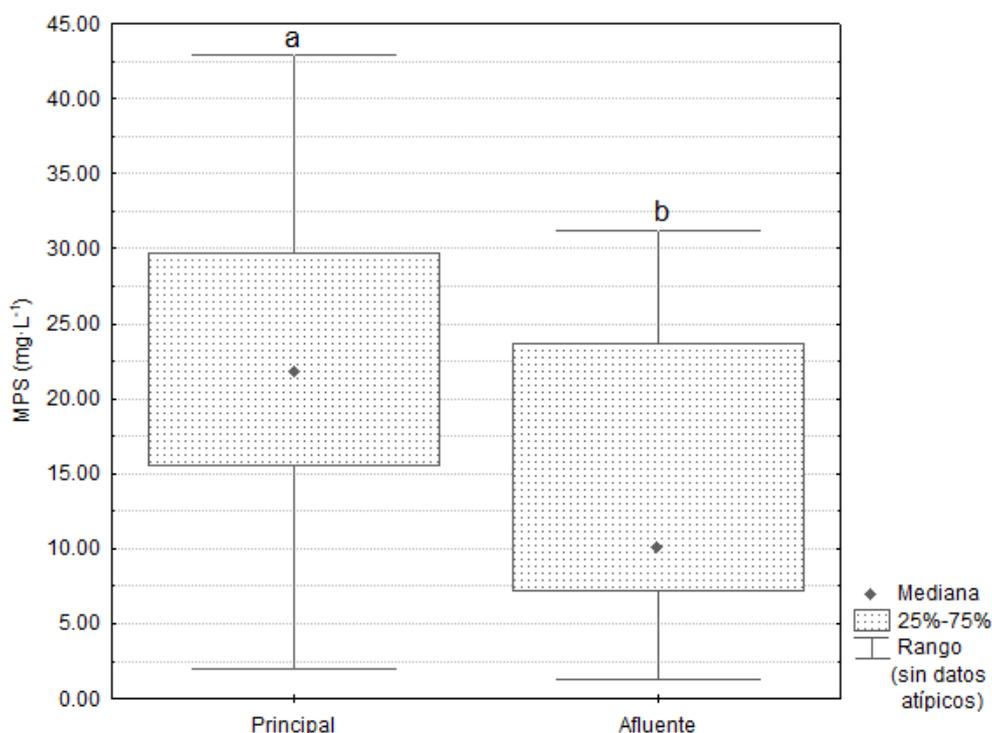
Tabla 5.9. Concentraciones de GLY y AMPA en matrices de las campañas del  $\Delta G$ .

Campaña	Sitio	A ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )		MPS ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )		SED ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ )	
		GLY	AMPA	GLY	AMPA	GLY	AMPA
$\Delta G1$	PtoR	2,15	0,32	3835	5665	63,1	69,1
	CLE	10,90	4,26	41013	50368	55,6	55,9
	AAC	1,68	<LD	2724	<LD	45,7	40,1
	DG	<LD	<LD	<LD	<LD	47,2	47,0
$\Delta G2$	PtoR	5,31	0,49	1759	317	93,8	26,5
	CLE	7,05	9,60	8977	3476	208,6	68,9
	AAC	4,20	0,87	4684	535	64,9	14,6
	DG	0,66	0,19	648	132	71,7	15,1

<LD: Debajo del límite de detección.

En las campañas llevadas a cabo en la cuenca del río Gualeguay, todas las variables fisicoquímicas medidas *in situ* presentaron diferencias significativas, lo que se traduce en un comportamiento estacional de las mismas (pH:  $p=0,0013$ ; OD:  $p=0,0139$ ; T:  $p<0,0001$ ;  $\bar{U}$ :  $p=0,0005$ ), con valores más bajos en las primeras campañas y aumentando hacia la última. De igual manera, la cantidad de material particulado en suspensión (MPS) presentó diferencias en las distintas estaciones climáticas muestreadas ( $p=0,0090$ ), lo que es de esperarse ya que su presencia en el curso de agua se asocia a la erosión hídrica de los suelos, impulsadas por las lluvias. Por otro lado, las propiedades de los sedimentos se mantuvieron estables durante los muestreos (%H:  $p=0,8376$ ; %C<sub>org</sub>:  $p=0,9940$ ).

Al analizar estos datos respecto del nivel del curso (principal o afluente), no se encontraron diferencias respecto de las variables fisicoquímicas (pH:  $p=0,6423$ ; OD:  $p=0,3615$ ; T:  $p=0,5686$ ;  $\text{O}_2$ :  $p=0,6171$ ). Pero sí se encontraron diferencias significativas en el MPS ( $p=0,0286$ ), con mayores cargas sobre los sitios del curso principal (**Figura 5.8**), y en la humedad y el contenido de materia orgánica de los sedimentos ( $p=0,0309$ ;  $p=0,0207$ ), con un comportamiento contrario al MPS, siendo las medianas en los afluentes mayores respecto que en el curso principal.



*Figura 5.8. Carga de material particulado en suspensión (MPS), distinguido por el orden del curso de agua, en las muestras obtenidas de la cuenca del río Gualeguay.*

A partir de las detecciones previamente presentadas, en la **Tabla 5.10** se resumen las frecuencias de detección correspondiente a las campañas de muestreo llevadas a cabo en la cuenca del río Gualeguay y cercanas al Delta del Paraná. Los puntos de muestreo próximos al Delta, con códigos de campaña  $\Delta G1$  y  $\Delta G2$ , se analizarán en conjunto con las campañas de

invierno GUA2 y verano GUA4, respectivamente, ya que fueron realizadas en la misma estación climática, a pocos días de diferencia.

*Tabla 5.10. Frecuencia de detección de plaguicidas en las distintas matrices analizadas en las campañas del muestreo de la cuenca del río Gualeguay.*

		GLY	AMPA	TRF	ATZ	ATC	BIF	CYP	DEL	λ-CIAL	CLP	AZX
AGUA	GUA1				80		20				40	20
	GUA2	83	50	25	75	13	25	13	75	25	88	13
	GUA3	100	100									
	GUA4	100	100	13	38						13	
	PROMEDIO	71	63	9	48	3	11	3	19	6	35	8
MPS	GUA1			12	40	4	9	4	23	8	14	1
	GUA2	83	50									
	GUA3	100	100									
	GUA4	100	100					25		38		
	PROMEDIO	71	63	3	10	1	2	7	6	11	4	
SEDIMENTO	GUA1	100	60							20	40	
	GUA2	100	100									
	GUA3	89	89									
	GUA4	100	100									
	PROMEDIO	97	87							5	10	

*Celdas vacías indican que el plaguicida en esa matriz-campaña no fue detectado.*

### 5.3.1 Glifosato y AMPA en la cuenca del río Gualeguay

#### 5.3.1.1 Frecuencia de detección

Se detectó GLY en el 71% y AMPA en el 63% de las muestras de agua y MPS, coocurriendo en ambas matrices: en la muestra donde se encontró alguno de estos en la fracción soluble, también se encontró el compuesto asociado a la fracción particulada (**Figura 5.9**). Durante la campaña GUA1, no sólo que no todos los sitios fueron muestreados, sino que tampoco estuvieron presentes estos compuestos – sin embargo, otros plaguicidas sí fueron detectados. Las frecuencias de detección del compuesto parental y su metabolito fueron mayores en sedimentos, estando GLY presente en el 97% de las muestras, y AMPA en el 87% (**Figura 5.10**),

y, a diferencia de las muestras de agua y MPS, ambos compuestos fueron detectados durante GUA1.

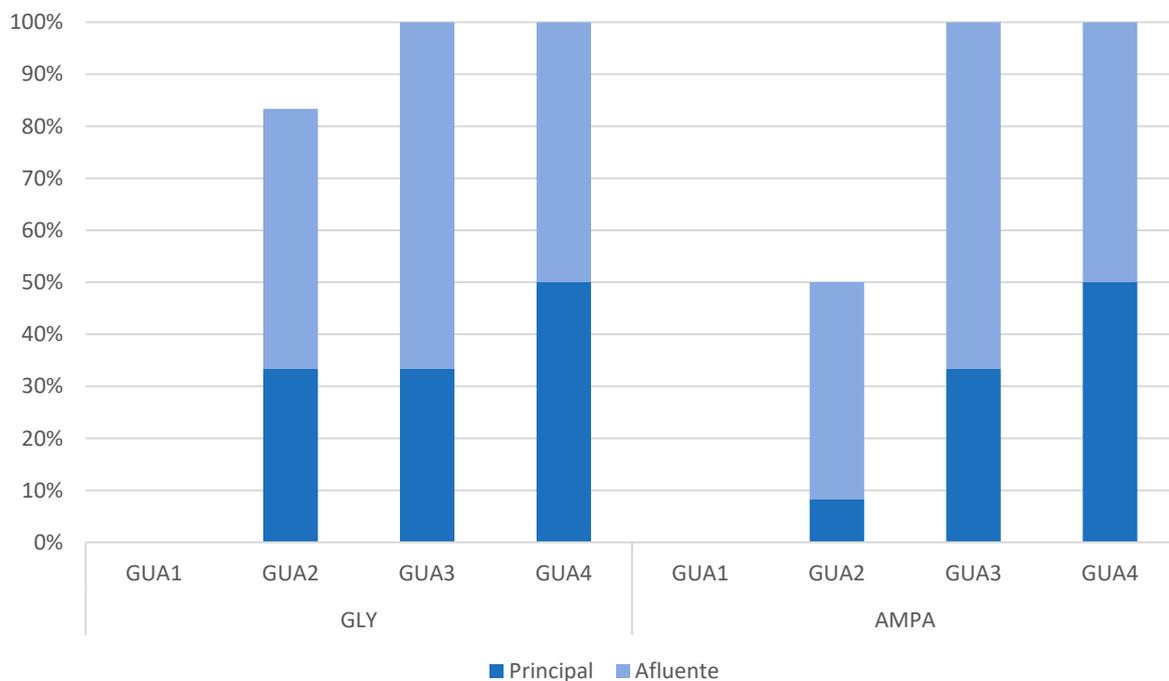


Figura 5.9. Frecuencia de detección de GLY y AMPA en fracción soluble y MPS en las campañas de la cuenca del río Gualeguay, distinguiendo por el orden del curso de agua.

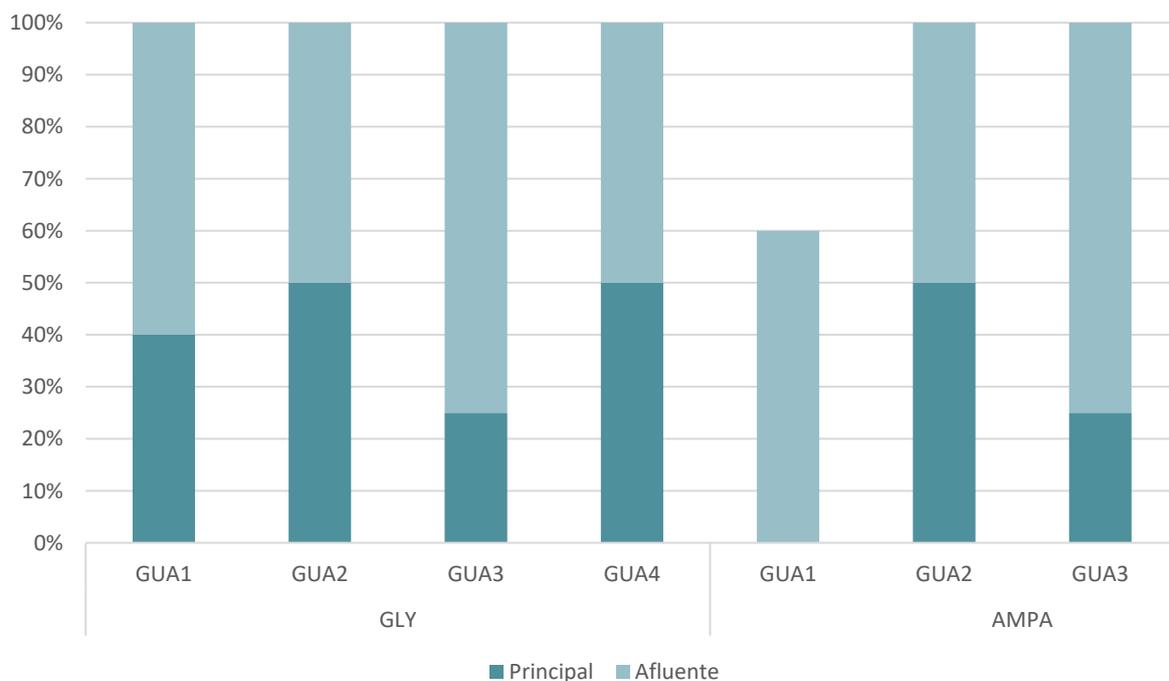


Figura 5.10. Frecuencia de detección de GLY y AMPA en sedimentos de fondo en las campañas de la cuenca del río Gualeguay, distinguiendo por el orden del curso de agua.

En el presente trabajo, los puntos de muestreo se distinguieron entre afluentes del río Gualeguay y sitios sobre el curso principal. Si bien se observó una mayor frecuencia de detección de estos compuestos en los sitios afluentes, evaluando el conjunto de muestras no se encontraron diferencias significativas respecto de las frecuencias de detección sobre el curso principal ( $p>0,05$ ).

En Estados Unidos, de 1.508 muestras de arroyos de condiciones similares a este estudio, el 52,5% de ellas contenían GLY, y 71,6% tenían AMPA; mientras que ríos caudalosos presentaron frecuencias similares de GLY (53,1%), pero mayores de AMPA (89,3%) (Battaglin et al., 2014). Un estudio más reciente llevó a cabo una investigación de 70 cuerpos de agua, recopilando 3.204 datos de concentración de GLY y AMPA desde 2015 al 2017, pero sólo de la fracción soluble, detectándolos en el 74% y 90% de las muestras, respectivamente (Medalie et al., 2020). De igual forma, en la parte superior de la cuenca del arroyo El Crespo, no se analizó la fracción particulada, con GLY presente en el 28% y AMPA en el 50% de las muestras de agua (Okada et al., 2018).

En los trabajos previamente mencionados, hubo diferencias respecto de la frecuencia de detección de ambos compuestos en las matrices agua y MPS, encontrándose una mayor ocurrencia de GLY y AMPA asociados a este último. En el presente trabajo, ambos compuestos fueron cuantificados en los dos compartimentos ambientales que se analizaron de una misma muestra: cuando había GLY/AMPA en el agua, también había en el MPS, y viceversa. Sin embargo, en 4 muestras de agua/MPS donde se detectó GLY sin AMPA, pero en ninguna muestra AMPA fue detectado sin la presencia de GLY.

En sedimentos, GLY se detectó en el 97% de las muestras, y AMPA en el 87%. Para muestras de sedimentos de la misma provincia, Primost et al. (2017) encontraron GLY y AMPA en el 83% y 100% de los casos. En otras provincias, la frecuencia de detección de estos compuestos fue menor: en Buenos Aires, Aparicio et al. (2013) detectaron GLY en el 67% de los sedimentos, y AMPA en el 89%; mientras que Okada et al. (2018) los encontraron en el 95% y 100%, respectivamente; en Córdoba, se cuantificó GLY y AMPA en el 61% de los sedimentos (Bonansea et al., 2017). En el estudio que se llevó a cabo a lo largo de la cuenca del río Paraná, las frecuencias de detección de estos compuestos fueron aún menores, detectándose el herbicida y su metabolito en el 22% de las muestras de la campaña del 2012, coocurriendo estos compuestos en las mismas muestras (Ronco et al., 2016). Para sedimentos de Estados Unidos, Battaglin et al. (2014) encontraron GLY y AMPA en el 91% y 93% de los datos de concentraciones en sedimentos recopilados, respectivamente. En los trabajos citados, y en el presente, las frecuencias de detección >80% se dieron en cuerpos de agua chicos, como arroyos de primer orden afluentes – en congruencia con los resultados obtenidos en el presente manuscrito. En cuerpos de agua más grandes, ríos más caudalosos, como los afluentes del río Paraná, o el río Suquía en Córdoba, las frecuencias de detección fueron menores; sin embargo, los sedimentos del curso principal del río Gualeguay aquí analizados presentaron detecciones positivas tanto de GLY como AMPA en casi la totalidad de las muestras analizadas. Esta diferencia en las frecuencias de detección muestra el impacto de la actividad en la región, donde la cantidad de estos compuestos que alcanzan el curso principal, por el aporte de los afluentes como por escorrentía superficial, es suficiente para que sean detectados.

### 5.3.1.2 Concentraciones GLY y AMPA en la columna de agua

#### 5.3.1.2.1 Comparación entre sitios de muestreo: curso principal *versus* afluentes

La primera comparación que se llevó a cabo respecto de las concentraciones del herbicida GLY y su metabolito ambiental AMPA tuvo como objetivo observar si se presentaban diferencias entre las concentraciones halladas en los afluentes del río Gualeguay y las cuantificadas sobre el curso principal (**Figura 5.11**).

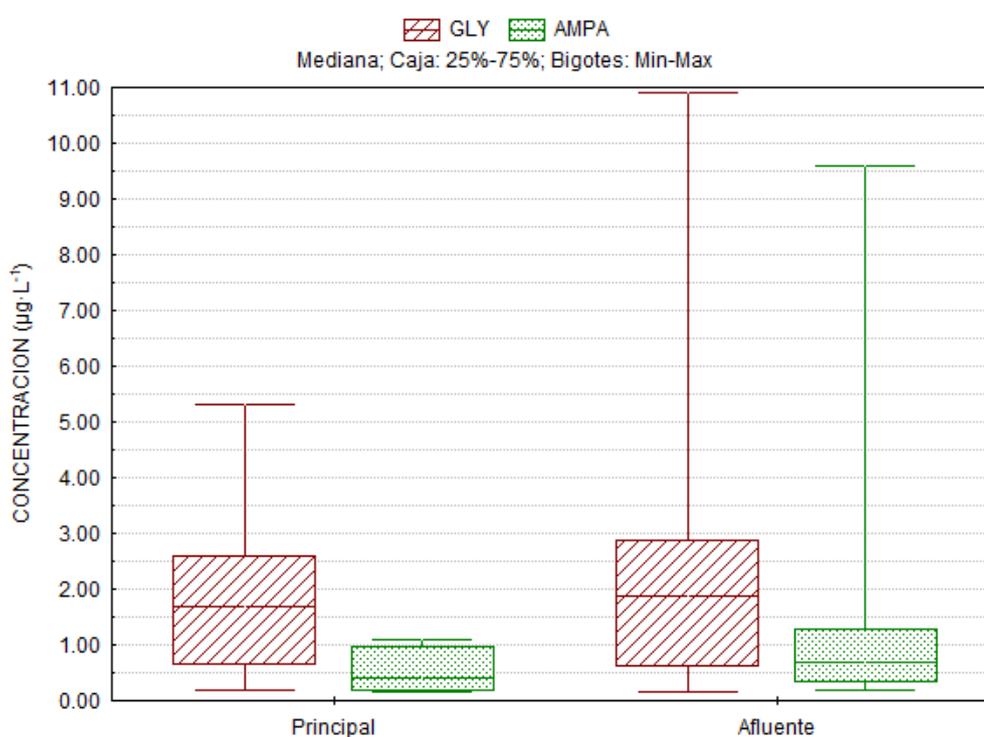


Figura 5.11. Comparación GLY y AMPA (total = soluble + MPS) en el curso principal y afluentes de muestras de la cuenca del río Gualeguay.

Para ello, se tomaron como variables la concentración de GLY y AMPA, en la fracción soluble y en la particulada, ambas expresadas en  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (GLY:  $p\approx 0,65$ , AMPA:  $p\approx 0,23$ ). A pesar de esto, las concentraciones máximas de ambos compuestos siempre se detectaron en los sitios de afluentes. Esta homogeneidad de distribución de concentraciones pone en evidencia la alta

movilidad del herbicida y su metabolito, independientemente de las superficies de ingreso (por escorrentía) y los caudales propios de cada cuerpo de agua. Un punto a considerar es una evaluación desde la masa movilizada de estos compuestos, ya que el río Gualeguay tienen un caudal promedio de  $165,4 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$  a la altura de Rosario del Tala y ancho a la zona de muestreo de más de 100 m (Martínez, 2004) y aún en esas condiciones estos compuestos resultan cuantificables .

### 5.3.1.3 Concentraciones en fracción soluble y particulada

Durante las 4 campañas de muestreo llevadas a cabo en la cuenca del río Gualeguay, las concentraciones medianas (mínimo-máximo) de GLY y AMPA, respectivamente, fueron de  $1,72 (0,17-10,90) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  y  $0,87 (0,17-9,60) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  en la fracción soluble (**Figura 5.12**), de  $1.751 (58-41.013) \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  y  $317 (42-50.368) \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  en el MPS, refiriendo la concentración a la masa de particulado, o  $0,35 (0,005-3,16) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  y  $0,03 (0,007-1,59) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , respecto de la carga en la columna de agua (**Figura 5.13**).

En el relevamiento más reciente de Estados Unidos, las concentraciones medianas en la fracción soluble fueron de  $0,34 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  y  $0,37 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  para GLY y AMPA, alcanzando máximos de  $8,1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  y  $5,6 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente (Medalie et al., 2020). En el relevamiento anterior, las concentraciones medias en arroyos y ríos de GLY fue de  $0,03 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  y  $0,21 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  para AMPA (Battaglin et al., 2014), mientras que la concentración media de AMPA sobre los sitios de la cuenca del río Gualeguay se registró en el mismo orden de magnitud, por lo que se deduce que la concentración de GLY aumentó 10 veces. La mediana de GLY en esta tesis se encontró en un orden de magnitud por arriba de la mediana del último informe de Estados Unidos

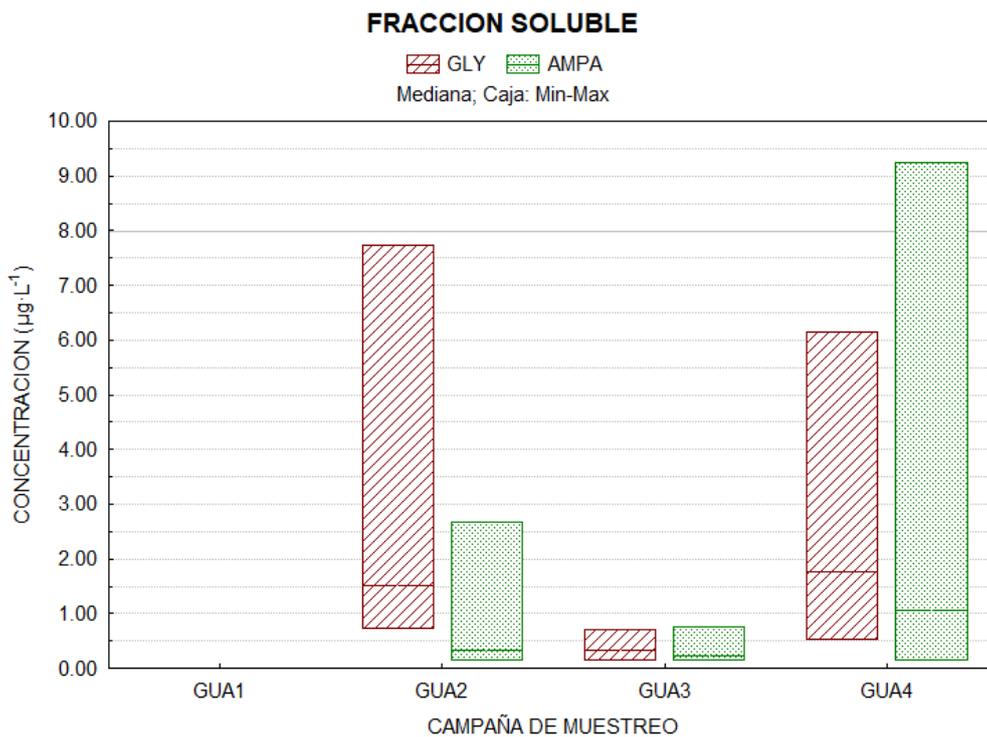


Figura 5.12. Concentración de GLY y AMPA en la fracción soluble. En el gráfico, la línea horizontal indica la mediana y los bordes de la caja los valores máximos y mínimos.

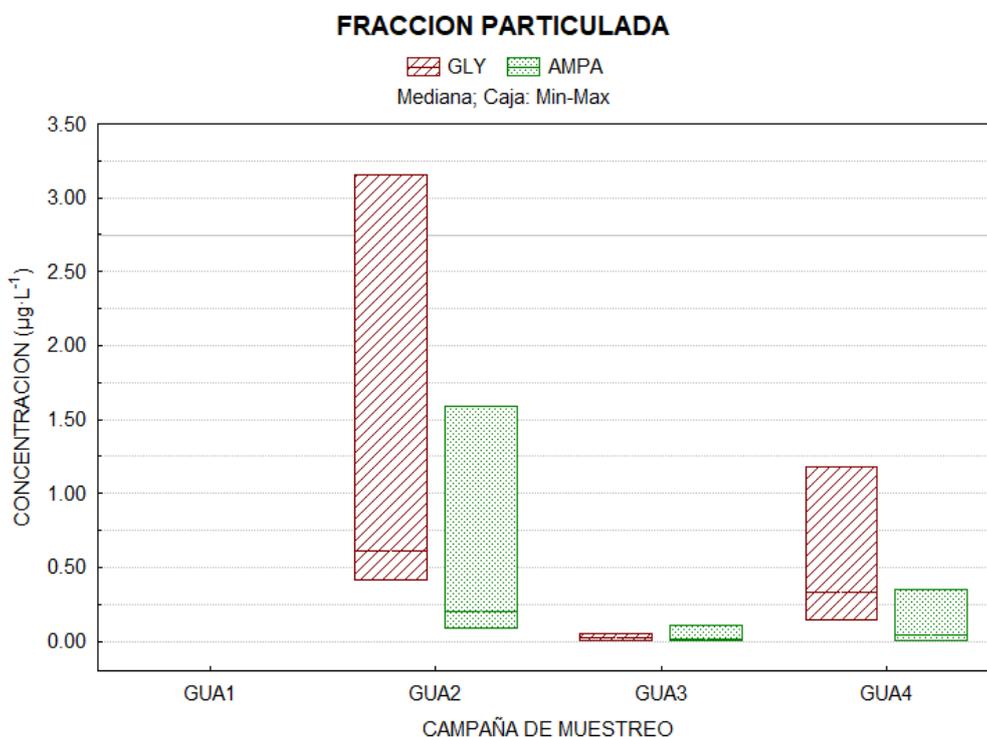


Figura 5.13. Concentración de GLY y AMPA en la fracción particulada por aporte a la columna de agua. En el gráfico, la línea horizontal indica la mediana y los bordes de la caja los valores máximos y mínimos.

(Medalie et al., 2020), siendo casi 5 veces dicho valor. Al mismo tiempo, las concentraciones medianas de AMPA fueron equivalentes a los reportes internacionales. Los valores máximos se encuentran en el mismo orden, siendo el de GLY menor para la zona estudiada, mientras que el de AMPA fue mayor.

Respecto de las concentraciones reportadas para la región de Entre Ríos, Primost et al. (2017) encontraron concentraciones máximas de  $1,38 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $1,01 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para GLY y AMPA, respectivamente; así las máximas del presente trabajo objeto de tesis, se encuentran por encima de esos valores. Más aún, las concentraciones máximas de las muestras de Urdinarrain (sitio U, cf. **Tabla 5.1**) fueron mayores:  $\text{GLY}=2,28 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $\text{AMPA}=1,47 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , lo que podría indicar una tendencia en aumento del uso de este herbicida producto de la aparición de malezas resistentes, ya que los cuerpos de agua estudiado eran equivalentes (AAPRESID, 2016). Sobre las concentraciones en provincia de Buenos Aires, Aparicio et al. (2013) reportaron una concentración máxima de  $\text{GLY}=7,6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , mientras que Okada et al. (2018) informaron un máximo de  $8,2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; en acuerdo con lo cuantificado durante el monitoreo ambiental de tesis ( $7,74 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , GUA2-CLE). Sin embargo, para AMPA, el máximo aquí reportado ( $9,25 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , GUA4-CLE) fue 4 y 2,5 veces mayor que los máximos de las anteriores publicaciones, respectivamente.

En el curso principal del río Gualeguay, la concentración mediana de GLY fue de  $1,36 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , con un máximo de  $4,90 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (GUA4-PtoR). Al contrastar estos resultados con los tributarios del Paraná, la concentración de la mediana fue similar al máximo allí reportado:  $1,20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (Ronco et al., 2016). Estos resultados ponen en relevancia el alcance del modelo de producción dependiente del herbicida, tal como lo propuesto por Etchegoyen et al. (2017) la

aparición de estos plaguicidas en cuerpos de aguas, de la región agro productiva, se relaciona con su uso para los cultivos extensivos.

Las concentraciones de GLY y AMPA cuantificadas en el MPS de la cuenca del río Gualeguay superaron a las concentraciones previamente reportadas, con una mediana de GLY entre 3-4,4 veces la de los máximos medidos por Primost et al. (2017) y Aparicio et al. (2013), respectivamente, mientras que la de AMPA fue, en promedio, 1,5 veces el máximo de las reportadas en dichos trabajos. Ronco et al. (2016) expresaron los resultados de concentración en el MPS respecto al aporte en la columna de agua, en  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , encontrando máximos de  $\text{GLY}=0,21 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $\text{AMPA}=0,04 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , de esta perspectiva los resultados fueron equivalentes en los estudios actuales respecto a los publicados. De la bibliografía de referencia, las concentraciones máximas fueron reportadas por Bonansea et al. (2017), con  $\text{GLY}=1.570,7 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  y  $\text{AMPA}=684,9 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , la primera similar a la mediana del presente trabajo ( $1.751 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Sin embargo, al comparar máximos, la carga de GLY y AMPA sobre las partículas en suspensión fueron para los sitios GUA entre 26 y 73 veces esos máximos.

Se encontró una correlación estadísticamente significativa ( $r^2=0,4345$ ;  $p=0,0002$ ) entre el herbicida y su metabolito al explorar, mediante regresión lineal simple, la relación entre las concentraciones totales de GLY y AMPA (soluble + MPS) en cada muestra.

### 5.3.1.3.1 Relaciones de concentración de glifosato a AMPA

La relación de concentraciones GLY:AMPA proporciona información sobre la fuente, el destino y el transporte del glifosato en el ambiente. Una forma de abordar estas relaciones es bajo el formato de proporciones entre los compuestos, donde las proporciones más

grandes indicando un transporte más rápido de la fuente al curso de agua, y valores más chicos sugieren mayores tiempos de residencia o distancia entre la entrada y la ocurrencia medida (Battaglin et al., 2014; Medalie et al., 2020). La mayoría de las relaciones GLY:AMPA fueron  $>1$  (Figura 5.14), es decir, las concentraciones de GLY fueron más altas que las de AMPA. En los restantes casos, donde  $GLY:AMPA < 1$  (puntos naranja), el valor de la relación promedio fue de 0,8.

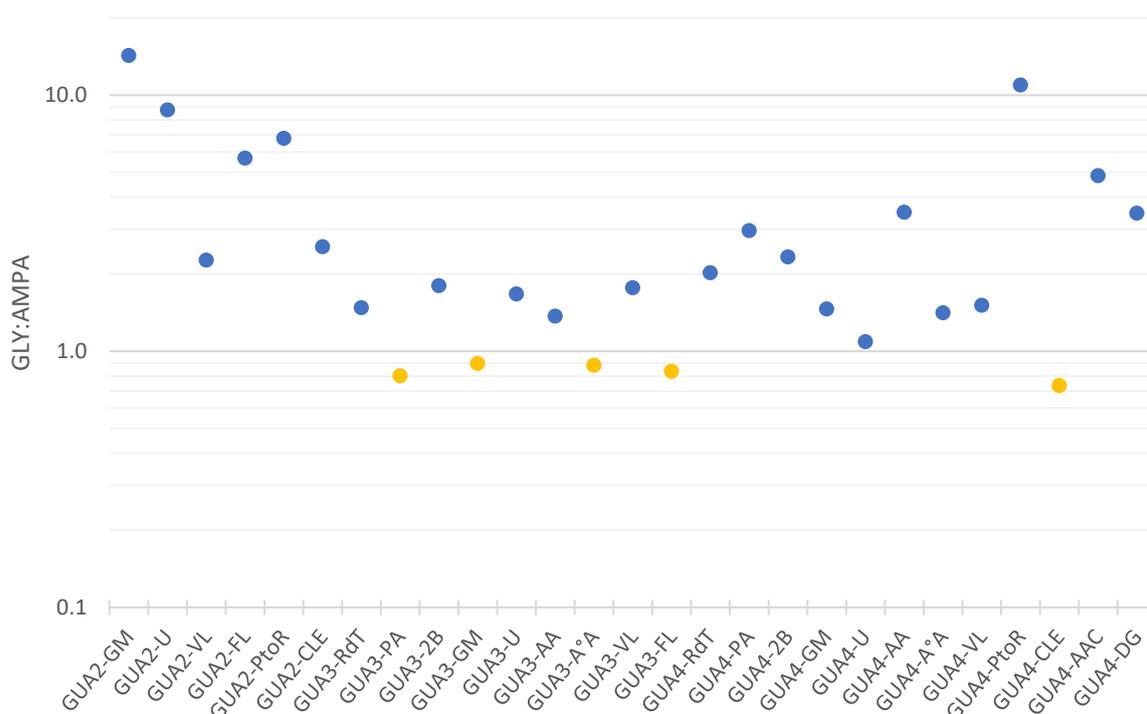


Figura 5.14. Relación de concentración GLY:AMPA en agua superficial para cada muestra en el número de campaña y sitio de muestreo.

No se encontraron diferencias significativas de las relaciones calculadas entre muestras del curso principal y afluentes ( $p=0,1388$ ). Estos resultados sugieren tiempos de transporte y distancias de movilización cortas desde la zona de aplicación hacia los cuerpos de agua analizados. Al mismo tiempo, es razonable suponer que el AMPA encontrado en estas muestras tiene su origen en los campos donde GLY fue aplicado. Con una vida media en suelo 8 veces mayor al GLY (Bonansea et al., 2017; Medalie et al., 2020), los suelos se convierten en

reservorios de AMPA, que mediante procesos de escorrentía alcanzaron los cuerpos de agua que forman parte de la cuenca del río Gualeguay, y que se suman al metabolito generado por biotransformación en los cuerpos de aguas. Una caracterización más profunda o detallada de los aportes respectivos podría realizarse a futuro mediante muestreo conjunto de suelos linderos a los cuerpos de aguas, en forma simultánea a los ríos y arroyos a fin de ponderar estos procesos en el aporte global de las cuantificadas.

#### 5.3.1.4 Comparación entre campañas en la columna de agua

Dado que no se vieron diferencias significativas entre los sitios de muestreo clasificados como “afluentes” o “principal”, se analizó el conjunto total de los datos para una caracterización temporal de concentraciones de GLY y AMPA, en la fracción soluble y particulada (con los datos expresados en  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Respecto de las campañas de muestreo llevadas a cabo en distintas estaciones, se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de GLY y AMPA, tanto en la fracción soluble (GLY:  $p=0,0002$ ; AMPA:  $p=0,0089$ ) como particulada (GLY:  $p<0,0001$ ; AMPA:  $p=0,0038$ ). Al considerar la concentración total de estos compuestos (expresada como la suma de concentración en la fracción soluble y particulada, expresada en  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), así como la carga total de estos dos compuestos en la columna de agua, también se detectaron diferencias significativas ( $p=0,0001$ ;  $p=0,0064$ ;  $p=0,0003$ ; respectivamente).

En GUA1, no se detectó ninguno de estos compuestos en la fracción soluble o particulada. Entre las otras 3 campañas, fue GUA3 la que presentó diferencias significativas respecto de GUA2 y GUA 4 (**Figura 5.15**).

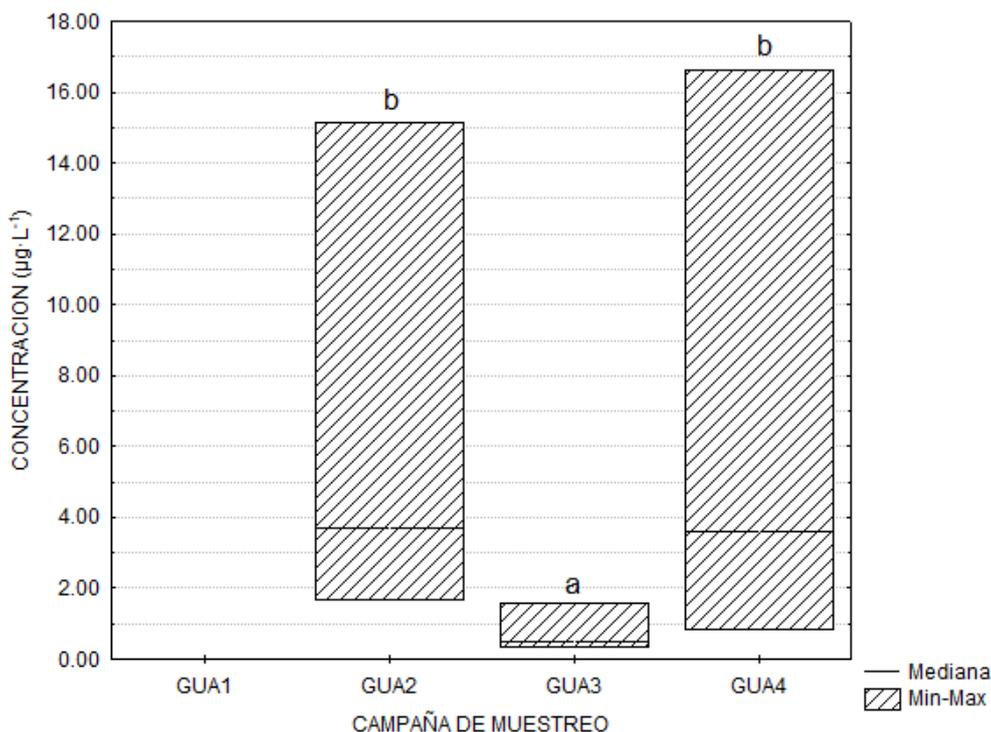


Figura 5.15. Concentraciones de GLY+AMPA de las fracciones solubles + MPS (expresadas en  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) cuantificadas para cada campaña de muestreo en la cuenca del río Gualeguay. Las letras indican diferencias significativas entre campañas de muestreo ( $p=0,0003$ ).

### 5.3.1.1 Contribución porcentual de fracción soluble y particulada y $K_d$ -MPS/soluble

De manera equivalente a lo presentado en el **Capítulo 4**, se evaluó el aporte porcentual de lo soluble y particulado a la concentración total en la columna de agua, como se muestran en la **Figura 5.16** para GLY y en la **Figura 5.17** para AMPA, en cada una de las muestras. La contribución de la fracción soluble fue, para GLY y AMPA, mucho mayor que la fracción particulada: en promedio, la fracción soluble representó el 82% de la contribución de GLY y el 87% del AMPA, con máximos de 97% y 99%, respectivamente.

5. Dinámica ambiental de plaguicidas en la cuenca del río Gualeguay

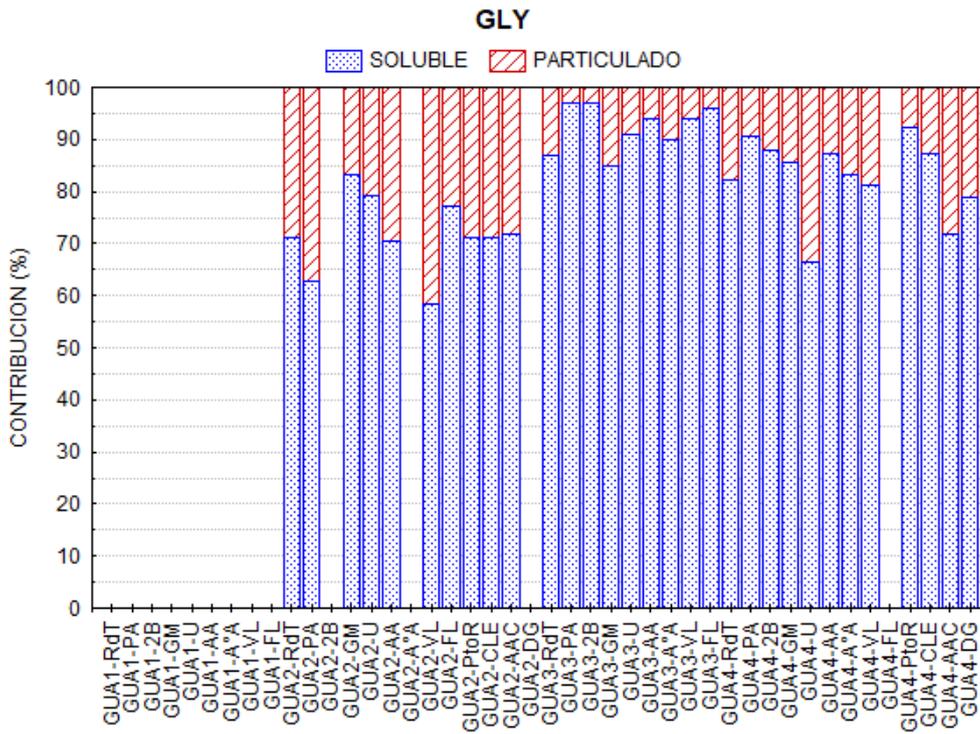


Figura 5.16. Contribución porcentual de las fracciones solubles (barra azul) y particulada (barra roja) a la concentración de GLY en cada muestra de la cuenca del río Gualeguay.

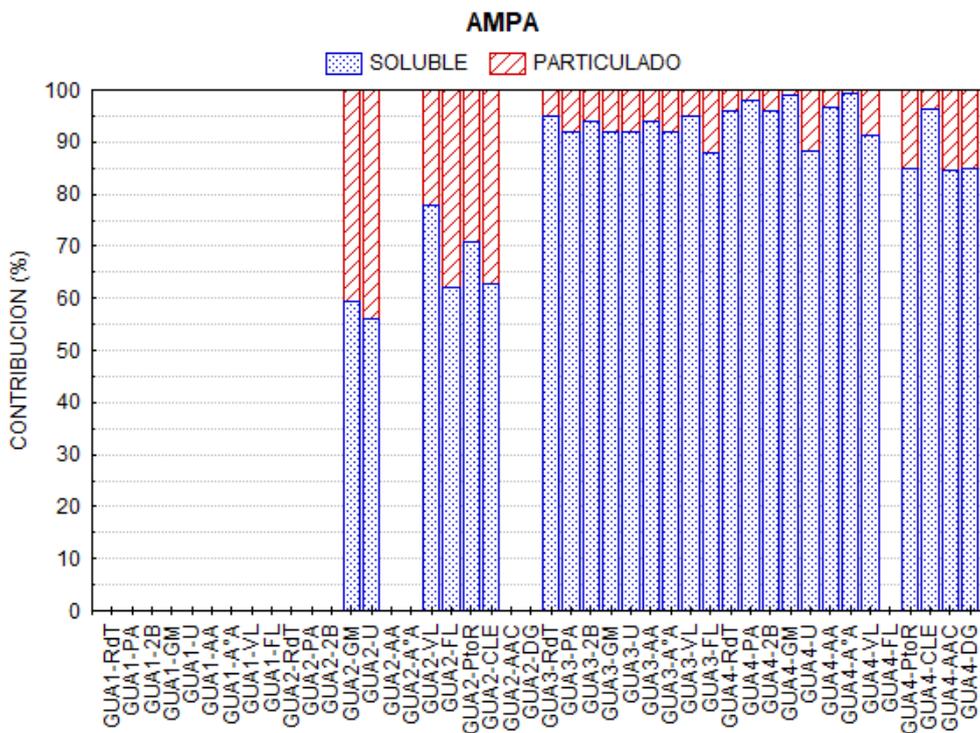
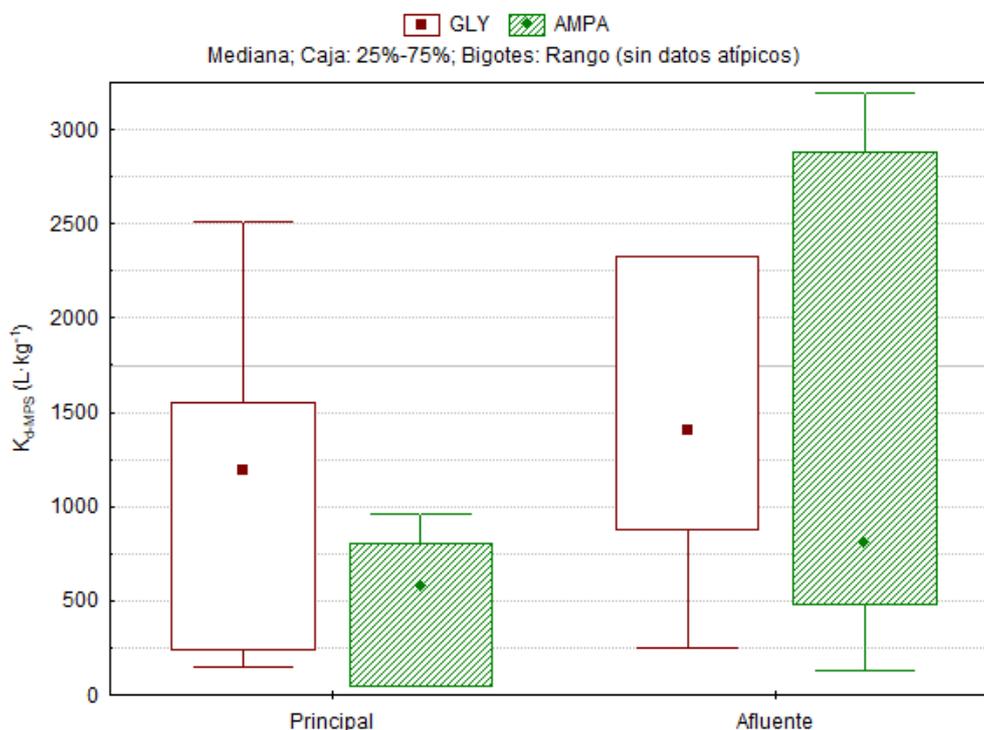


Figura 5.17. Contribución porcentual de las fracciones solubles (barra azul) y particulada (barra roja) a la concentración de AMPA en cada muestra de la cuenca del río Gualeguay.

El coeficiente de partición ( $K_d$ , **Ecuación 1.2**) fue calculado muestra a muestra, para ambos compuestos. Teniendo en cuenta que: (a) se encontraron diferencias significativas respecto de la concentración de material particulado en suspensión entre los sitios afluentes y sobre el curso principal (cf. **Figura 5.8**), y (b) que para el cálculo de la  $K_d$  la concentración de GLY/AMPA en el MPS se expresa sobre de la masa de particulado (concentración expresada en  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ); se exploraron si las  $K_{d\text{-MPS/soluble}}$  calculadas presentaban diferencias respecto de si la muestra provenía del curso principal y o de un afluente. El resultado de dicho análisis mostró la falta de diferencias significativas (GLY:  $p=0,0927$ ; AMPA:  $p=0,1454$ ). En la **Figura 5.18** se grafican las  $K_{d\text{-MPS/soluble}}$  obtenidas para GLY y AMPA, diferenciando en el nivel del curso de agua.



*Figura 5.18.  $K_{d\text{-MPS/soluble}}$  para muestras de agua superficial de la cuenca del río Gualeguay, distinguiendo entre valores del cuerpo principal y afluentes.*

Los valores medianos (mínimo-máximo) de  $K_{d\text{-MPS/soluble}}$  (expresados en  $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) fueron 1.240 (151-8.292) y 757 (45-25.206) para GLY y AMPA, respectivamente. A pesar de que no se

encontraron diferencias significativas, las medianas de las  $K_{d-MPS/soluble}$  para ambos compuestos fueron mayores en los afluentes, donde hay mayor materia orgánica circulante respecto al principal y ello puede incidir en los procesos de reparto (Alonso et al., 2019). Se realizó un análisis en detalle de las relaciones entre las concentraciones, las constantes  $K_{d-MPS/soluble}$  resultantes y los parámetros fisicoquímicos medidos (OD, T,  $\bar{U}$ , pH y concentración MPS; cf. **Tabla 5.4** y **Tabla 5.8**) mediante la matriz de correlación de Spearman, pero no se encontraron relaciones significativas que puedan explicar el comportamiento de las  $K_{d-MPS/soluble}$ . Es de interés conducir estudios a fin de caracterizar los minerales del material sedimentable, a fin de explorar en detalle la respuesta fisicoquímica de partición en función de los parámetros generales de composición de agua.

La variabilidad en las  $K_{d-MPS/soluble}$  puede deberse a múltiples factores. Uno de ellos puede ser la heterogeneidad de las partículas, tanto en composición como en tamaño, lo que genera distintas superficies y posibles sitios de interacción entre estos contaminantes y los sólidos en suspensión (Amiot et al., 2014). Aunque con menor dispersión de datos, ensayos realizados en suelos muestran valores de  $K_d$  para GLY en el rango de 5,3 a 900  $L \cdot kg^{-1}$  y 15 a 1.554  $L \cdot kg^{-1}$  para AMPA (EFSA, 2015).

Lamentablemente, el análisis del material particulado, tanto en muestras ambientales como en experiencias de reparto de plaguicidas entre compartimentos no es muy frecuente y la información es escasa. Sin embargo, se reconoce la afinidad del GLY por matrices sólidas, como suelos o sedimentos, impulsada principalmente por la capacidad de intercambio catiónico, contenido de arcilla y carbono orgánico (Dollinger et al., 2015). Mediante procesos de escorrentía, las partículas del suelo se mueven desde los campos de producción hacia las aguas superficiales, y luego hacia los sedimentos (Aparicio et al., 2013). Es lógico que al pensar

en la génesis del MPS y su evolución hacia los sedimentos de fondo, las mismas consideraciones sean válidas.

A pesar de la alta solubilidad en agua de GLY y AMPA (cf. **Tabla 3.1**), los resultados mostraron una alta afinidad de estos compuestos por el MPS, con concentraciones sobre el particulado de hasta 3 órdenes de magnitud por sobre las encontradas en agua tal como ha sido presentado en esta tesis en acuerdo con distintas publicaciones internacionales del tema que han sido citadas.

La mayoría de los análisis químicos para estos analitos se realizan sobre el agua total o únicamente la fracción soluble, muchas veces sin especificar en la publicación los detalles respecto a la matriz estudiada (Battaglin et al., 2014; Medalie et al., 2020). Estudiar las concentraciones de estos compuestos en matrices sólidas, como el MPS y los sedimentos, resultan de gran interés, ya que describen de manera amplia e integral el transporte y destino final de estos contaminantes (Primost et al., 2017; Ronco et al., 2016).

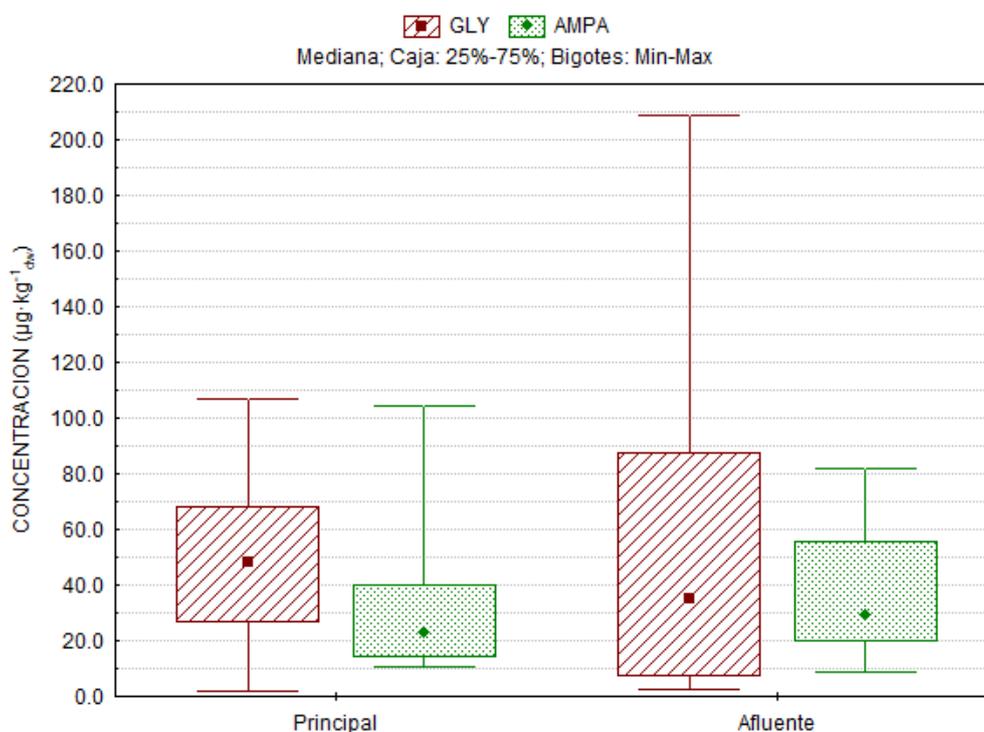
En los trabajos citados, las frecuencias de detección en el agua fueron menores que las frecuencias en el MPS. Ronco et al. (2016) postuló que la mayor sensibilidad del método de extracción permitió la detección y cuantificación de estos analitos en un mayor número de muestras de MPS. Es entonces que, tomando la investigación citada, si comparamos los métodos de análisis de agua y MPS, el primero no tiene ningún paso de concentración, mientras que el segundo posee un factor de concentración de  $\times 30$  – siempre dependiendo del volumen de agua filtrada, en este caso, 100 mL. Esto permitió que se puedan cuantificar concentraciones mínimas de GLY y AMPA de  $0,005 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $60 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), y  $0,007 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (161

$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), concentraciones casi 6 veces por debajo del límite de detección de estos compuestos en agua (cf. **Tabla 3.10**).

También es necesario hacer notar que las concentraciones previamente mencionadas no son las concentraciones mínimas cuantificadas sobre el MPS cuando la concentración se expresa en  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  – ya que en la conversión de  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  a  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  se debe considerarla concentración de material particulado en el volumen de agua ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

### 5.3.1.1 Concentraciones GLY y AMPA en sedimentos de fondo

De igual manera que para las fracciones solubles y particuladas, se llevó a cabo una primera evaluación contrastando las concentraciones de GLY y AMPA en los sedimentos de los afluentes del río Gualeguay y las cuantificadas sobre el curso principal (**Figura 5.19**);



*Figura 5.19. Concentraciones de GLY y AMPA en sedimentos de fondo de la cuenca de río Gualeguay, diferenciadas por nivel del curso: principal o afluente.*

mas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (GLY:  $p=0,7130$ ; AMPA:  $p=0,2386$ ).

Ambos compuestos fueron detectados en todas las campañas de muestreo realizadas en la cuenca del río Gualeguay. Fue posible observar una variación estacional en la concentración de GLY ( $p=0,0105$ , **Figura 5.20**), pero no en las concentraciones de AMPA ( $p=0,7195$ , **Figura 5.21**). Para GLY, la campaña de invierno GUA2 presentó diferencias respecto de las otras, presentando una mayor concentración mediana sobre las demás campañas.

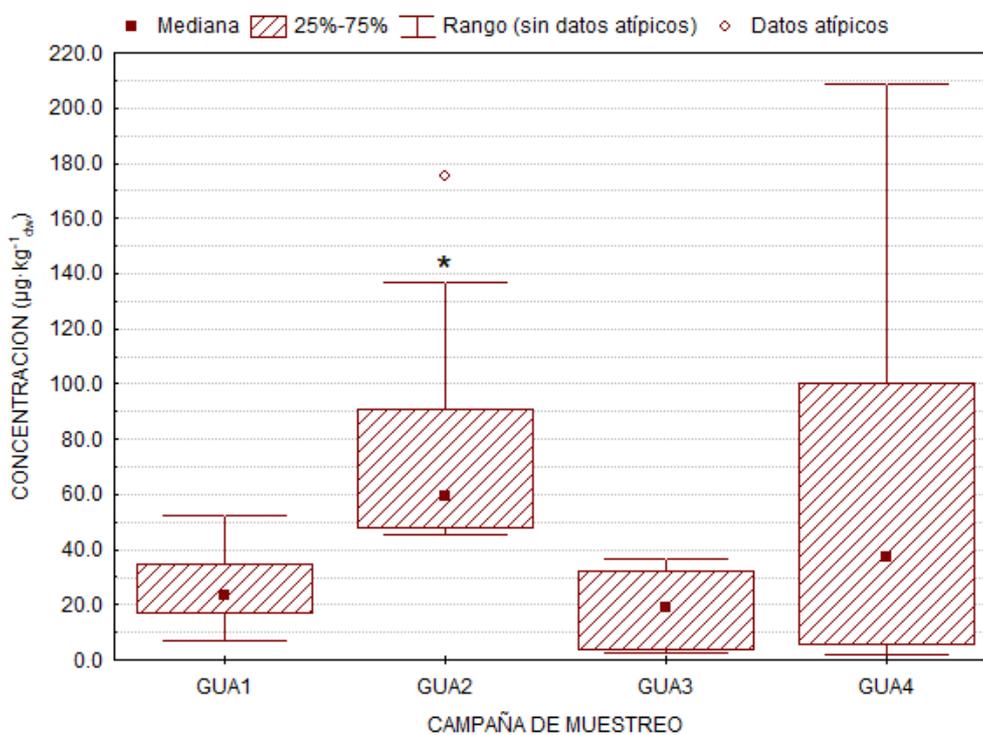


Figura 5.20. Concentraciones de GLY en sedimentos de campañas de la cuenca de río Gualeguay.

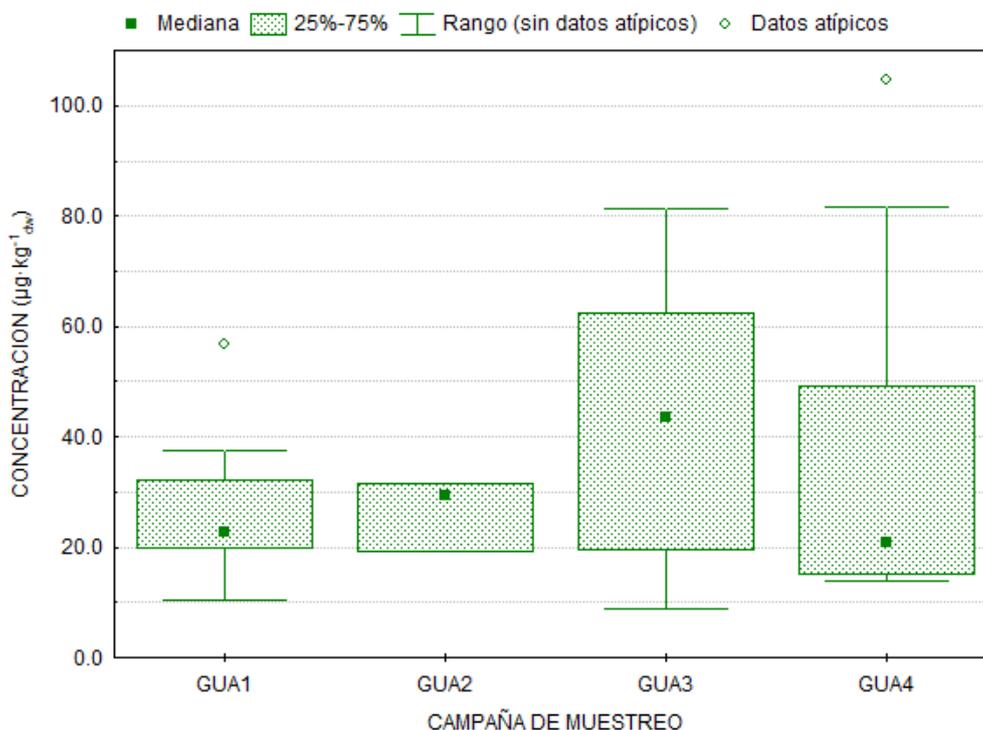


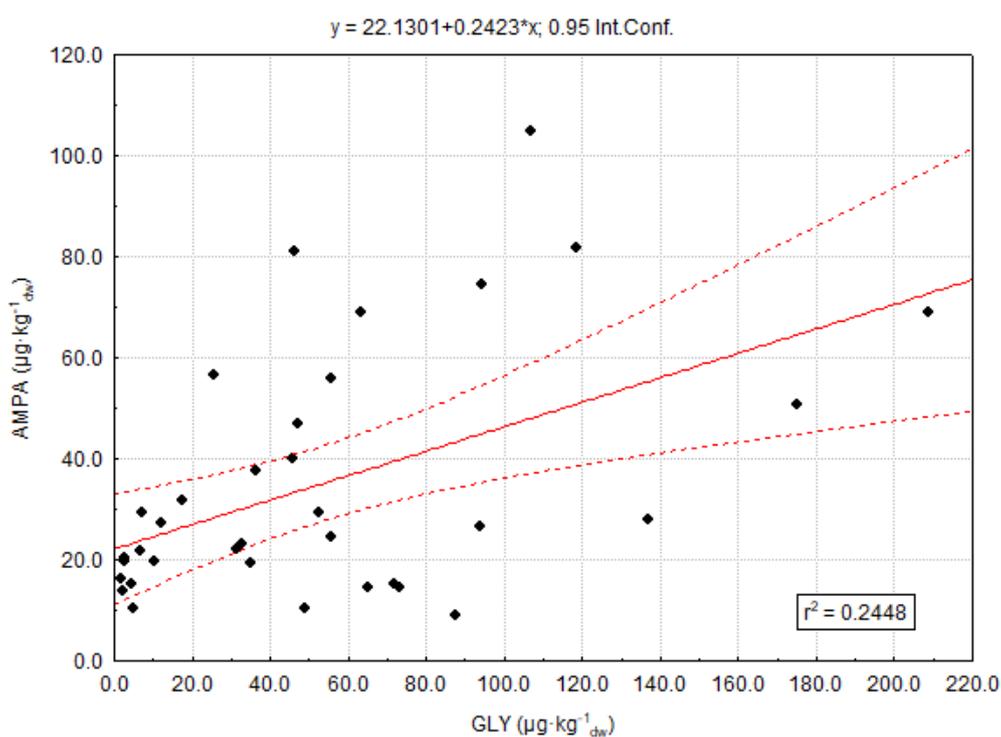
Figura 5.21. Concentraciones de AMPA en sedimentos de campañas de la cuenca de río Gualeguay.

Quando se consideran estudios de sedimentos de la misma zona, Primost et al. (2017) cuantificaron concentraciones máximas de GLY  $1.549 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  y AMPA  $4.028 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ . Asimismo, Ronco et al. (2016) detectaron una concentración máxima aún mayor de GLY ( $5.374 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ ) en el río Luján, tributario del río de la Plata, situado más al sur de la cuenca estudiada en la provincia de Buenos Aires; pero menor de AMPA ( $2.724 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ ). Un escenario similar se verifica en el río Suquía (Córdoba), con concentraciones máximas de  $1.882,3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  y  $266,1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  de GLY y AMPA, respectivamente (Bonansea et al., 2017). Estos valores que se encuentran por encima de los máximos aquí reportados, no llegando a superar estos últimos los  $210 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  para el herbicida y  $110 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  de su metabolito – ambas máximas dándose durante GUA4.

En cambio, las concentraciones de GLY y AMPA reportadas por Aparicio et al. (2013) para sedimentos del sur de la provincia de Buenos Aires muestreados durante el mes de

septiembre resultaron ser comparables en el rango de concentraciones de GUA3, campaña llevada a cabo en la misma estación del año.

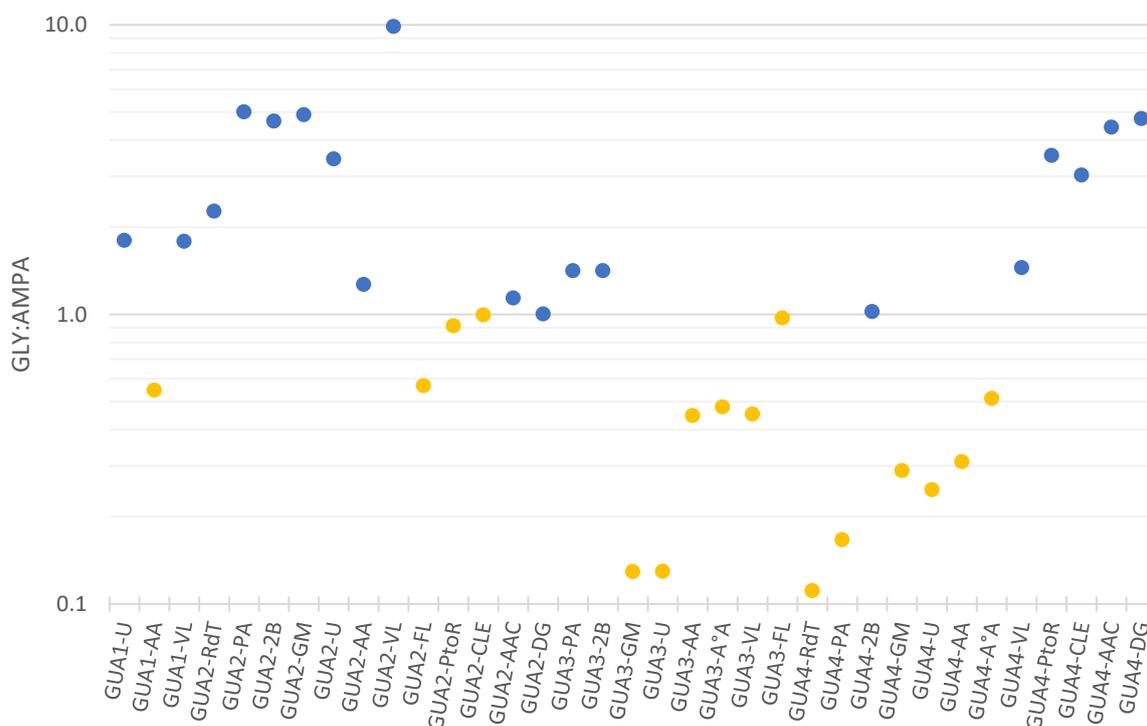
Se exploró la relación entre las concentraciones de GLY y AMPA en sedimentos de fondo mediante regresión lineal (**Figura 5.22**), observándose una correlación estadísticamente significativa ( $r^2=0,2448$ ;  $p=0,0025$ ). Primost et al. (2017) y Okada et al. (2018) notaron comportamientos similares para esta matriz, y atribuyéndole a la estabilidad de estos compuestos en la matriz, viéndose la degradación biótica favorecida frente a otros procesos de remoción de estos contaminantes.



*Figura 5.22. Relación entre la concentración en sedimentos de GLY (eje-x) y AMPA (eje-y) en cada muestra individual (indicado con un ●). La línea roja continua indica la función de regresión lineal y las líneas rojas punteadas los intervalos de confianza asociados.*

## 5.3.1.1.1 Relaciones de concentración de glifosato a AMPA en sedimentos

Para sedimentos, la relación de concentraciones de GLY a AMPA se muestra en la **Figura 5.23**. Para esta matriz, los resultados muestran que en el 54% (n=19) de las muestra la relación GLY:AMPA fue  $>1$  (puntos azules), y en las otras 16 muestras donde ambos compuestos fueron cuantificados, la relación fue  $<1$  (puntos naranja). Del total de muestras de sedimentos analizados, en una sola muestra (GUA3-RdT) ambos compuestos se encontraban por debajo del límite de detección; mientras que en 2 muestras de GUA1 (RdT y 2B) no se detectó AMPA, pero si el compuesto parental – por lo que no se realizó el cálculo de GLY:AMPA.



*Figura 5.23. Relación de concentración GLY:AMPA en sedimentos de fondo para cada muestra en el número de campaña y sitio de muestreo.*

En comparación con las relaciones obtenidas para el agua, los resultados aquí obtenidos muestran un “envejecimiento” del material, con una mayor cantidad de relaciones GLY:AMPA  $<1$ .

### 5.3.1.2 Coeficiente de partición $K_{d-SED}$

Como se presentó anteriormente, no se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones en agua y sedimentos de GLY y AMPA respecto del orden del curso de agua de donde se obtuvo la muestra. El mismo análisis se realizó para las  $K_{d-SED}$  calculadas sin obtener diferencias entre su origen (GLY:  $p=0,2196$ ; AMPA:  $p=0,2933$ ). Para la campaña GUA1 no se cuantificaron estos compuestos en agua, por lo que no se realizaron los cálculos de  $K_{d-SED}$ , a pesar de haberlos encontrado en sedimentos.

Los valores medianos (mínimo-máximo) de las  $K_{d-SED}$  para GLY fueron 30 (1-188)  $L \cdot kg^{-1}$  (**Figura 5.24**) y para AMPA fueron 59 (7-307)  $L \cdot kg^{-1}$  (**Figura 5.25**). No se observaron diferencias significativas tampoco respecto de las campañas de muestreo, pero es posible apreciar una tendencia decreciente en las  $K_{d-SED}$  a medida que se “avanza” en las campañas, es decir, de invierno a verano, y, por lo tanto, con aumento en la temperatura. Esta tendencia está en acuerdo a la dependencia con la temperatura de los procesos de sorción desde medios acuosos (Etchegoyen et al., 2020).

Lupi et al. (2015) obtuvieron una  $K_d$  de 26  $L \cdot kg^{-1}$  en un estudio realizado al sur de la provincia de Buenos Aires, mientras que Bonansea et al. (2017) reportaron una  $K_d$  similar (24  $L \cdot kg^{-1}$ ) para un sitio cercano a cultivos extensivos y otra de  $K_d=287 L \cdot kg^{-1}$  para el mismo curso de agua atravesando una zona con cultivos hortícolas. En humedales, se reportaron valores de  $K_d$  para GLY de 124,9  $L \cdot kg^{-1}$  y 251,9  $L \cdot kg^{-1}$  (Degenhardt et al., 2012). Todos estos valores se encuentran en concordancia con los valores de  $K_{d-SED}$  estimados en el presente trabajo.

5. Dinámica ambiental de plaguicidas en la cuenca del río Gualeguay

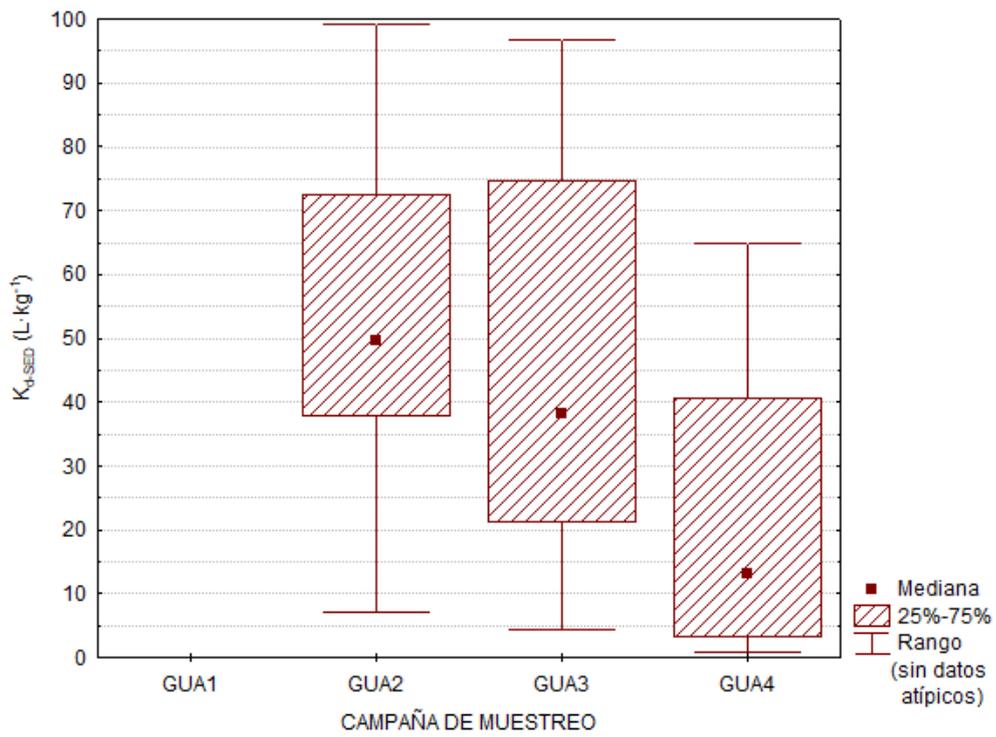


Figura 5.24. Coeficiente de partición  $K_{d-SED}$  de GLY en las campañas de la cuenca del río Gualeguay.

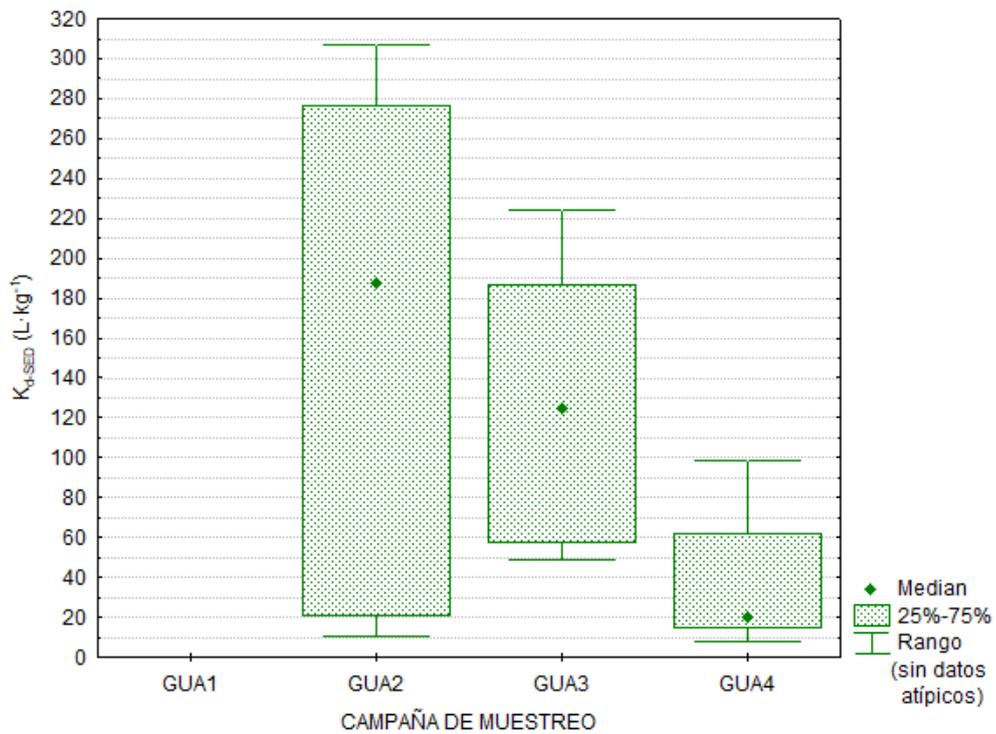


Figura 5.25. Coeficiente de partición  $K_{d-SED}$  de AMPA en las campañas de la cuenca del río Gualeguay.

Para explorar la relación de las constantes de reparto  $K_{d-SED}$  y la temperatura, se llevó a cabo una matriz de correlación de Spearman, empleando como variables las  $K_{d-SED}$ , los parámetros fisicoquímicos medidos *in situ*, y las propiedades de los sedimentos determinadas en el laboratorio (**Tabla 5.11**).

*Tabla 5.11. Matriz de correlación de Spearman entre  $K_{d-SED}$ , parámetros fisicoquímicos y características de los sedimentos de fondo de campañas de la cuenca del río Gualeguay.*

Variables	$K_{d-SED}$ GLY	$K_{d-SED}$ AMPA	T	pH	OD	$\bar{U}$	%H	Corg
$K_{d-SED}$ GLY	<b>1</b>							
$K_{d-SED}$ AMPA	<b>0,5599</b>	<b>1</b>						
T	<b>-0,4178</b>	<b>-0,4729</b>	<b>1</b>					
pH	<b>-0,3831</b>	-0,2634	0,0625	<b>1</b>				
OD	-0,1332	-0,1823	-0,0204	<b>0,5064</b>	<b>1</b>			
$\bar{U}$	<b>-0,4545</b>	<b>-0,4555</b>	0,2610	<b>0,4728</b>	0,2437	<b>1</b>		
%H	0,2485	0,0176	-0,2787	0,0470	0,1502	-0,1444	<b>1</b>	
Corg	0,0714	-0,0387	-0,0756	0,1169	0,2231	-0,0492	<b>0,7785</b>	<b>1</b>

*Los valores en negrita son diferentes de 0 con un nivel de significancia  $\alpha=0,05$ .*

De la matriz se puede observar una correlación estadísticamente significativa y negativa entre las  $K_{d-SED}$  obtenidas para GLY y AMPA en los sedimentos de la cuenca del río Gualeguay y la temperatura. Esto significa que, a mayores temperaturas, las  $K_{d-SED}$  son menores y se corresponde con las tendencias estacionales anteriormente descritas. Resulta también interesante la correlación negativa entre la conductividad  $\bar{U}$  y  $K_{d-SED}$ , donde un aumento en la primera conlleva a una disminución en los valores de las constantes de reparto. Este comportamiento puede ser explicado por el aumento de iones que compiten por los sitios activos minerales (Dollinger et al., 2015; Gimsing et al., 2004; Padilla & Selim, 2019) – disminuyendo así la cantidad de GLY/AMPA sobre la matriz sólida – al mismo tiempo que se favorecen los procesos de complejación química de GLY y AMPA con iones divalentes (Ding et al., 2010) – nuevamente, disminuyendo la adsorción a los sedimentos de fondo por un cambio en la concentración de GLY “libre” en el equilibrio de especiación química en el medio

acuático. Otra correlación negativa y significativa se da entre el pH y los valores de  $K_{d-SED}$  para GLY. Al ser moléculas con especiación química modulada por el pH, su capacidad de interacción se verá afectada por el pH del medio (McConnell & Hossner, 1985). El AMPA, al no poseer el grupo ácido carboxílico (-COOH) es afectado en menor grado dados los valores de pH naturales y los pKa de la molécula, motivo por el cual la correlación no es significativa.

### 5.3.2 Ingreso de GLY y AMPA al Delta del Paraná

En base a las concentraciones de GLY y AMPA, fue posible estimar la cantidad de estos compuestos que ingresan al Delta del Paraná teniendo en cuenta: (1) las concentraciones en agua superficial total, expresada como la suma de la fracción soluble y particulada; (2) el caudal en la desembocadura del río Gualeguay ( $210 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ ); (3) y suponiendo que las concentraciones son uniformes en toda la sección del río.

Para ello, en las distintas campañas de muestreo se seleccionó el punto en la parte más baja de la cuenca. Para la campaña GUA1 no se detectó ninguno de los dos compuestos, al igual que en la desembocadura del río Gualeguay durante el muestreo de invierno GUA2. Sin embargo, durante las campañas de primavera y verano, GUA3 y GUA4, se detectaron ambos compuestos en el punto más austral: GUA3-2B, y GUA4-DG.

Durante la campaña GUA3, se estima que, conforme a los resultados de esta tesis, pueden llegar a ingresar  $252 \text{ g} \cdot \text{h}^{-1}$  de GLY y  $140 \text{ g} \cdot \text{h}^{-1}$  de AMPA al Delta del Paraná, valor que se duplica y mantiene estable, respectivamente, durante el GUA4:  $\text{GLY}=502 \text{ g} \cdot \text{h}^{-1}$  y  $\text{AMPA}=145 \text{ g} \cdot \text{h}^{-1}$ .

Como se presentó anteriormente, estos compuestos poseen una gran afinidad por los sedimentos (Ronco et al., 2016). Más aún, la degradación del GLY a AMPA y la sorción al sedimento son las vías más importantes de disipación de la columna de agua. Es entonces que el humedal del Delta de Paraná juega un rol principal en la remoción de este contaminante, funcionando como un sistema natural de depuración de las aguas que recibe (Degenhardt et al., 2012).

### 5.3.3 Otros plaguicidas en la cuenca del río Gualeguay

Además de GLY y AMPA, que fueron presentados resultados en extenso y en detalle dada la relevancia y ubicuidad de su presencia, otros plaguicidas fueron detectados en muestras de la cuenca del río Gualeguay, principalmente en las muestras de agua superficial (cf. **Tabla 5.10**). La frecuencia de detección en agua superficial de estos plaguicidas, respecto del nivel del curso de agua, se muestra en la **Figura 5.26**.

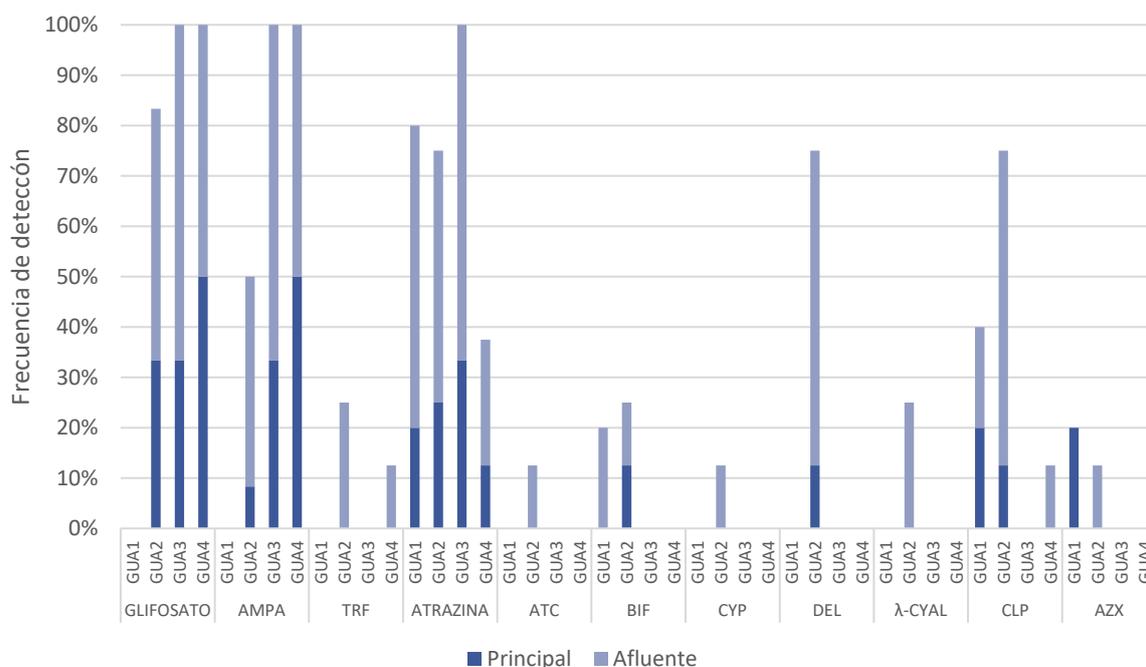
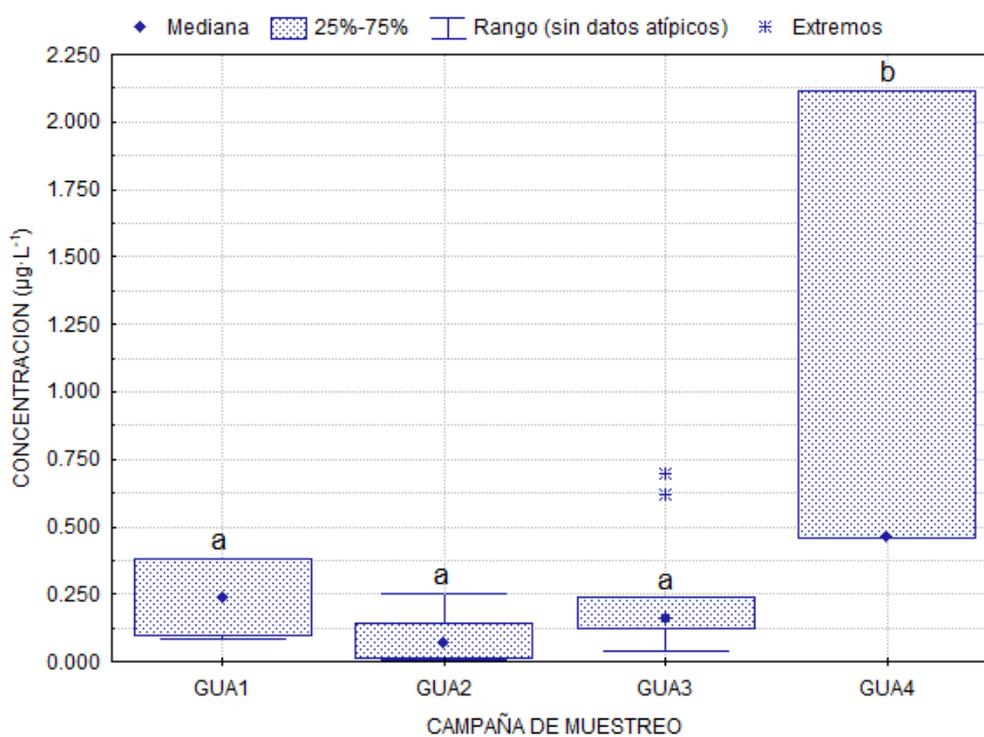


Figura 5.26. Frecuencias de detección de plaguicidas en agua superficial de campañas de la cuenca de río Gualeguay.

Se detectaron un mayor número de plaguicidas durante la campaña GUA2, con un total de 9 plaguicidas, excluyendo GLY y AMPA. Estos compuestos fueron, principalmente detectados en los sitios afluentes, sitios de mayor cercanía a los campos de cultivos, más vulnerables a ingreso de plaguicidas y con menor poder de dilución (Szöcs et al., 2017).

De este grupo, el herbicida ATZ fue el plaguicida más detectado en aguas superficiales, encontrándose en el 73% de las muestras, habiendo sido detectada en el 100% de las muestras de agua durante la campaña de primavera GUA2. Las concentraciones de ATZ en las 4 campañas de muestreo en la cuenca del río Gualeguay se presentan en la **Figura 5.27**.



*Figura 5.27. Concentraciones de ATZ en muestras de agua superficial de campañas de la cuenca de río Gualeguay.*

Tal como se evaluó para GLY y AMPA, al contar con datos suficientes se llevó a cabo una prueba para explorar diferencias entre las concentraciones de este herbicida en los sitios afluentes y del curso principal, mas no se encontraron diferencias estadísticamente

significativas entre estas categorías de sitios ( $p=0,5970$ ). Sin embargo, al analizar las concentraciones respecto de las distintas campañas de muestreo, sí se pudieron observar diferencias ( $p=0,0486$ ).

A pesar de ser la campaña con la menor frecuencia de detección de ATZ, GUA4 se diferenció de las otras campañas de muestreo, presentando a la vez la máxima concentración encontrada en este trabajo:  $2,113 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , en el sitio afluente VL.

De Gerónimo et al. (2014) reportaron concentraciones de ATZ en el rango de  $0,025$ - $1,400 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , con un promedio de  $0,417 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para cuatro cuencas de Argentina, habiendo cuantificado a este herbicida en el 77% de las muestras analizadas de agua superficial. En dicha publicación, ATZ fue el contaminante más ubicuo en las cuatro cuencas estudiadas, atribuyéndole esta calificación a su amplio uso para el control pre y post emergencia de malezas de hoja ancha en maíz (Mahler et al., 2017), cultivo que se desarrolla ampliamente en la región de estudio (*cf.* **Figura 5.1A**).

En Estados Unidos, Fairbairn et al. (2015) reportaron una ocurrencia del 100% de ATZ en una cuenca con usos mixtos del suelo, con fuentes agrícolas y urbanas, con concentraciones entre  $0,0018 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $0,3900 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , y fuertemente correlacionadas con el uso del suelo para explotaciones agrícolas. En este estudio, la concentración mínima detectada es comparable con nuestro límite de detección, pero el máximo se encontraba un orden de magnitud por debajo. Sin embargo, en un estudio más reciente en el mismo país, Mahler et al. (2017) analizaron 100 arroyos, detectando ATZ en el 71% de las muestras, alcanzando una concentración máxima de  $2,66 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  en zonas de alta intensidad agrícola – ambos resultados en concordancia con la frecuencia de detección y máximo encontrado reportados.

Trabajos publicados hace ya 20 años reconocen a la ATZ como un contaminante persistente (Jablonowski et al., 2011). A pesar de que se considere a este herbicida como una molécula no muy persistente a moderadamente persistente en suelos, con vidas medias entre 14 y 109 días, se ha observado que persiste en algunos suelos hasta por 4 años, y hay casos en los que no se ha observado biodegradación en algunos suelos subsuperficiales o en materiales de acuíferos (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2003). Es entonces que el suelo se convierte en un importante sumidero y fuente secundaria de este compuesto. En otro sentido, para Argentina, y en particular para la región de estudio, se han publicado resultados que muestran a la depositación húmeda como una fuente de aporte de este compuesto sobre la superficie en conjunto al GLY, justamente los plaguicidas más relevantes del estudio. Las precipitaciones presentan una concentración de ATZ en el 80% de los casos con concentraciones que pueden llegar a casi  $27 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  del herbicida, es por ello que por influencia directa o por carga de la escorrentía este proceso de transporte debe ser considerado como relevante en estos escenarios ambientales (Alonso et al., 2018).

La información disponible sugiere que harán falta décadas para que la ATZ y sus metabolitos se degraden (Jablonowski et al., 2011). Este escenario es posible en la Unión Europea, donde la aplicación de ATZ fue prohibida en el año 2004 (European Union, 2004), o más cerca en Uruguay, donde fue prohibido en 2016 (DGSA, 2016). En Argentina, esta estimación se ve gravemente perjudicada dado que el uso de ATZ continúa estando autorizado, por lo que es continua su aplicación y liberación hacia el ambiente.

### 5.3.1 Comparaciones con niveles guía para protección de la biota acuática

Si bien GLY y AMPA fueron los compuestos detectados con mayor frecuencia en las muestras de agua de la cuenca del río Gualeguay, la concentración máxima se encontraba más de 20 veces por debajo del NGPBA=240  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para Argentina (SRHN, 2003c).

Particularmente, durante la campaña GUA2 se detectaron concentraciones de insecticidas que superaron los respectivos NGPBA (**Figura 5.28**). Además, en dicha campaña se detectó al herbicida TRF en 2 muestras, excediendo el NGPBA en una de ellas (CCME, 1999b).

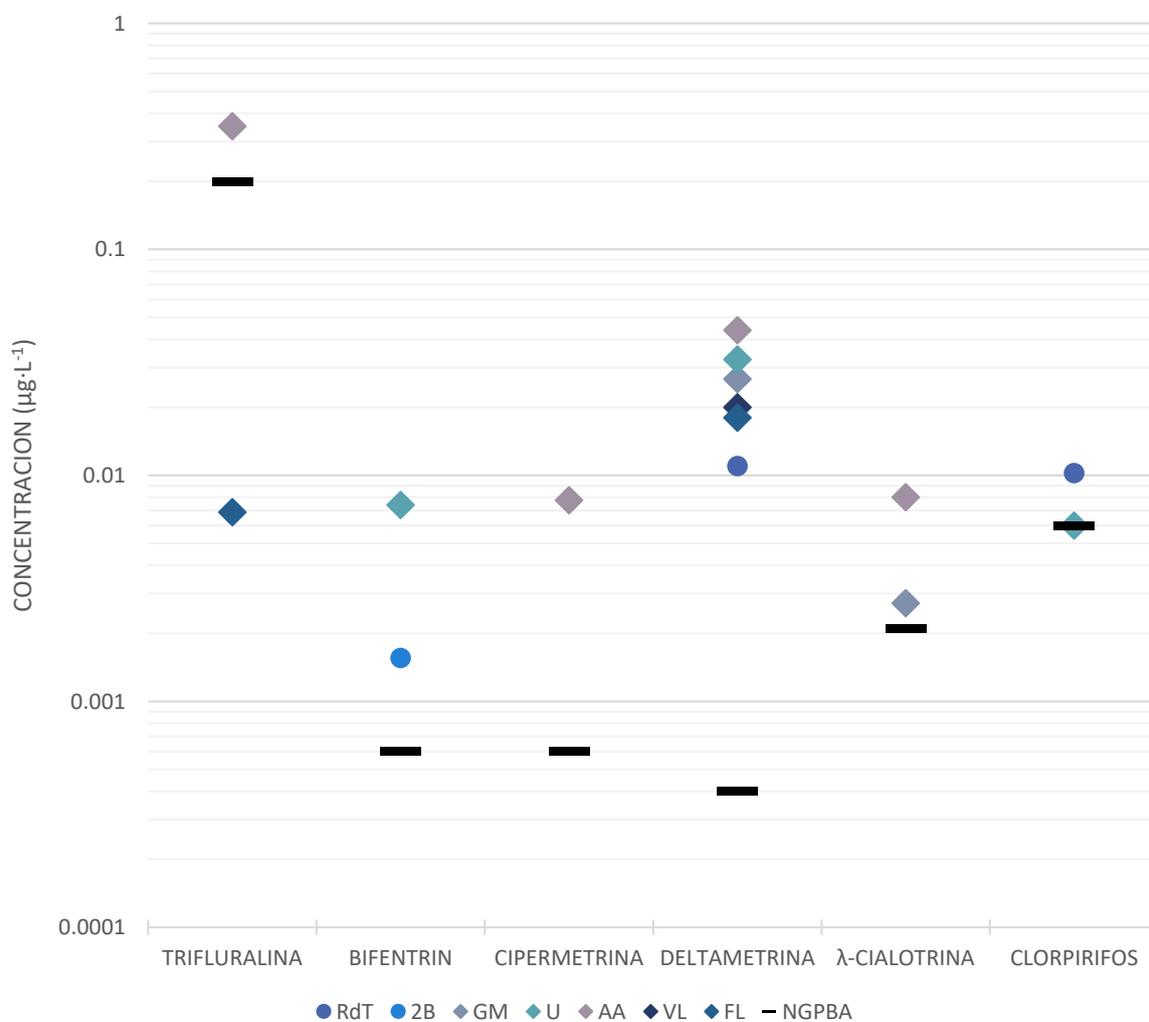


Figura 5.28. Comparación de concentraciones encontradas en agua superficial de la campaña GUA2 con su respectivo nivel guía para la protección de la biota acuática (NGPBA). Las concentraciones (eje-y) se presentan en escala logarítmica los plaguicidas analizados (eje-x). La línea negra horizontal sólida muestra el NGPBA.

Todas las detecciones de DEL, presente en las muestras de los afluentes muestreados, superaron el NGPBA, con el máximo en el sitio AA (más de 100 veces). En el mismo sitio, otros insecticidas piretroides presentaron concentraciones por encima de su nivel guía: CYP y  $\lambda$ -CIAL, 13 y 4 veces por encima, respectivamente.

Resulta relevante remarcar que, para plaguicidas como DEL, BIF y CLP, se cuantificaron concentraciones sobre el curso de agua principal que superaron sus niveles guía (ver marcadores circulares en la **Figura 5.28**) y tal como lo descrito para GLY y AMPA, los caudales y dimensiones del río en esas zonas de muestreo, hacen que estos resultados deban ser tomados para generar herramientas de gestión de uso del suelo y de la cuenca a fin de recuperar la calidad del agua, vale remarcar que los sitios de muestreo asentados sobre el cuerpo principal se corresponden con balnearios o campings, con alto uso recreativo por la población del lugar.

En otras campañas, la detección de insecticidas fue más esporádica, pero en concentraciones que superan los NGPBA. Durante GUA1, CLP fue detectado en RdT y AA, 14 y 25 veces el nivel guía  $0,006 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente (SRHN, 2005). En la misma campaña, en el sitio U se encontró una concentración de BIF= $0,147 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 245 por encima de su NGPBA (Palumbo et al., 2010). En GUA3 sólo se detectaron los herbicidas GLY (y su metabolito AMPA) y ATZ, discutido en detalle a continuación. Finalmente, CLP se detectó únicamente en el sitio AA, 40 veces por arriba de su nivel guía.

Las concentraciones de ATZ, en aguas superficiales de todas las campañas de muestreo, no superaron el NGPBA de Argentina de  $3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (SRHN, 2003a). A nivel mundial, el nivel guía más

estricto es el establecido en Canadá:  $1,8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (CCME, 1994). Considerando este valor de referencia, únicamente la máxima concentración de  $2,113 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (GUA4-VL) lo supera.

La exposición de la biota acuática a ATZ ocurre típicamente en pulsos de altas concentraciones, luego de aplicaciones cercanas en zonas agrícolas y eventos de lluvia. En el sistema analizado, la cuenca del río Gualeguay, sin embargo, se puede considerar que la exposición es crónica dadas las altas frecuencias de detección en el sistema.

Los efectos de la ATZ en los ecosistemas acuáticos no se comprenden completamente, aunque muchos estudios informan la posibilidad de impactos negativos a bajas concentraciones durante largos períodos de exposición (Graymore et al., 2001). Este herbicida tiene su efecto más directo sobre los organismos autótrofos, siendo su modo de acción la alteración de la fotosíntesis (CCME, 1994; SRHN, 2003a), lo que puede devenir en problemas de la calidad del agua y la disponibilidad de alimentos para especies herbívoras. En última instancia, muchas otras especies se verían afectadas indirectamente, lo que reduce la abundancia y la biodiversidad.

# CAPÍTULO 6

## ECOTOXICOLOGIA DE SEDIMENTOS

## 6. Ecotoxicología de sedimentos

### 6.1 Introducción

La ecotoxicología tiene como objeto de estudio a los efectos de los contaminantes en la biosfera. Contrariamente a la toxicología humana, que se restringe a los efectos de los productos químicos en el organismo humano, la ecotoxicología estudia los efectos toxicológicos en las entidades ecológicas, es decir, las poblaciones, las comunidades o los ecosistemas. En la práctica, sin embargo, la ecotoxicología basa sus criterios de valoración en puntos finales toxicológicos tradicionales, determinándolos sobre especies centinelas seleccionadas o en especies que representan los distintos niveles tróficos en una cadena alimentaria. Es importante remarcar que la ecotoxicología difiere de la toxicología ambiental ya que integra los efectos de los estresores en todos los niveles de organización biológica, mientras que la toxicología ambiental se centra en los efectos a nivel del individuo y por debajo (Rand, 1995).

Los sedimentos juegan un papel importante en los ecosistemas acuáticos, mediando el intercambio químico entre la fase soluble, la fracción de material particulado en suspensión y los componentes biológicos (Burton & Landrum, 2003). Históricamente, se ha hecho énfasis respecto de la concentración y el destino de los contaminantes en el “compartimento agua”, con menor atención a los contaminantes asociados a los sedimentos. Los sedimentos pueden acumular contaminantes en concentraciones muchos ordenes de magnitud superiores a las observadas en la columna de agua, lo que puede provocar efectos nocivos en la biota bentónica, con potenciales impactos al ecosistema mediante procesos de bioacumulación o biomagnificación (Bunzel et al., 2015; de Castro-Català et al., 2016; Nowell et al., 2016).

Existen varias metodologías aplicables a la evaluación de la calidad de un sedimento. Entre ellos, se pueden mencionar el análisis químico y los bioensayos de toxicidad. El primero consiste en identificar, enumerar y cuantificar los contaminantes y compararlos sus concentraciones con niveles guía o valores de referencia. Sin embargo, muchas veces esos valores de referencia no existen. No obstante, los ensayos de toxicidad pueden proporcionar evidencia directa y cuantificable de las respuestas biológicas de los contaminantes presentes en el sedimento (Rand, 1995). Dichos ensayos pueden realizarse sobre el agua de poro o sobre el sedimento entero, con este último aportando información sobre la biodisponibilidad de los contaminantes presentes en los sedimentos (ASTM, 2019; USEPA, 2000). La biodisponibilidad es un concepto clave en la Ecotoxicología: las concentraciones de contaminantes en los sedimentos pueden ser muy elevadas, pero si no se encuentran biodisponibles, es decir, no se encuentran libres para ser incorporados por los organismos, pueden no causar efectos adversos sobre los mismos (Burton & Landrum, 2003; Rand, 1995; Widenfalk, 2002).

Adicionalmente, si bien una concentración resulta un parámetro útil para determinar si un compuesto determinado excede o no cierto umbral de toxicidad, los sedimentos suelen presentar una mezcla compleja de contaminantes. Además, al aplicar este criterio, no se contempla la biodisponibilidad de los contaminantes. La aplicación de esta estrategia de forma aislada conlleva en sí incertidumbres, que finalmente pueden impactar sobre la calidad de la evaluación del ambiente.

Por este motivo se necesita de la integración de ambas herramientas para poder evaluar la calidad de un sedimento, y poder así establecer relaciones causa-efecto entre concentraciones de contaminantes y efectos biológicos observados.

Los efectos biológicos pueden ser estudiados mediante la realización de ensayos de toxicidad tanto en el campo (*in situ*) como en laboratorio. La segunda modalidad presenta la ventaja de que las relaciones entre el efecto y la exposición a los tóxicos se estudian bajo condiciones definidas, controladas y reproducibles (Adams, 2003; Nowell et al., 2016). A partir de la realización de ensayos de toxicidad en laboratorio se puede explorar la toxicidad potencial de una matriz contaminada, utilizando distintos puntos finales, como mortalidad, inhibición del crecimiento y efectos en la reproducción de los organismos.

Pueden existir diferentes vías de exposición, modos de acción química y diferentes sensibilidades para los organismos bentónicos (Ingersoll et al., 2015). Desde un punto de vista ecotoxicológico, se desarrollaron varios enfoques (*e.g.*, calidad del agua de poro, toxicidad de sedimentos con sobreagregados, residuos de contaminantes en tejidos) para detectar los efectos específicos de los tóxicos sobre los organismos que viven en el sedimento, pero sólo las pruebas de sedimento entero que utilizan organismos bentónicos resultan ser adecuadas para realizar una evaluación realista del riesgo del compartimento de sedimentos (de Castro-Català et al., 2016; Nowell et al., 2016). Con este tipo de bioensayos, es posible contemplar adecuadamente todas las posibles vías de exposición (European Commission, 2003). Conjuntamente, las pruebas de agua intersticial de poro pueden complementar los resultados de bioensayos de toxicidad del sedimento entero, porque los organismos bentónicos están expuestos a ambos compartimentos. Pero, en general, los bioensayos sobre la fracción total muestran niveles de ecotoxicidad más altos que las pruebas de agua intersticial (de Castro-Català et al., 2016).

Los ensayos de toxicidad en laboratorio para evaluar efectos de contaminantes asociados a los sedimentos utilizan diferentes organismos que incluyen algas, bacterias, moluscos,

anélidos, insectos, crustáceos y peces (Rand, 1995). Sin embargo, como la fase más empleada para realizar ensayos de toxicidad es el sedimento completo, los organismos más frecuentemente utilizados corresponden a invertebrados bentónicos. Entre ellos, los organismos de agua dulce más utilizados en las evaluaciones de la toxicidad de sedimentos incluyen las siguientes especies bentónicas: *Hyalella azteca* Saussure, 1858 (Amphipoda: Hyalellidae), *Chironomus tentans* Fabricius, 1805 y *C. riparius* Meigen, 1804 (Diptera: Chironomidae), *Hexagenia limbata* Serville, 1829 (Ephemeroptera: Ephemeridae) y *Tubifex tubifex* Müller, 1774 (Haplotaxida: Naididae). Uno de los aspectos más importantes de estas especies para ser utilizadas en bioensayos es la disponibilidad de protocolos estandarizados que facilitan la comparación de las respuestas biológicas de manera sistemática y reproducible, para muestras de distintos orígenes (ASTM, 2003, 2019; EC, 1997; IRAM, 2003; USEPA, 2000, 2001).

Los macroinvertebrados se han utilizado ampliamente para evaluar la integridad de los cuerpos de agua, ya que poseen varias ventajas con respecto a otros grupos de organismos: son ubicuos y diversos, exhiben diferentes hábitos de alimentación, son sedentarios, tienen ciclos de vida que van desde unas pocas semanas a unos pocos años, muestran un rango de tolerancia a los contaminantes y poseen un tamaño conveniente, además, las comunidades de macroinvertebrados son sensibles a plaguicidas y son buenos indicadores de la función general del ecosistema (Arias et al., 2020; Macchi et al., 2018; Solis et al., 2019).

Cuando se selecciona una especie nativa como organismo prueba, diferente a las incluidas en protocolos estandarizados, se deben tener en cuenta una serie de pautas que indiquen al menos una sensibilidad equivalente a las especies recomendadas para el tipo de ensayo en consideración. Más aún, si la especie nativa resulta ser más sensible a los contaminantes a

estudiar, la evaluación con ésta adquiere mayor aplicabilidad a las situaciones locales o regionales que se pretenden evaluar. A este respecto, la American Society for Testing and Materials (2014) y la United States Environmental Protection Agency (2000) definen algunos criterios a tener en consideración cuando se selecciona una especie prueba para ser utilizada en ensayos con sedimento:

- sensibilidad a sustancias tóxicas asociadas a sedimentos;
- relevancia ambiental;
- tiempos cortos de generación;
- facilidad en el cultivo y mantenimiento en laboratorio;
- contacto frecuente con el sedimento;
- tolerancia a las variaciones fisicoquímicas del medio;
- facilidad de identificación taxonómica;
- importancia ecológica;
- localización geográfica con relación al sitio de estudio;
- compatibilidad con la metodología de ensayo y los puntos finales seleccionados.

Teniendo en cuenta que se trata de una especie nativa (Solis et al., 2017), de hábitos similares a la especie protocolizada y por la facilidad en el mantenimiento y supervivencia en condiciones de laboratorio en los últimos años se ha comenzado a emplear el anfípodo de distribución sudamericana *Hyaella curvispina* (**Figura 6.1**) como organismo de ensayo. Esta especie ya ha sido utilizado en ensayos *in situ* para determinar efectos producidos por plaguicidas en áreas de cultivos (Jergentz et al., 2004; Mugni et al., 2013), en bioensayos de laboratorio tanto para evaluaciones de sensibilidad a tóxicos (M. E. García et al., 2010), así como en evaluaciones de muestras ambientales (Di Marzio et al., 2005). La aplicación de *H. curvispina* como organismo de ensayo de laboratorio fue validada por varios autores en la

región (Peluso, 2011; Peluso et al., 2011; Peluso, Abelando, et al., 2013; Peluso, Bulus Rossini, et al., 2013).



Figura 6.1. *Hyalella curvispina*.

### 6.1.1 Descripción de *Hyalella curvispina*

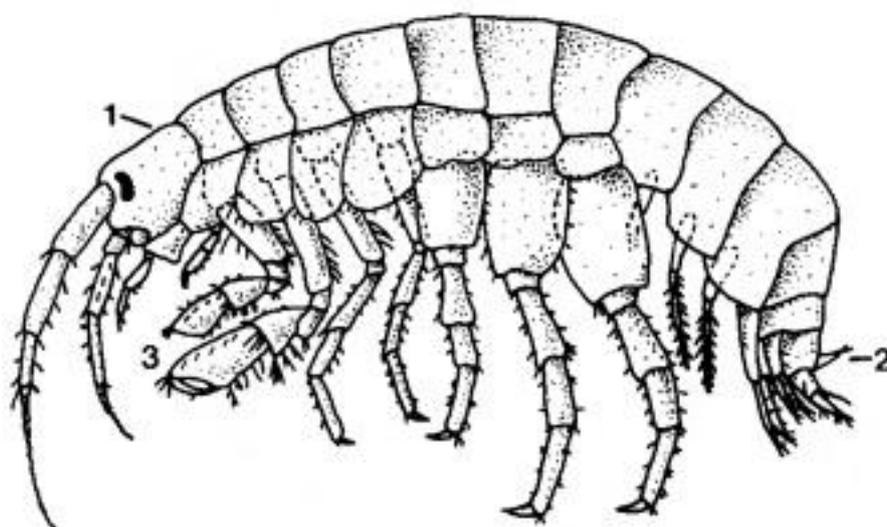
Los anfípodos son comunes en ecosistemas dulceacuícolas, llegando a representar hasta el 50% de la biomasa de la fauna de macroinvertebrados. Al mismo tiempo, cumplen un papel muy importante en las redes tróficas, facilitando el flujo de energía entre algas y plantas epífitas (productores primarios), detritos y los consumidores superiores (Wen, 1992).

Dentro de los anfípodos, los miembros del género *Hyalella* Smith, 1874 poseen una distribución desde el sur de la Patagonia hasta la región central de Canadá. Este género incluye 61 especies descritas hasta el momento, 45 de las cuales se encuentran en América del Sur (Waller et al., 2020). Particularmente, la especie *Hyalella curvispina* fue descrita por Shoemaker (1942), con ejemplares típicos de Uruguay.

*H. curvispina* es un anfípodo representativo de las comunidades bentónicas. Se lo encuentra asociado a diversos hábitats de agua dulce tales como lagos, charcas y arroyos. Se alimenta

principalmente de detritos, algas y bacterias asociados al sedimento y a las plantas macrófitas (Waller, 2017).

Los ejemplares de *Hyaletta curvispina* son pequeños, su tamaño oscila entre los 2,5 a 10 mm desde el extremo de la cabeza hasta el extremo del telson (**Figura 6.2**). Presentan una forma corporal comprimida y no poseen caparazón. En la región cefálica presentan un par de ojos sésiles, dos pares de antenas y piezas bucales (Waller, 2017).



*Figura 6.2. Vista lateral de H. curvispina. (1) cabeza, (2) telson, (3) gnatópodos.*

Son individuos dioicos con dimorfismo sexual: los machos tienen los segundos gnatópodos unas 15 veces más grandes que las hembras y los utilizan en el apareamiento, mientras que las hembras presentan estructuras ventrales denominadas oostegitos, que dan origen la bolsa incubatriz donde ocurre el desarrollo post embrionario.

Una vez que los anfípodos han alcanzado la madurez sexual, se produce la inducción del comportamiento reproductivo a través de la liberación de feromonas, denominado ste comportamiento pre-copulatorio. Durante esta fase del ciclo reproductivo, los machos transportan a las hembras debajo de ellos durante días (**Figura 6.3**). En la mayoría de los

anfípodos suele existir una correlación entre el tamaño de los machos y el tamaño de las hembras, es decir, los machos grandes tienden a aparearse con hembras grandes y los machos pequeños con hembras pequeñas. Poco después de la conducta pre-copulatoria, la pareja se separa brevemente para permitir la muda prepuberal de la hembra. Los huevos se liberan directamente en la bolsa incubatriz, donde se produce la fertilización. Los huevos presentan un desarrollo directo y las crías nacen con una forma corporal similar a la del adulto. Por lo tanto, el desarrollo de los anfípodos, se puede dividir en dos etapas: (1) desde la ovulación hasta la eclosión: período embrionario; y (2) desde la eclosión hasta la emergencia de la descendencia: post-embrionario o juvenil (Borowsky, 1991).



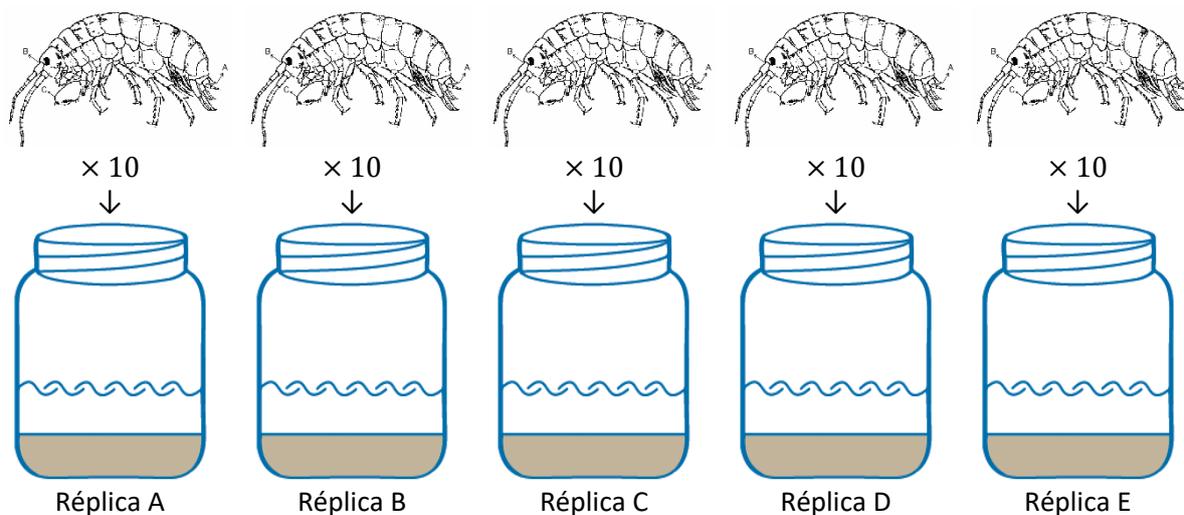
*Figura 6.3. Anfípodos en comportamiento pre-copulatorio.*

## 6.2 Materiales y métodos

Se realizaron bioensayos de toxicidad estandarizados con los sedimentos de fondo recolectados durante las campañas de muestreo del Cordón Hortícola Platense y cuenca del río Guleguay. Se expusieron individuos del anfípodo autóctono *H. curvispina* al sedimento

completo siguiendo las recomendaciones de los protocolos USEPA para *H. azteca* con modificaciones (Peluso et al., 2011).

Los medios de exposición se prepararon en frascos de vidrio de 500 mL (acondicionados como el material de laboratorio) colocando 120 mL de sedimento homogeneizado, y 200 mL de agua de red declorinada, con 3 a 5 réplicas por cada muestra a ensayar. En paralelo, se llevó a cabo un control negativo con un sedimento de referencia extraído del arroyo Juan Blanco, con un bajo grado de influencia antrópica, en la Reserva Natural El Destino, Magdalena, Provincia de Buenos Aires (Peluso, 2011). Los sistemas se dejaron estabilizar durante 24 horas. Pasado el tiempo de reposo, se midieron el OD, T,  $\bar{O}$  y pH. Los organismos juveniles, de 7-14 días de edad (EC, 1997), se seleccionaron de cultivos de laboratorio 24-48 horas previas al inicio del ensayo. Diez anfípodos se colectaron con pipeta plástica y se colocaron en los recipientes de ensayo, verificando previamente el número y estado de estos para cada uno de los recipientes. Otros 10 organismos fueron fijados en formol 4%, representado el tiempo cero. Las exposiciones se realizaron sin aireación y con recambio parcial del agua sobrenadante día de por medio. Los recipientes se dispusieron en un cuarto climatizado con fotoperíodo a 16:8 horas luz:oscuridad y una temperatura de  $21 \pm 1$  °C. El tiempo de exposición fue de 10 días. Un esquema del bioensayo se puede ver a continuación en la **Figura 6.4**, y una fotografía de un ensayo en curso en la **Figura 6.5**.



*Figura 6.4. Esquema de los bioensayos de laboratorio con sedimento de fondo.*

Al finalizar los bioensayos, el sedimento de cada recipiente se tamizó por una malla para separar los organismos sobrevivientes, los cuales fueron fijados en formol (4%) para su medición mediante el software ImageJ (Rueden et al., 2017). Los puntos finales medidos fueron supervivencia (efecto letal) e inhibición del crecimiento (longitud del organismo, efecto subletal). El efecto subletal se evaluó únicamente en los ensayos de los sedimentos de sitios donde la supervivencia promedio fue mayor al 50%, buscando evitar incorporar mayor variabilidad a los resultados obtenidos (Peluso, Abelando, et al., 2013; Peluso, Bulus Rossini, et al., 2013). La supervivencia promedio en el sedimento de referencia fue siempre mayor al 90%, cumpliendo con los criterios de aceptación recomendados para los ensayos con sedimento completo (USEPA, 2000).



*Figura 6.5. Bioensayo de toxicidad de sedimentos en cuarto climatizado y con fotoperiodo.*

### 6.2.1 Estadística

Para evaluar los supuestos de homocedasticidad de los datos de toxicidad se realizó la prueba de Levene, donde la hipótesis nula plantea que las varianzas poblacionales son iguales, de modo que valores de  $p > 0,05$  harán que se acepte la hipótesis nula y se concluye que no hay diferencia significativa entre las varianzas de la población. Los puntos finales seleccionados: supervivencia (efecto letal) y el crecimiento (evaluado a través de la longitud de los organismos, efecto subletal), se evaluaron mediante análisis de la varianza de una vía (ANOVA), seguido de pruebas *post hoc* como Fisher LSD o Tukey HSD para determinar diferencias significativas entre tratamientos (sitios de muestreo). Los datos de porcentaje de supervivencia se transformaron aplicando el arcoseno y los datos de longitud se transformaron logarítmicamente antes del análisis (Peluso, Bulus Rossini, et al., 2013; Zar, 2010).

Se realizaron Análisis de Componentes Principales (*Principal Component Analysis*, PCA) con matriz de correlación de Spearman para determinar las relaciones entre los resultados de toxicidad y las variables fisicoquímicas del sedimento (Quinn & Keough, 2002). El análisis se realizó utilizando las concentraciones de plaguicidas, las propiedades de los sedimentos y los datos de toxicidad. La selección de los factores significativos se basó en el principio de Kaiser aceptando factores con  $\text{eigenvalue} > 1$  (Quinn & Keough, 2002). En todos los casos se trabajó con un nivel de significancia  $\alpha = 0,05$ . Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando herramientas de los programas STATISTICA (Stat Soft, Inc. 2001; versión 7) y XL-STAT (Addinsoft 2016; 01.26136).

### 6.3 Resultados ecotoxicológicos del Cordón Hortícola Platense

Como se mencionó previamente, por la abundante vegetación en S1 sólo se pudo muestrear cantidad de sedimento suficiente para el análisis químico durante CHP5, mientras que, durante la siguiente campaña de muestreo CHP6, no fue posible recolectar sedimento.

#### 6.3.1 Supervivencia en el Cordón Hortícola Platense

En la **Tabla 6.1** se muestran el número de organismos sobrevivientes de cada réplica registrados de los ensayos de toxicidad realizados sobre sedimentos directo con *H. curvispina*, así como la supervivencia promedio y la desviación estándar porcentual, para los distintos sitios y campañas de muestreo llevadas a cabo con sedimentos de fondo del arroyo Carnaval en el Cordón Hortícola Platense.

Los resultados de las pruebas de normalidad para la variable supervivencia transformada y los ANOVA para explorar diferencias entre la supervivencia en los sedimentos de fondo de los sitios del CHP en comparación con la del sitio control se presentan en la **Tabla 6.2**. La supervivencia de cada sitio se grafica en la **Figura 6.6** para CHP1, **Figura 6.7** para CHP2, **Figura 6.8** para CHP3, **Figura 6.9** para CHP4, **Figura 6.10** para CHP5, y **Figura 6.11** para CHP6.

Tabla 6.1. Resultados de supervivencia de *H. curvispina*, después de 10 días de exposición a sedimentos de las campañas de muestreo de Cordón Hortícola Platense-CHP.

	Sitio	Réplicas					Número de réplicas	Supervivencia promedio (%)	Desvío Estándar (%)
		A	B	C	D	E			
CHP1	S1	8	10	7	7	10	5	84%	15%
	S2	9	7	7	7	7	5	74%	9%
	S3	0	0	0	0	0	5	0%	0%
	S4	7	7	10	SR	SR	3	80%	17%
	S5	10	8	9	5	6	5	76%	21%
CHP2	S1	9	8	8	8	SR	4	83%	5%
	S2	10	9	7	6	5	5	74%	21%
	S3	6	3	3	6	6	5	48%	16%
	S4	10	6	5	9	7	5	74%	21%
	S5	9	10	8	9	9	5	90%	7%
CHP3	S1	8	9	10	8	8	5	86%	9%
	S2	10	9	9	6	6	5	80%	19%
	S3	7	8	9	8	10	5	84%	11%
	S4	9	8	5	SR	SR	3	73%	21%
	S5	9	8	7	9	10	5	86%	11%
CHP4	S1	4	4	5	4	4	5	42%	4%
	S2	9	8	9	9	8	5	86%	5%
	S3	3	2	2	2	SR	4	23%	5%
	S4	8	9	8	9	8	5	84%	5%
	S5	4	4	4	4	3	5	38%	4%
CHP5	S1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	S2	3	0	3	4	5	5	30%	19%
	S3	6	2	4	4	5	5	42%	15%
	S4	8	5	9	7	9	5	76%	17%
	S5	8	9	5	7	8	5	74%	15%
CHP6	S1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	S2	6	4	7	7	SR	4	60%	14%
	S3	0	0	0	0	0	5	0%	0%
	S4	0	0	0	0	0	5	0%	0%
	S5	0	0	0	0	0	5	0%	0%

NR: Sin réplica; NA: No analizado.

Tabla 6.2. Resultados (*p*-valor) de las pruebas estadísticas realizadas sobre los datos de supervivencia de los bioensayos sobre sedimentos del CHP.

Campaña	Prueba de Levene	Distribución	ANOVA
CHP1	0,0951	Normal	0,6835
CHP2	0,0543	Normal	0,0323
CHP3	0,8637	Normal	0,8293
CHP4	0,5175	Normal	<0,0001
CHP5	0,6357	Normal	0,0020
CHP6	NA	NA	NA

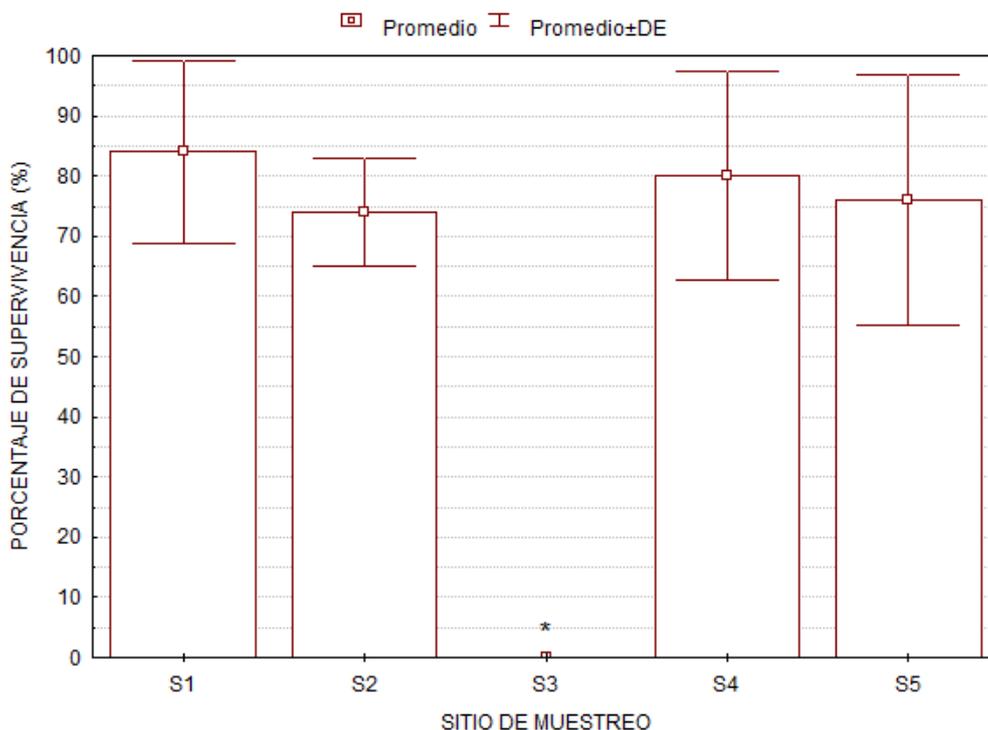


Figura 6.6. Promedio y desviación estándar (DE) de la supervivencia de *H. curvispina*, expresada en porcentaje, después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo CHP1. El asterisco indica diferencias significativas respecto de los otros sitios ( $p < 0,05$ ).

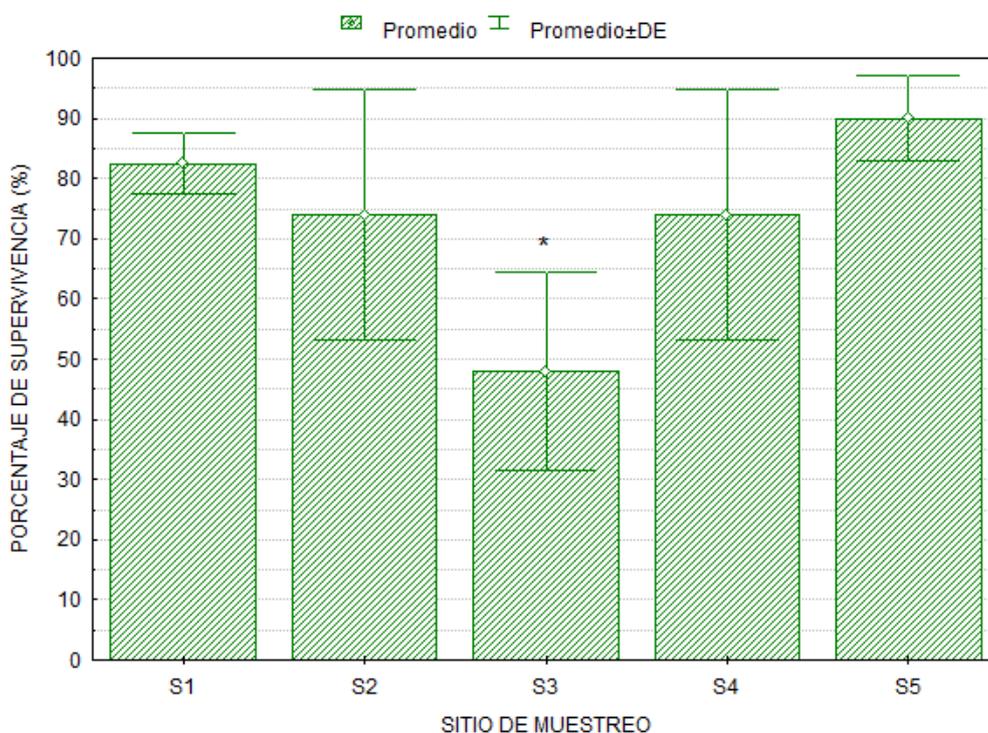


Figura 6.7. Promedio y desviación estándar (DE) de la supervivencia de *H. curvispina*, expresada en porcentaje, después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo CHP2. El asterisco indica diferencias significativas respecto del sitio control ( $p < 0,05$ ).

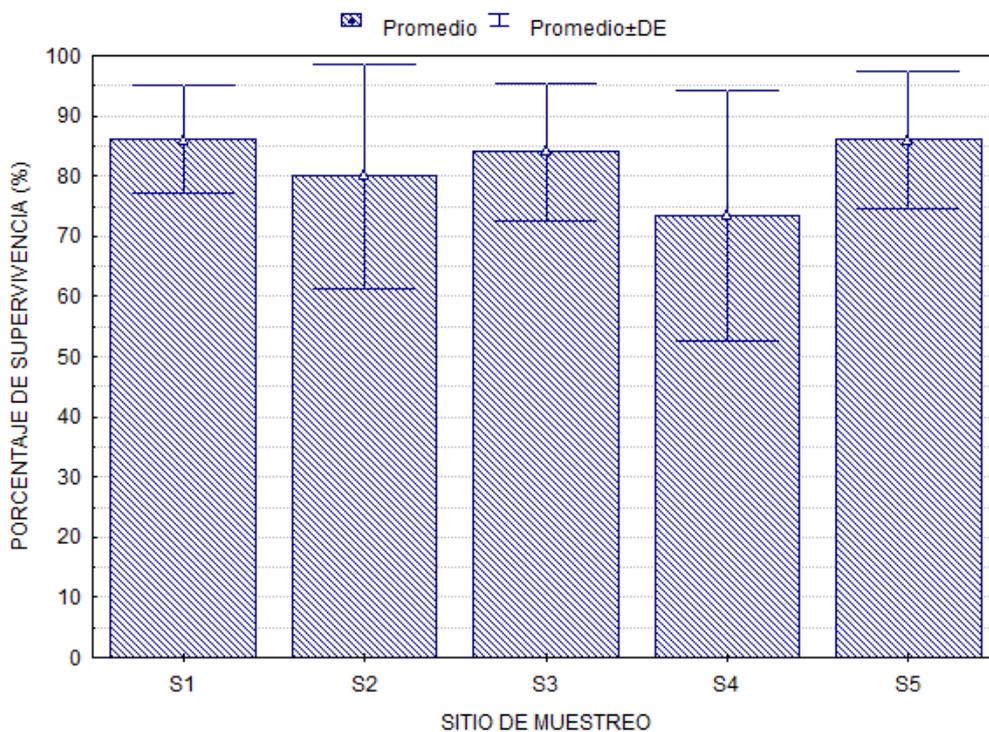


Figura 6.8. Promedio y desviación estándar (DE) de la supervivencia de *H. curvispina*, expresada en porcentaje, después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo CHP3.

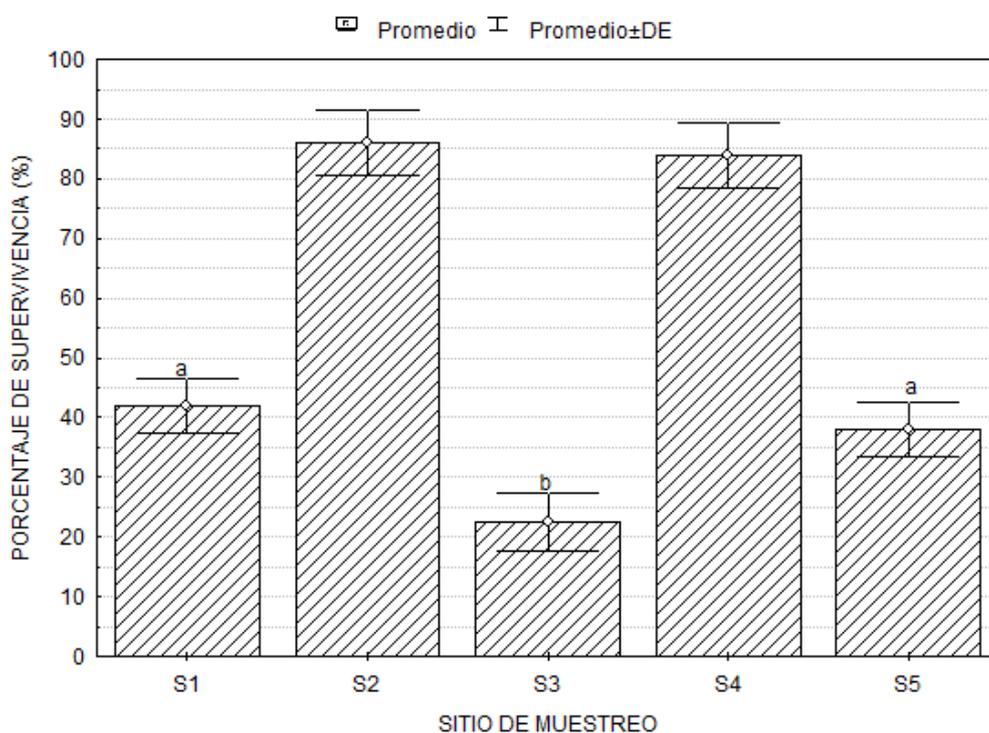


Figura 6.9. Promedio y desviación estándar (DE) de la supervivencia de *H. curvispina*, expresada en porcentaje, después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo CHP4. Las letras indican diferencias significativas respecto del sitio control ( $p < 0,05$ ).

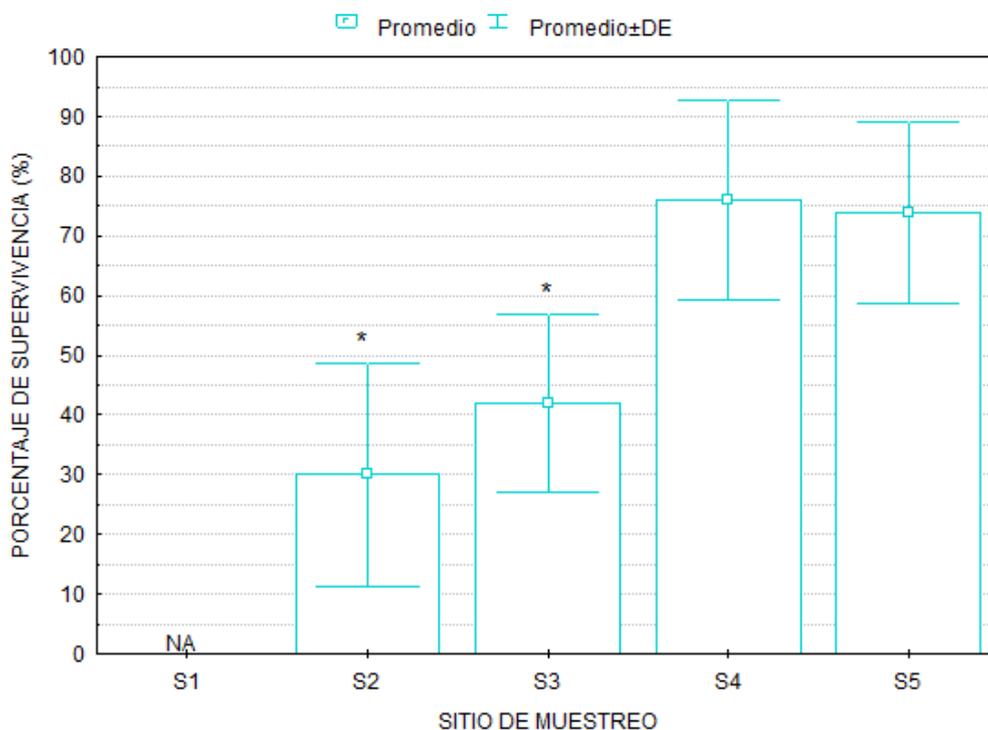


Figura 6.10. Promedio y desviación estándar (DE) de la supervivencia de *H. curvispina*, expresada en porcentaje, después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo CHP5. NA: No analizado. El asterisco indica diferencias significativas respecto del sitio control ( $p < 0,05$ ).

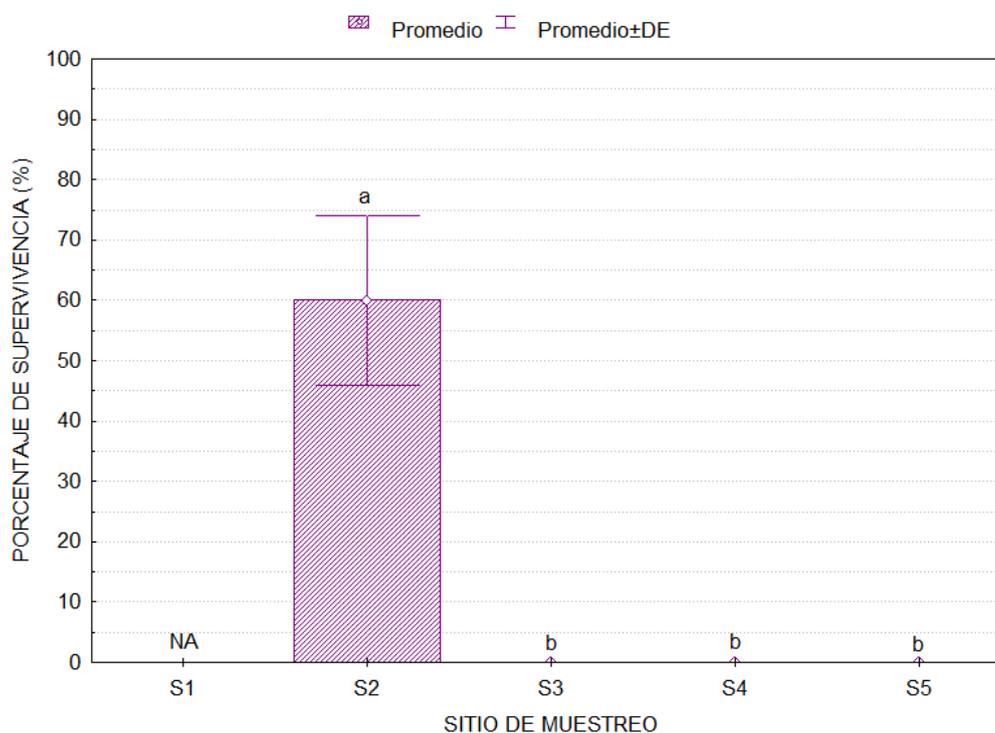


Figura 6.11. Promedio y desviación estándar (DE) de la supervivencia de *H. curvispina*, expresada en porcentaje, después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo CHP6. NA: No analizado. Las letras indican diferencias significativas respecto del sitio control ( $p < 0,05$ ).

De las 6 campañas llevadas a cabo en la cuenca del arroyo Carnaval, todas mostraron, en al menos un sitio, toxicidad en los sedimentos ensayados, con la excepción de la campaña CHP3.

Para CHP1, únicamente el S3 presentó toxicidad, resultando en la mortalidad de todos los organismos ensayados en todas las réplicas. Sin embargo, entre los otros sitios no se apreciaron diferencias significativas, con la supervivencia siendo, en promedio, alrededor del 80%. En la siguiente campaña, CHP2, nuevamente se observaron efectos letales en el sitio S3, esta vez, con la supervivencia de aproximadamente el 50% de los organismos ensayados. De igual manera, entre los otros 4 sitios de muestreo no hubo diferencias, nuevamente, con supervivencias del 80%.

Tal como se mencionó antes, durante CHP3 no se detectaron plaguicidas producto de las lluvias. Tampoco se observaron efectos letales sobre los organismos de ensayo en las muestras de sedimentos ensayados. A pesar de esto, en la siguiente campaña CHP4 se volvieron a registrar efectos letales, con mortalidad de los anfípodos en los sitios S1, S3, y S5. Entre estos sitios, S3 presentó el menor porcentaje de supervivencia, menor al 25%, mientras que en los otros dos sitios la supervivencia rondó al 40%.

Para los sedimentos de fondo muestreados en CHP5 se observó que los sitios S2 y S3 presentaron la mayor mortalidad, con supervivencias menores al 50%, diferenciándose estadísticamente de S4 y S5, con valores promedio del 75%. Los sedimentos del S1 no fueron analizados al no poder obtener la cantidad suficiente para llevar a cabo, como mínimo, tres réplicas durante el ensayo. Finalmente, en la última campaña CHP6, lo mismo que en la anterior ocurrió para el S1. En el resto de los sitios de CHP6, se observó una supervivencia

promedio del 60% para el S2 y en los demás sitios, S3 a S5, una supervivencia del 0% de *H. curvispina*.

### 6.3.2 Inhibición de crecimiento en el Cordón Hortícola Platense

Se evaluó cuan inhibido fue el crecimiento de los organismos de ensayo respecto del crecimiento de los organismos expuestos al sitio control negativo. Dicha evaluación se llevó a cabo sobre aquellos organismos sobrevivientes de sitios donde la supervivencia promedio haya sido mayor al 50%.

Los resultados de las pruebas de normalidad de la variable transformada y los ANOVA para explorar diferencias respecto del sitio control se presentan en la **Tabla 6.3**. Los porcentajes de inhibición de crecimiento en cada sitio se grafican en la **Figura 6.12** para CHP1, **Figura 6.13** para CHP2, **Figura 6.14** para CHP3, **Figura 6.15** para CHP4, **Figura 6.16** para CHP5, y **Figura 6.17** para CHP6.

*Tabla 6.3. Resultados (p-valor) de las pruebas estadísticas realizadas sobre los datos de crecimiento de los bioensayos sobre sedimentos del CHP.*

Campaña	Prueba de Levene	Distribución	ANOVA
<b>CHP1</b>	0,9990	Normal	0,1210
<b>CHP2</b>	0,6966	Normal	0,0165
<b>CHP3</b>	0,4393	Normal	<0,0001
<b>CHP4</b>	0,1677	Normal	<0,0001
<b>CHP5</b>	0,2537	Normal	0,8239
<b>CHP6</b>	NA	NA	NA

NA: no analizado.

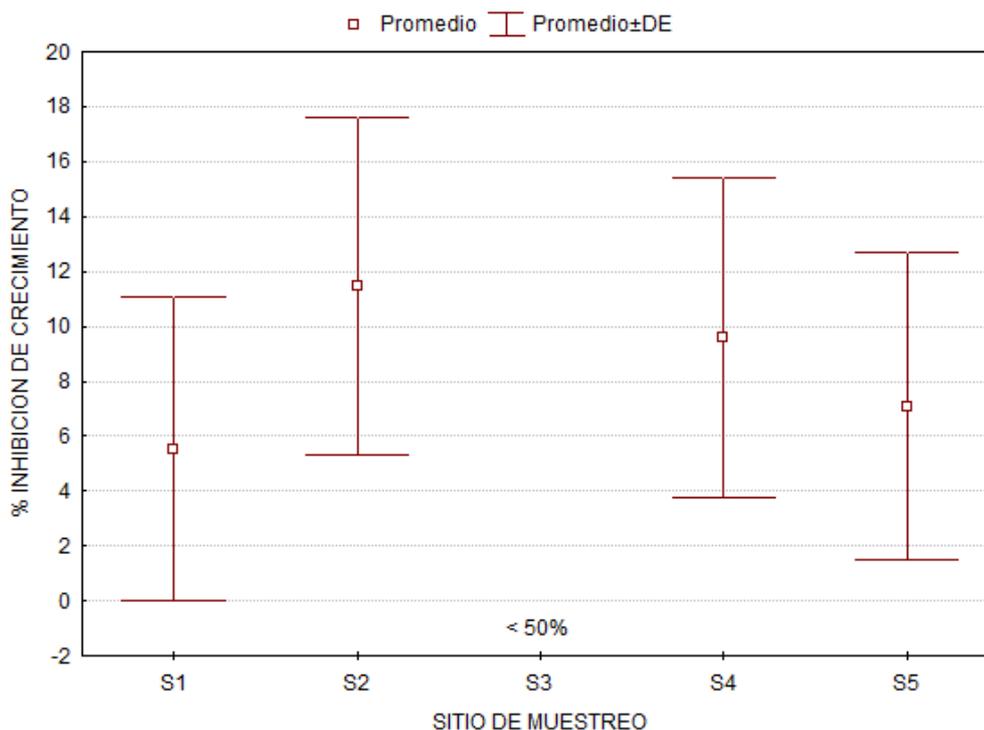


Figura 6.12. Promedio y desviación estándar (DE) del porcentaje de inhibición del crecimiento de *H. curvispina* después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo CHP1. El crecimiento no fue medido donde la supervivencia fue menor al 50% (<50%).

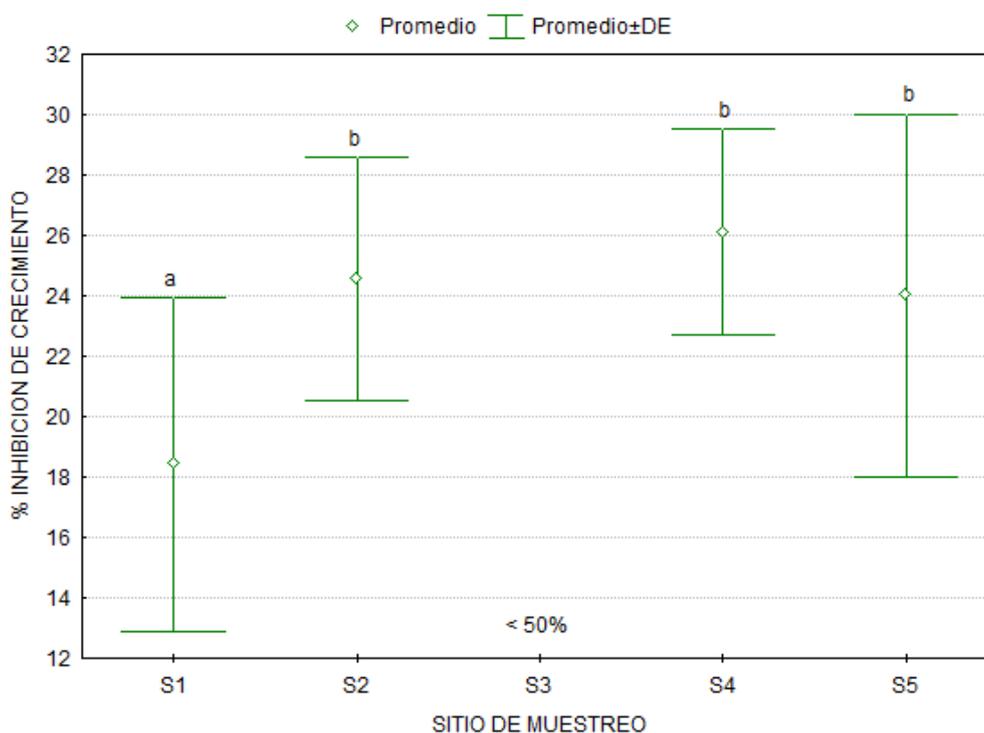


Figura 6.13. Promedio y desviación estándar (DE) del porcentaje de inhibición del crecimiento de *H. curvispina* después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo CHP2. El crecimiento no fue medido donde la supervivencia fue menor al 50% (<50%). Las letras indican diferencias significativas respecto del control negativo ( $p < 0,05$ ).

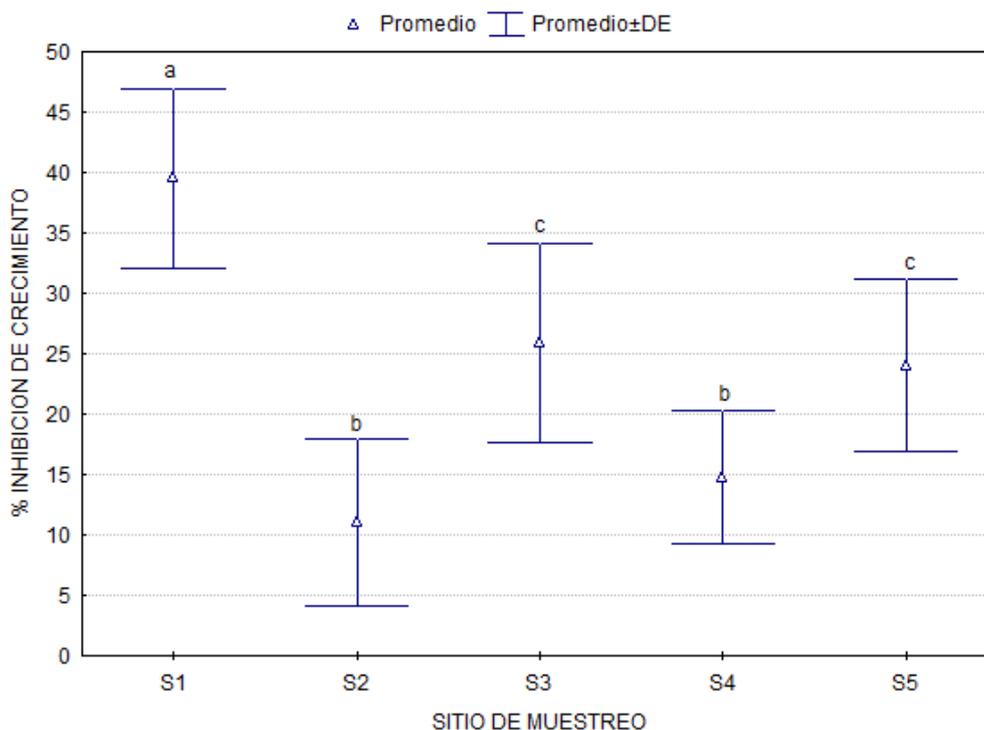


Figura 6.14. Promedio y desviación estándar (DE) del porcentaje de inhibición del crecimiento de *H. curvispina* después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo CHP3. Las letras indican diferencias significativas respecto del control negativo ( $p < 0,05$ ).

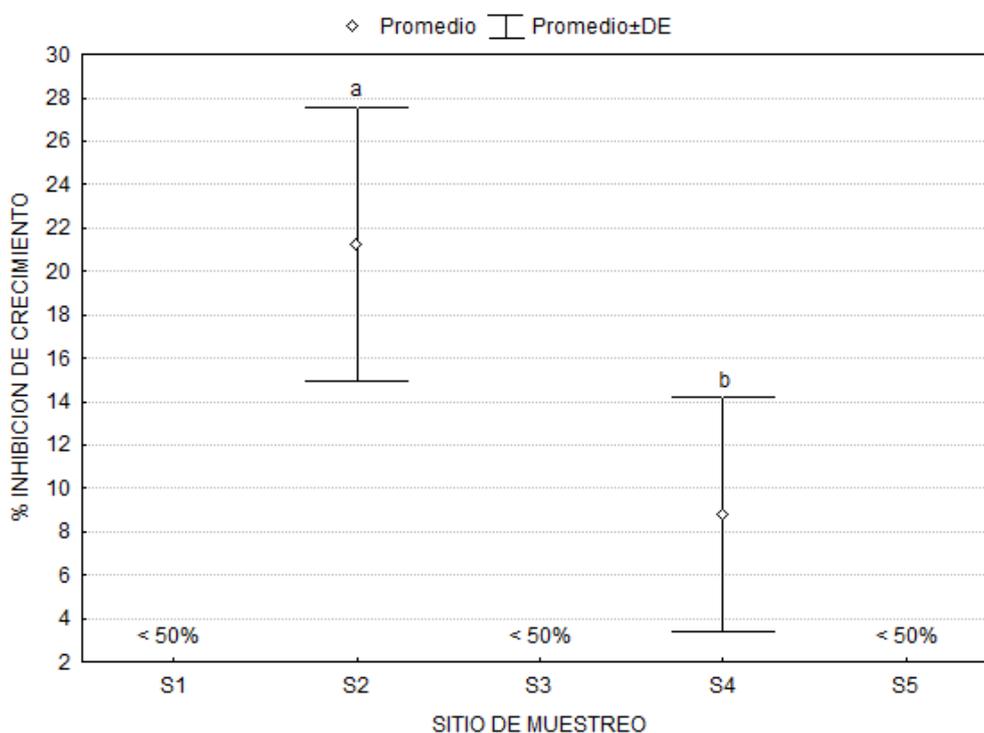


Figura 6.15. Promedio y desviación estándar (DE) del porcentaje de inhibición del crecimiento de *H. curvispina* después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo CHP4. El crecimiento no fue medido donde la supervivencia fue menor al 50% (< 50%). Las letras indican diferencias significativas respecto del control negativo ( $p < 0,05$ ).

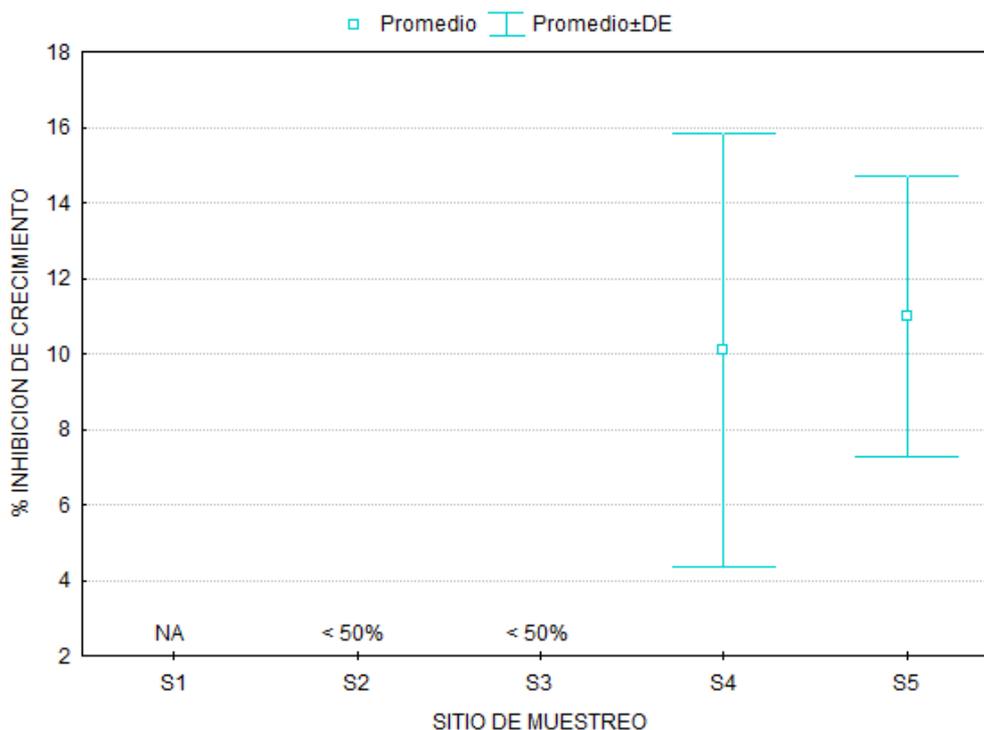


Figura 6.16. Promedio y desviación estándar (DE) del porcentaje de inhibición del crecimiento de *H. curvispina* después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo CHP5. NA: No analizado. El crecimiento no fue medido donde la supervivencia fue menor al 50% (<50%).

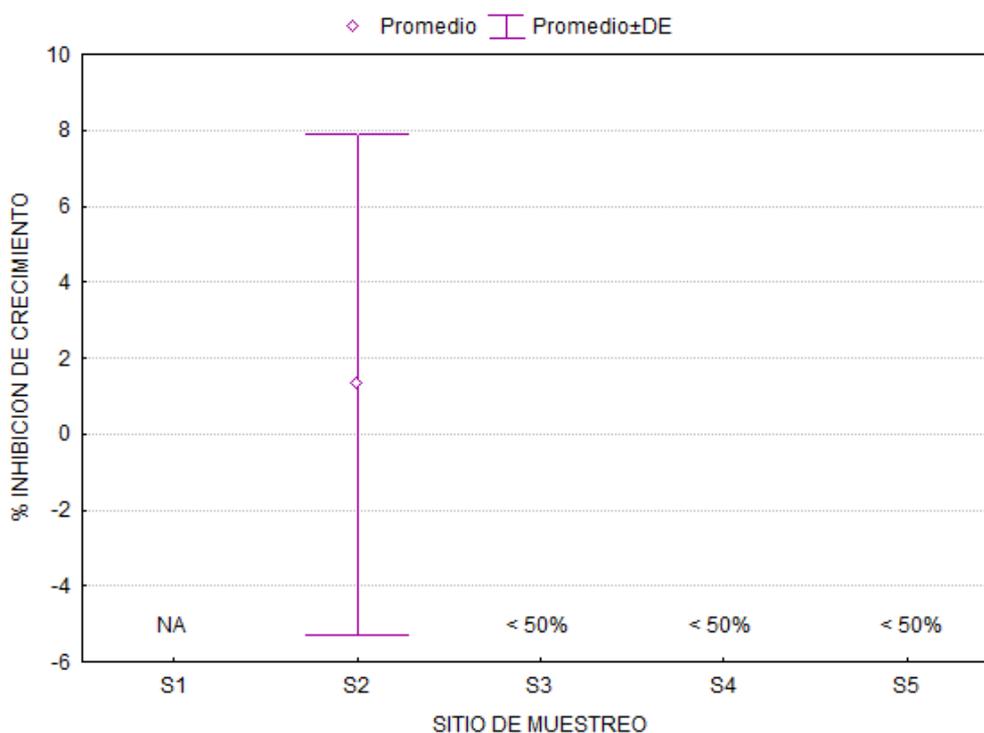


Figura 6.17. Promedio y desviación estándar (DE) del porcentaje de inhibición del crecimiento de *H. curvispina* después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo CHP6. NA: No analizado. El crecimiento no fue medido donde la supervivencia fue menor al 50% (<50%).

En general, los sedimentos del CHP tuvieron un efecto negativo sobre los organismos de ensayo, inhibiendo su crecimiento en la mayoría de las campañas de muestreo. Durante CHP1, la inhibición resultó ser, en promedio, menor al 10%, en los sitios donde CLP fue encontrado (hasta  $528 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ ). De manera similar, en CHP2, donde también la supervivencia en S3 fue menor al 50%, se volvió a registrar inhibición, pero en un mayor grado, en los sitios donde menos de  $15 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  de CYP fue cuantificada. Entre estas dos campañas se puede apreciar cuán más sensibles son los organismos de ensayo a los insecticidas piretroides respecto a los organofosforados.

Un resultado contradictorio se obtuvo para el ensayo realizado con sedimentos del CHP3, ya que, a pesar de que no se detectaron plaguicidas, los porcentajes de inhibición llegaron a valores del 40% respecto del control. Debido a la situación particular de ese escenario, con lluvias de más de 150 mm, no fue posible asociar a alguno de los parámetros o características del medio determinadas en la presente tesis.

Nuevamente, las concentraciones del CLP en sedimentos de los sitios S4 y S5 de CHP5 llevaron a la inhibición de alrededor el 10% del crecimiento, pero sin generar efectos letales. Es importante notar que en CHP5-S4, se encontraron  $53,1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  de  $\lambda$ -CIAL, y no así en el S5. Aunque el promedio en el porcentaje de inhibición del último sitio resultó ser levemente mayor, la variabilidad del S4 fue mayor, mostrando algún tipo de efecto del piretroide sobre el crecimiento normal. Finalmente, en CHP6, S1 no fue ensayado, y la mortalidad en los sitios S3, S4 y S5 fue mayor al 50%, solo se pudo determinar la longitud de los organismos recolectados después del ensayo del S2. En esta ocasión fue que por primera vez se pudo observar un porcentaje de inhibición negativo, es decir, un incremento en el crecimiento,

pero menor al 5% en algunos de los organismos, aunque sin diferencias respecto del control negativo.

Este mismo punto final con este mismo tipo de exposición y organismo fue evaluador para sedimentos de la cuenca del río Paraná (Peluso, Abelando, et al., 2013), donde se pudieron ver sitios afectados por la agricultura, y en consecuencia, por plaguicidas, los que presentaron un menor crecimiento. Estas diferencias en el crecimiento pueden llegar a generar impactos negativos sobre la estructura poblacional, potencialmente viéndose una reducción de la fecundidad y el reclutamiento, así como una resistencia reducida a otros estresores a medida que aumentan las demandas de energía homeostática para hacer frente al estrés de los contaminantes (Amweg et al., 2005) .

### 6.3.3 Unidades tóxicas

No existen niveles guía de calidad de sedimentos. Entonces, una forma sencilla de poder contrastar la concentración encontrada en una muestra ambiental con la toxicidad observada es mediante el uso de las unidades tóxicas (UT). Una UT equivale a la concentración del plaguicida en el sedimento, normalizada por el contenido de carbono orgánico, dividida por la  $LC_{50}$  del organismo de ensayo (**Ecuación 6.1**).

$$UT = \frac{\text{Concentración en sedimento } \left( \mu\text{g} / \text{g } C_{\text{orgánico}} \right)}{LC_{50} \left( \mu\text{g} / \text{g } C_{\text{orgánico}} \right)}$$

*Ecuación 6.1. Cálculo de las Unidades Tóxicas (UT).*

El enfoque de la unidad tóxica, similar al enfoque RQ empleado para aguas (sección 4.2.3.1), propuesto por primera vez por Sprague & Ramsay (1965), fue desarrollado por Höss et al.

(2011) para evaluar la toxicidad de mezclas complejas en sedimentos para diferentes organismos. Basado en el modelo de adición de concentración para la toxicidad de la mezcla, las UTs permiten la estimación de la toxicidad acumulada en el sedimento para organismos de ensayo. Estrictamente hablando, el modelo de adición y, por lo tanto, el concepto de UT es válido solo para compuestos con modos de acción similar, mientras que los tóxicos con modos de acción diferentes siguen el modelo de acción independiente (Hernández et al., 2017). Sin embargo, los datos de efecto requeridos para un cálculo de la toxicidad de la mezcla según la acción independiente difícilmente se encuentran disponibles, y para facilitar el proceso, se ha aceptado para las mezclas de plaguicidas, la aplicación de la adición de concentración (Massei et al., 2018).

La toxicidad de los plaguicidas en los sedimentos depende en gran medida del contenido de carbono orgánico (Hunt et al., 2017; You et al., 2008), por lo tanto, las concentraciones se normalizaron respecto del mismo para calcular los valores de UT. En la bibliografía internacional no se encuentran publicados valores de  $LC_{50}$  en sedimentos para estas especies nativas. Es por eso que los valores de  $LC_{50}$  usados en este trabajo fueron los del anfípodo *Hyalella azteca*, el cual se sabe que es muy sensible a piretroides y CLP (Weston & Lydy, 2010a). Aunque *H. azteca* no es una especie que se encuentra en Sudamérica, varias especies estrechamente relacionadas, como *H. curvispina*, *H. pampeana*, o *H. pseudoazteca* son importantes componentes de las comunidades de invertebrados acuáticos de la región. Al mismo tiempo, en la bibliografía consultada, únicamente se encontraron valores de  $LC_{50}$  reportados para algunos insecticidas, mas no para herbicidas o fungicidas. Dado que el modelo aditivo es el utilizado para predecir la toxicidad de las mezclas de plaguicidas, la

sumatoria de las UT ( $\Sigma$ UT) se utilizó para evaluar la toxicidad (Weston et al., 2004). Los resultados de las UT se presentan en la **Tabla 6.4**.

Tabla 6.4. Unidades tóxicas para sedimentos del CHP.

Campaña	Sitio	UT				$\Sigma$ UT
		CYP	$\lambda$ -CIAL	CLP	END	
<b>LC<sub>50</sub> (<math>\mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{Corg}}^{-1}</math>)</b>		0,38 <sup>1</sup>	0,45 <sup>1</sup>	1,77 <sup>2</sup>	51,7 <sup>3</sup>	
<b>CHP1</b>	<b>S1</b>			1,16		1,16
	<b>S2</b>			3,34		3,34
	<b>S3</b>		31,20	27,60		58,80
	<b>S4</b>			3,41		3,41
	<b>S5</b>			1,85		1,85
<b>CHP2</b>	<b>S1</b>	0,42			0,01	0,42
	<b>S2</b>	0,40	0,29			0,69
	<b>S3</b>	0,29	0,09		0,01	0,38
	<b>S4</b>	0,22	0,15			0,37
	<b>S5</b>	0,78	0,13			0,91
<b>CHP3</b>	<b>S1-S5</b>					
<b>CHP4</b>	<b>S1</b>		26,12			26,12
	<b>S2</b>					
	<b>S3</b>		63,63			63,63
	<b>S4</b>					
	<b>S5</b>		45,53			45,53
<b>CHP5</b>	<b>S1</b>		9,80			9,80
	<b>S2</b>		5,08	1,30		6,39
	<b>S3</b>		16,08	1,95		18,04
	<b>S4</b>		4,04	1,35		5,39
	<b>S5</b>			2,41		2,41
<b>CHP6</b>	<b>S1</b>	NA	NA	NA	NA	NA
	<b>S2</b>			4,07		4,07
	<b>S3</b>	47,34	90,44	2,40		140,18
	<b>S4</b>	63,40	53,88	5,64		122,93
	<b>S5</b>	118,00		3,83		121,83

<sup>1</sup> Weston, Ding, Zhang, & Lydy (2013)

<sup>2</sup> Amweg & Weston (2007)

<sup>3</sup> You, Schuler, & Lydy (2004)

NA: No analizado.

En el 86% de los sedimentos de fondo, la  $\Sigma$ UT fue mayor a 0,5, y en el 36% fue mayor a 10 UT.

Weston & Lydy (2010) encontraron que, para *H. azteca*, la mortalidad se incrementa cuando las UTs alcanzan el valor de 0,5 y llega al 100% alrededor de las 10 UT. Esto significa, que para

la cuenca del arroyo Carnaval en la periferia hortícola de la ciudad de La Plata, las concentraciones de insecticidas encontradas en sedimentos son capaces de causar la mortalidad de los anfípodos.

Es así como en CHP1, por ejemplo, sólo se detectó mortalidad de todos los organismos ensayados en el S3, donde la carga de plaguicidas significó más de 50 UT – sin contabilizar el efecto negativo de los otros plaguicidas, como TRF o AZX, también allí detectados. En contraste, en los restantes sitios no se registraron efectos letales a pesar de que había más de 1 UT para CLP. Sin embargo, y aunque no llegaron a detectarse diferencias significativas respecto del crecimiento, en los sitios S2 y S4 el valor medio fue menor que en los S1 y S5. De forma similar, en los primeros se encontraron alrededor de 3,4 UT, y 1,5 UT en los segundos. Estos resultados están en concordancia entre lo encontrado y lo observado.

En CHP4, con los sitios impares presentando más de 25 UT para  $\lambda$ -CIAL, no se registró mortalidad del 100% de *H. curvisipina*, pero sí donde había mayor concentración se observó una mayor mortalidad (S3). Si bien se esperaba la mortalidad del 100% de los organismos, al superar las 10 UT, es importante remarcar que dicha observación se realizó con ensayos y valores de  $LC_{50}$  y UT calculados con datos de *H. azteca*. La diferencia entre la toxicidad esperada y la toxicidad observada es un posible efecto sinérgico entre  $\lambda$ -CIAL y CLP (Phillips et al., 2006): en CHP1-S3 se detectaron  $\lambda$ -CIAL y CLP, entre ambos insecticidas sumando casi 60 UT, y una mortalidad del 100%, mientras que en CHP4-S3 también contaba con 60 UT, aportadas únicamente por  $\lambda$ -CIAL, y sin embargo la mortalidad observada no fue del 100%. Entonces, para una misma cantidad total de UT y siendo el mismo sitio de muestreo, en CHP1 la mortalidad fue mayor, por el efecto combinatorio de CLP y  $\lambda$ -CIAL. La identificación de

plaguicidas responsables de interacciones sinérgicas es de suma importancia para la evaluación de riesgos (Hernández et al., 2017).

Finalmente, en CHP6, las concentraciones de CYP,  $\lambda$ -CIAL, y CLP fueron tales que se superaron las 120 UT en sedimentos, causando la mortalidad de todos los organismos ensayados.

### 6.3.3.1 Modelado de Unidades Tóxicas y mortalidad observada

Más aún, las UT totales y la mortalidad promedio en cada muestra se graficó en la **Figura 6.18**. Con los pares de datos obtenidos, fue posible realizar un ajuste que, a partir de la medición química de concentraciones de plaguicidas en los sedimentos, permita predecir cuál será la toxicidad esperada para los mismos. El modelo que se presenta es aquel que mostró la mayor bondad de ajuste (Prueba  $\chi^2$  de Pearson;  $p < 0,005$ ).

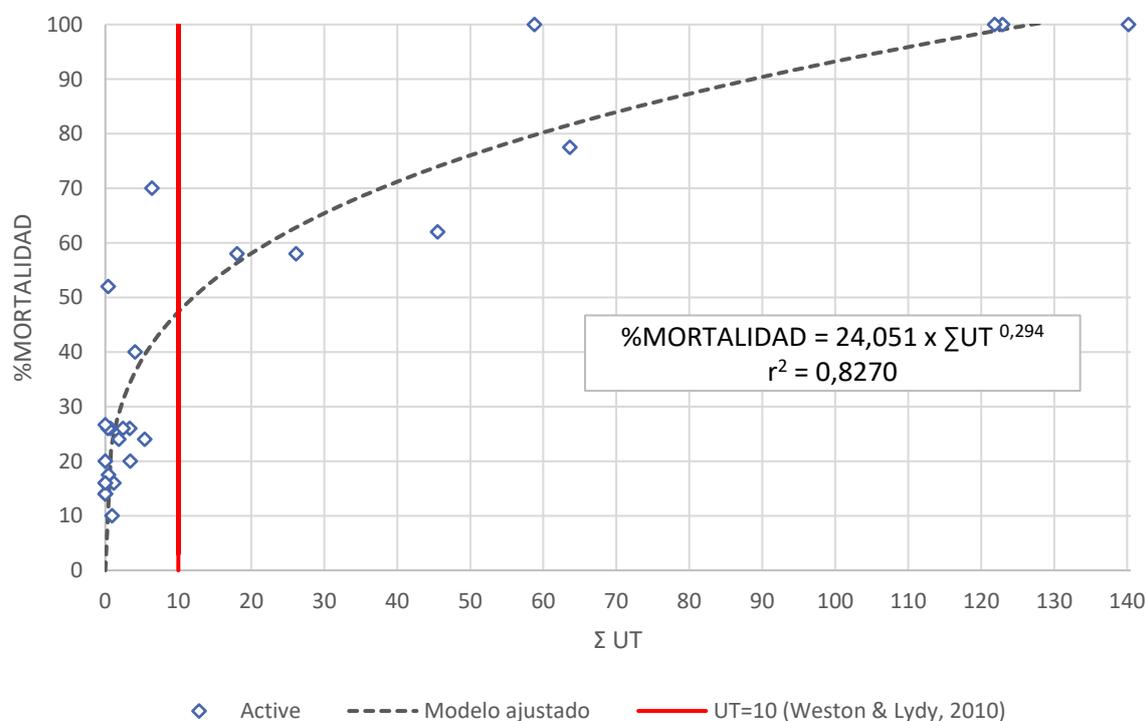


Figura 6.18. Modelo de regresión de suma de Unidades Tóxicas y mortalidad observada.

Con este modelo, es posible, por ejemplo, calcular la toxicidad esperada para los sedimentos del sitio S1 de la campaña CHP5, que se analizaron para residuos de plaguicidas, pero no fue posible recolectar la cantidad suficiente para llevar a cabo los bioensayos de exposición en el laboratorio. Con 9,80 UT en estos sedimentos, producto de haber cuantificado  $403,7 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  del piretroide  $\lambda$ -CIAL, se puede predecir una mortalidad casi del 50% de los organismos expuestos a este sedimento ( $r^2=0,8270$ ;  $p=0,0063$ ).

### 6.3.1 Análisis de Componentes Principales

La relación entre efectos letales y subletales, concentraciones de plaguicidas y propiedades de los sedimentos de todas las campañas se exploró mediante PCA, que agrupó las 15 variables en un número igual de factores. En la **Tabla 6.5** se presentan los eigenvalues, variabilidad, y carga de cada variable sobre los factores de los primeros 5, con eigenvalue >1 (principio de Kaiser) y variabilidad >10%, acumulando el 76,79% de la variabilidad. La tabla completa (**Tabla A2**), con los 15 factores resultantes del PCA, se presenta en el **Anexo**. En la **Tabla 6.6** se muestra la matriz de correlación de Spearman resultante del PCA.

El primer factor, F1, representó 24,31% de la variabilidad y las concentraciones del herbicida GLY y su metabolito ambiental AMPA, así como con la humedad y el contenido de materia orgánica de los sedimentos contribuyeron de forma positiva a ésta, mientras que la concentración del herbicida ATZ lo hizo de forma negativa. El siguiente factor, F2, representó el 15,59% de la variabilidad observada, y fueron ATC y EPX, ambos compuestos siendo los de menor frecuencia de detección en los sedimentos, quienes aportaron de forma positiva a este factor. F3 tuvo una variabilidad similar a F2, con el 14,41% y fue solamente %SUPERV. quien

contribuyó de forma negativa, y las concentraciones de  $\lambda$ -CIAL y CLP con una carga positiva sobre F3. En la siguiente variable, F4, las concentraciones de CYP y TRF tuvieron una mayor representación positiva y negativamente, respectivamente. Finalmente, la única variable que aportó a F5 fue %INHIB.

*Tabla 6.5. Eigenvalues, variabilidad, y carga de cada variable sobre los factores F1 a F5 del PCA para resultados de bioensayos de toxicidad, concentraciones de plaguicidas en sedimentos del CHP.*

	F1	F2	F3	F4	F5
<b>Eigenvalue</b>	3,6466	2,3386	2,1621	1,8500	1,5215
<b>Variabilidad (%)</b>	24,3107	15,5905	14,4143	12,3333	10,1434
<b>%SUPERVIVENCIA</b>	-0,3082	0,1159	<b>-0,6972</b>	-0,5287	0,1388
<b>%INHIBICION</b>	0,4578	0,1276	0,0586	0,2793	<b>0,6239</b>
<b>GLY</b>	<b>0,7585</b>	0,1176	-0,1037	0,1590	-0,4773
<b>AMPA</b>	<b>0,6374</b>	0,5887	-0,2802	-0,2275	-0,1274
<b>TRF</b>	0,4032	0,0950	0,4551	<b>-0,4896</b>	-0,4227
<b>ATZ</b>	<b>-0,7099</b>	0,4369	0,1934	0,0458	0,0004
<b>ATC</b>	-0,1428	<b>0,8156</b>	0,0022	0,3714	0,0150
<b>CYP</b>	0,3739	-0,4782	-0,1475	<b>0,7145</b>	-0,0340
<b><math>\lambda</math>-CIAL</b>	0,4725	0,2765	<b>0,5695</b>	0,2905	-0,3039
<b>CLP</b>	-0,3703	-0,3957	<b>0,7348</b>	-0,0433	0,2200
<b>END</b>	0,0695	-0,2398	-0,4215	0,1918	-0,2378
<b>EPX</b>	-0,4021	<b>0,7002</b>	-0,0427	0,3701	0,1221
<b>AZX</b>	0,3727	-0,1704	-0,2086	0,2891	0,2881
<b>%H</b>	<b>0,5941</b>	0,2027	0,1174	-0,1522	0,4994
<b>%Corg</b>	<b>0,7177</b>	0,0614	0,0861	-0,3981	0,3798

*Los valores en negrita corresponden para cada variable al factor para el cual la calidad de representación es mayor.*

El biplot obtenido del PCA, definido por los dos primeros factores se muestra en la **Figura 6.19**, representando casi el 40% de la variabilidad total del conjunto de datos. Según la matriz de correlación de Spearman, %SUPERVIVENCIA presentó una correlación negativa con la concentración del piretroide  $\lambda$ -CIAL (-0,6823), por lo que se puede concluir que, en los muestreos realizados en el CHP, es este insecticida piretroide – utilizado en la actividad hortícola – el que probablemente estuvo asociado a los efectos letales observados. Estas variables se encuentran, respecto de F1 (eje-x), en sectores contrarios.

Tabla 6.6. Matriz de correlación de Spearman para los datos del CHP.

Variables	%SUPERV.	%INH.	GLY	AMPA	TRF	ATZ	ATC	CYP	λ-CIAL	CLP	END	EPX	AZX	%H	%Corg
%SUPERV.	<b>1</b>														
%INH.	-0,1840	<b>1</b>													
GLY	-0,2704	0,1457	<b>1</b>												
AMPA	0,1247	0,1721	<b>0,5787</b>	<b>1</b>											
TRF	-0,1645	-0,1045	0,4008	0,2929	<b>1</b>										
ATZ	0,0742	-0,2797	<b>-0,5543</b>	-0,1696	-0,2026	<b>1</b>									
ATC	-0,0808	0,0169	0,0321	0,2571	-0,1643	<b>0,4157</b>	<b>1</b>								
CYP	-0,4119	0,2420	0,4009	-0,1429	-0,2969	<b>-0,5027</b>	-0,1512	<b>1</b>							
λ-CIAL	<b>-0,6823</b>	0,1842	0,4007	0,2820	<b>0,4213</b>	-0,0139	0,2012	0,1243	<b>1</b>						
CLP	-0,4075	-0,1341	<b>-0,5017</b>	<b>-0,6872</b>	0,1130	0,2055	-0,2180	-0,0752	-0,0046	<b>1</b>					
END	0,1545	-0,1972	0,0889	0,0667	-0,2375	-0,2186	-0,0657	0,2994	-0,1761	-0,3152	<b>1</b>				
EPX	0,0955	0,1526	-0,1758	0,0162	-0,2375	<b>0,4704</b>	<b>0,7230</b>	-0,2186	0,0011	-0,0949	-0,0950	<b>1</b>			
AZX	-0,0686	0,2924	0,1317	0,1042	-0,0771	-0,1314	-0,1115	0,3587	0,0884	-0,1967	0,1626	-0,1612	<b>1</b>		
%H	-0,0969	0,3623	0,2110	<b>0,4605</b>	0,1218	-0,3730	0,1607	0,0720	0,1490	0,0263	-0,1435	-0,1233	0,1330	<b>1</b>	
%Corg	-0,0865	<b>0,4240</b>	0,2254	<b>0,5030</b>	0,3311	<b>-0,4357</b>	-0,1607	-0,1278	0,2289	-0,1181	-0,0222	-0,3657	0,2551	<b>0,6344</b>	<b>1</b>

Los valores en negrita son diferentes de 0 con un nivel de significancia  $\alpha=0,05$ .

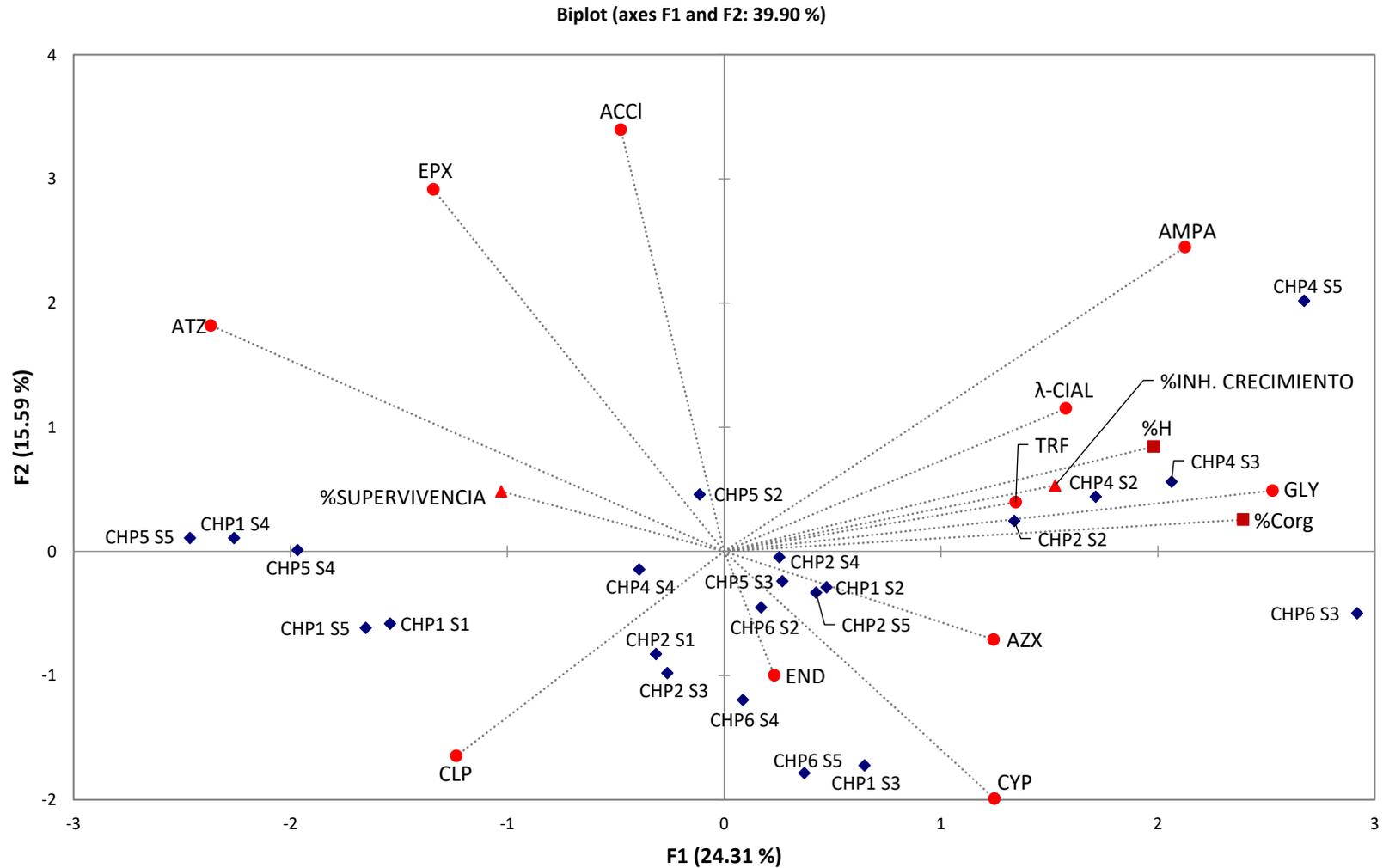


Figura 6.19. Biplot del PCA entre puntos finales de bioensayos (triángulos rojos), concentraciones de plaguicidas en sedimentos (círculos rojos), propiedades de los sedimentos (cuadrados bordó) y los sitios de muestra de cada campaña del CHP (rombos azules). En la figura, el primer componente principal (F1) se traza en la ordenada y el segundo componente principal (F2) en abscisa.

Para sedimentos de fondo de la cuenca del río Luján, al noreste de la provincia de Buenos Aires, se realizaron ensayos de toxicidad con sedimento completo con *H. curvispina* como organismo prueba (Peluso, Bulus Rossini, et al., 2013). Las principales actividades de la zona son la agricultura (sector superior) e industrias (sector medio y bajo), por lo que los sedimentos fueron analizados por contenido de residuos de plaguicidas y metales. Si bien en este estudio la presencia de metales fue identificada como el principal causante de la toxicidad observada, muchos de ellos presentes en concentraciones por encima de sus niveles de efecto umbral, es importante mencionar tres sitios del sector superior donde la cantidad de metales se encontraba por debajo de los niveles umbrales, pero sí se encontraron plaguicidas, específicamente, el piretroide CYP. En uno de estos sitios, con una concentración de  $30,1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ , la supervivencia promedio fue un poco mayor al 40%.

## 6.4 Resultados ecotoxicológicos de la cuenca del río Gualeguay

Como se presentó previamente, las precipitaciones durante la campaña GUA1 imposibilitaron el acceso a algunos de los sitios de muestreo debido a las condiciones de los caminos de tierra. En GUA2, al sitio del Arroyo Arrecifes (A°A) no se pudo acceder por las malas condiciones del camino. En GUA4, el curso de agua cercano a la zona de *feedlots* (FL) se encontraba seco, por lo que no fue posible obtener muestras de allí.

### 6.4.1 Supervivencia en la cuenca del río Gualeguay

En la **Tabla 6.7** se muestran el número de organismos sobrevivientes de cada réplica registrados de los ensayos de toxicidad realizados sobre sedimentos directo con *H. curvispina*, así como la supervivencia promedio y la desviación estándar porcentual, para los distintos

sitios y campañas de muestreo llevadas a cabo con sedimentos de fondo de la cuenca del río Gualeguay.

*Tabla 6.7. Resultados de supervivencia de H. curvispina, después de 10 días de exposición a sedimentos de las campañas de muestreo de la cuenca del río Gualeguay-GUA.*

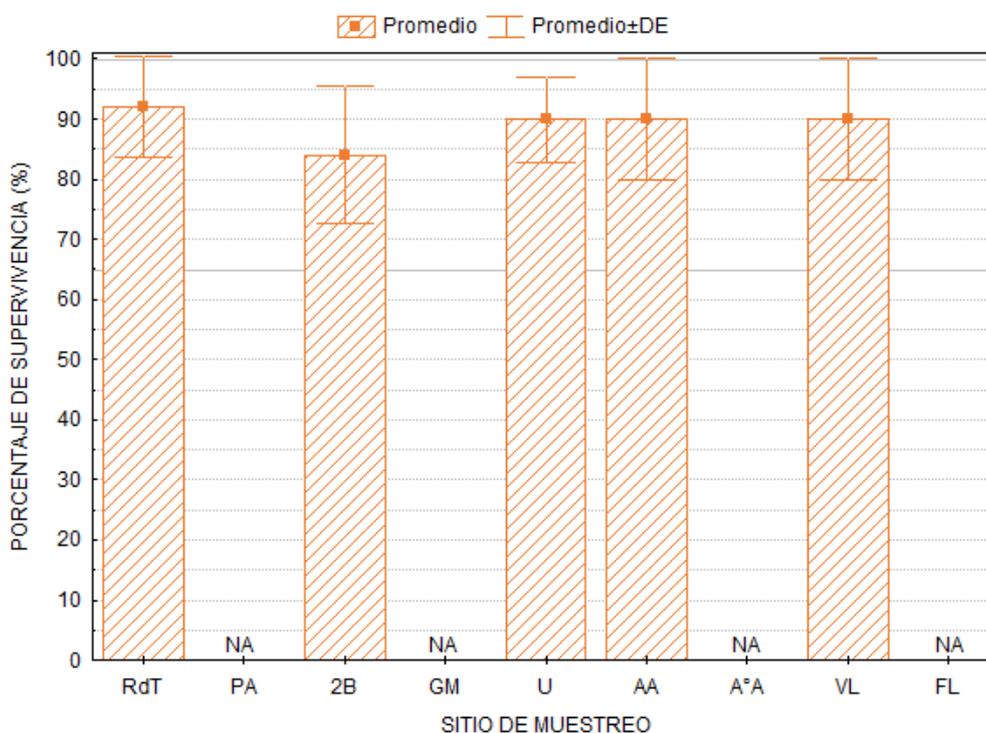
	Sitio	Réplicas					Número de réplicas	Supervivencia (%)	Desvío Estándar (%)
		A	B	C	D	E			
GUA1	RdT	9	8	10	9	10	5	92%	8%
	PA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	2B	8	9	8	7	10	5	84%	11%
	GM	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	U	10	9	8	9	9	5	90%	7%
	AA	10	10	8	8	9	5	90%	10%
	A°A	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	VL	8	9	10	8	10	5	90%	10%
FL	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
GUA2	RdT	9	9	7	8	SR	4	83%	10%
	PA	9	10	9	10	9	5	94%	5%
	2B	8	7	7	7	8	5	74%	5%
	GM	10	10	10	10	9	5	98%	4%
	U	9	10	10	9	10	5	96%	5%
	AA	10	9	10	10	8	5	94%	9%
	A°A	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	VL	10	9	9	8	8	5	88%	8%
FL	9	10	10	9	10	5	96%	5%	
GUA3	RdT	9	9	8	9	10	5	90%	7%
	PA	10	10	9	10	9	5	96%	5%
	2B	10	10	9	9	10	5	96%	5%
	GM	10	10	10	10	9	5	98%	4%
	U	10	10	10	10	10	5	100%	0%
	AA	10	10	10	10	10	5	100%	0%
	A°A	9	9	10	9	10	5	94%	5%
	VL	10	9	9	10	10	5	96%	5%
FL	9	10	10	9	10	5	96%	5%	
GUA4	RdT	8	8	8	9	10	5	86%	9%
	PA	10	10	9	10	9	5	96%	5%
	2B	10	10	9	9	10	5	96%	5%
	GM	9	10	9	7	9	5	88%	11%
	U	10	10	9	10	9	5	96%	5%
	AA	10	10	8	9	10	5	94%	9%
	A°A	9	9	10	9	10	5	94%	5%
	VL	8	9	9	10	10	5	92%	8%
FL	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	

SR: Sin réplica; NA: No analizado.

Los resultados de las pruebas de normalidad para la variable supervivencia transformada y los ANOVA para explorar diferencias entre la supervivencia en los sedimentos de fondo de los sitios del río Gualeguay en comparación con la del sitio control se presentan en la **Tabla 6.8**. La supervivencia de cada sitio se grafica en la **Figura 6.20** para GUA1, **Figura 6.21** para GUA2, **Figura 6.22** para GUA3, y **Figura 6.23** para GUA4.

*Tabla 6.8. Resultados (p-valor) de las pruebas estadísticas realizadas sobre los datos de supervivencia de los bioensayos sobre sedimentos del CHP.*

Camp	Prueba de Levene	Distribución	ANOVA
<b>GUA1</b>	0,5711	Normal	0,9975
<b>GUA2</b>	0,2701	Normal	0,1284
<b>GUA3</b>	0,9910	Normal	0,1369
<b>GUA4</b>	0,8039	Normal	0,8150



*Figura 6.20. Promedio y desviación estándar (DE) de la supervivencia de H. curvispina, expresada en porcentaje, después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo GUA1. NA: No analizado.*

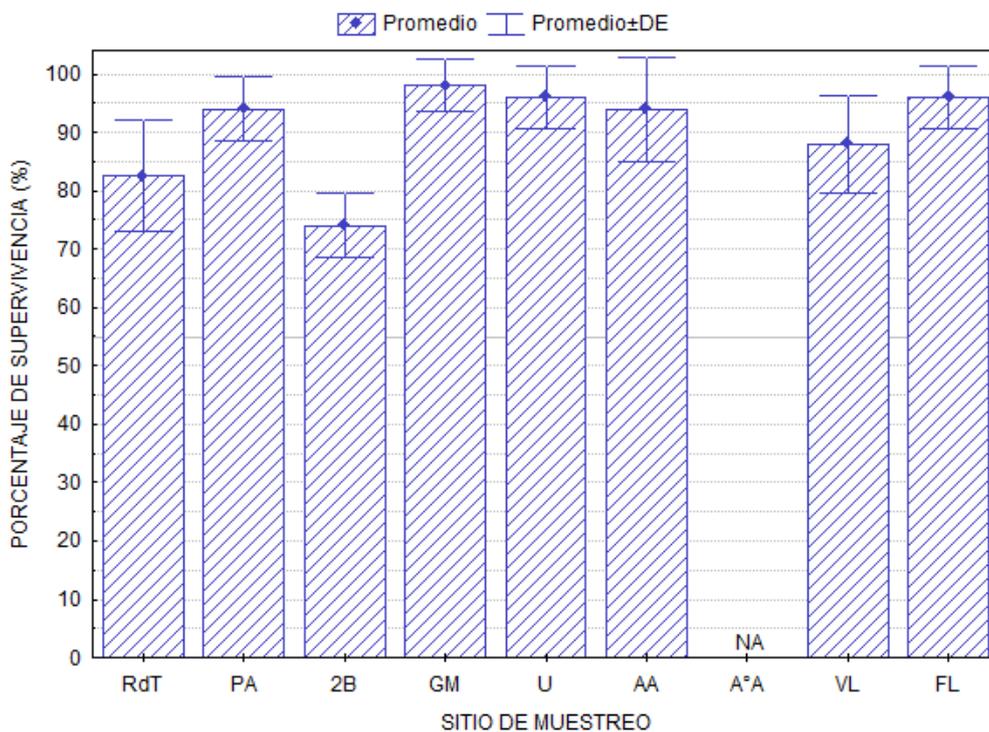


Figura 6.21. Promedio y desviación estándar (DE) de la supervivencia de *H. curvispina*, expresada en porcentaje, después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo GUA2. NA: No analizado.

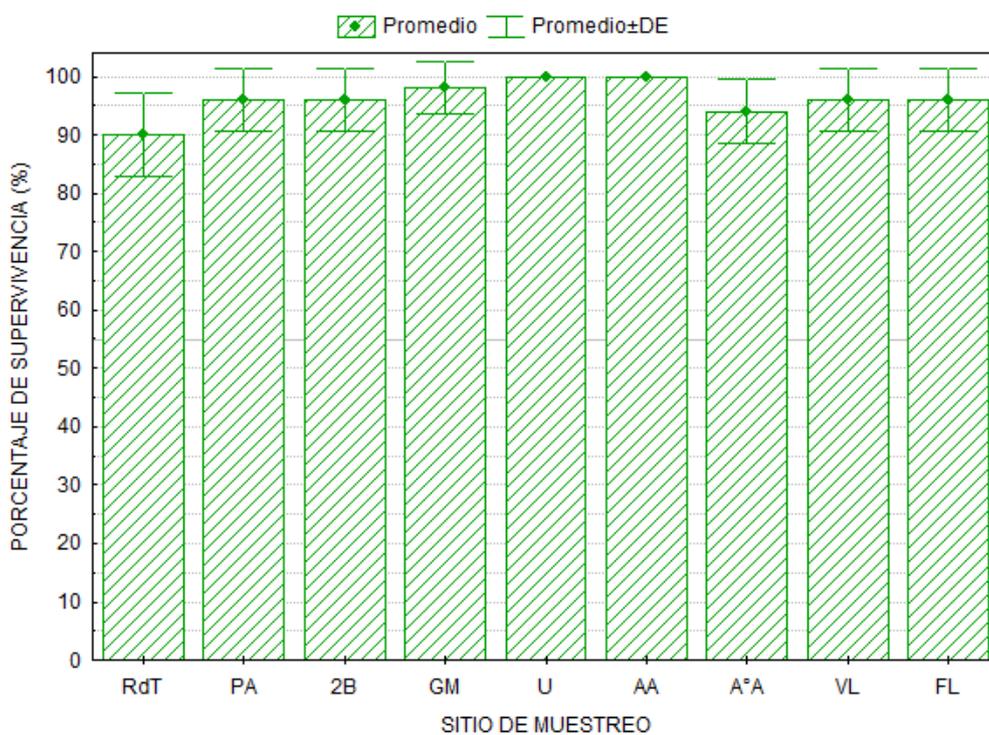


Figura 6.22. Promedio y desviación estándar (DE) de la supervivencia de *H. curvispina*, expresada en porcentaje, después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo GUA3.

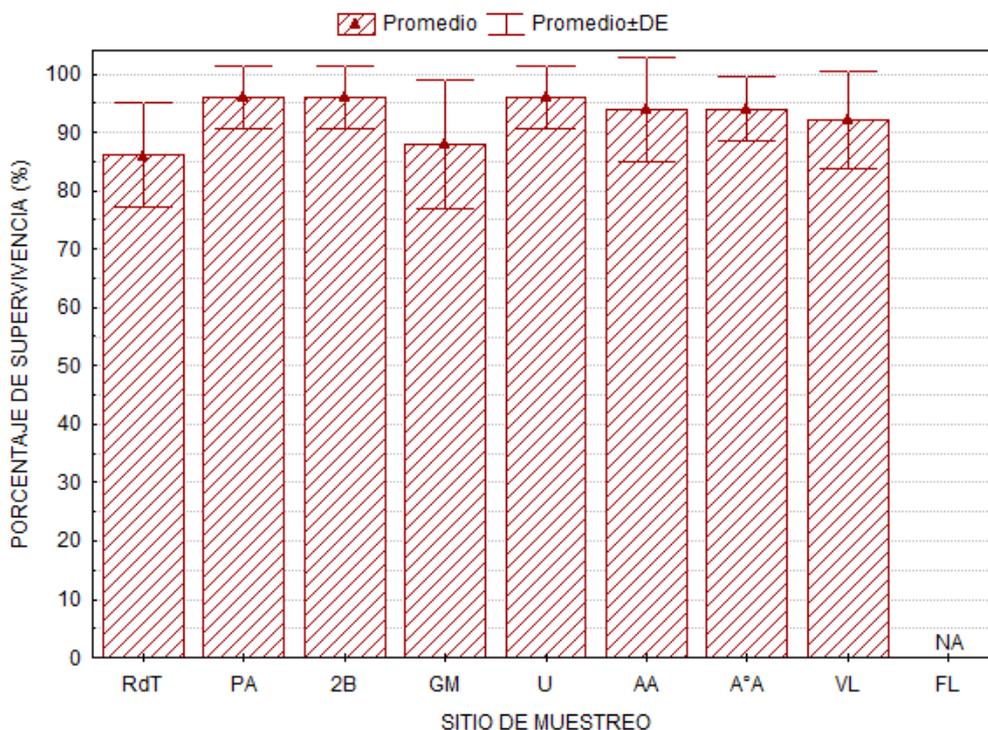


Figura 6.23. Promedio y desviación estándar (DE) de la supervivencia de *H. curvispina*, expresada en porcentaje, después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo GUA4. NA: No analizado.

La supervivencia en todas las campañas y sitios de muestreo fueron, en promedio, mayores al 90% - en algunas instancias alcanzando la supervivencia de todos los organismos en todas las réplicas ensayadas. No se encontraron diferencias significativas entre la supervivencia de los sitios de la cuenca del río Gualaguay con los respectivos controles realizados en cada campaña de muestreo. A pesar de haber cuantificado a los insecticidas CLP y  $\lambda$ -CIAL en algunos de los sedimentos de GUA1, las concentraciones de estos compuestos no causaron efectos letales sobre *H. curvispina* en las condiciones ensayadas, a pesar de ser una especie sensible a estos plaguicidas.

### 6.4.2 Inhibición de crecimiento en la cuenca del río Gualeguay

Se evaluó cuan inhibido fue el crecimiento de los organismos de ensayo respecto del crecimiento de los organismos expuestos al sitio control negativo.

Los resultados de las pruebas de normalidad de la variable transformada y las pruebas de Kruskal-Wallis para explorar diferencias respecto del sitio control se presentan en la **Tabla 6.9**. Los porcentajes de inhibición de crecimiento en cada sitio se grafican en la **Figura 6.24** para GUA1, **Figura 6.25** para GUA2, **Figura 6.26** para GUA3, y **Figura 6.27** para GUA4.

*Tabla 6.9. Resultados (p-valor) de las pruebas estadísticas realizadas sobre los datos de crecimiento de los bioensayos sobre sedimentos del GUA.*

Campaña	Prueba de Levene	Distribución	Prueba de Kruskal-Wallis
<b>GUA1</b>	0,0326	No Normal	0,2920
<b>GUA2</b>	0,0262	No Normal	0,2097
<b>GUA3</b>	0,0016	No Normal	0,0038
<b>GUA4</b>	0,0023	No Normal	0,0003

Los porcentajes de inhibición del crecimiento para este sistema rondaron alrededor del 10 a 15%, siendo mayor para la última campaña, GUA4. Diferencias significativas respecto del control se observaron en las últimas dos campañas de muestreo, en ambos casos, siendo el sitio GM el que presentó una menor inhibición del crecimiento respecto del resto. Dado que, del listado de plaguicidas analizados, únicamente se encontraron GLY y, se exploraron posibles relaciones entre las concentraciones de éstos, las propiedades de los sedimentos (humedad y contenido de materia orgánica) y el crecimiento, pero no se encontró ninguna relación estadísticamente significativa. Es entonces que, esta inhibición puede deberse a la misma variabilidad biológica, o factores externos no contemplados en el presente trabajo, como por ejemplo el acceso a alimento en los sedimentos ensayados.

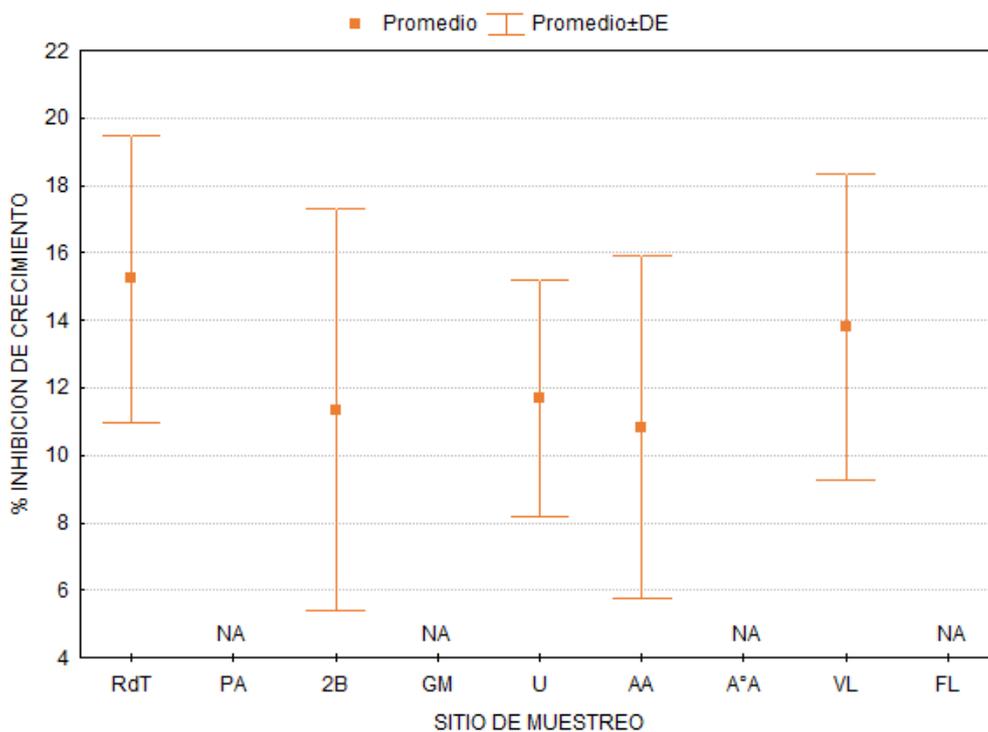


Figura 6.24. Promedio y desviación estándar (DE) del porcentaje de inhibición del crecimiento de *H. curvispina* después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo GUA1. NA: No analizado.

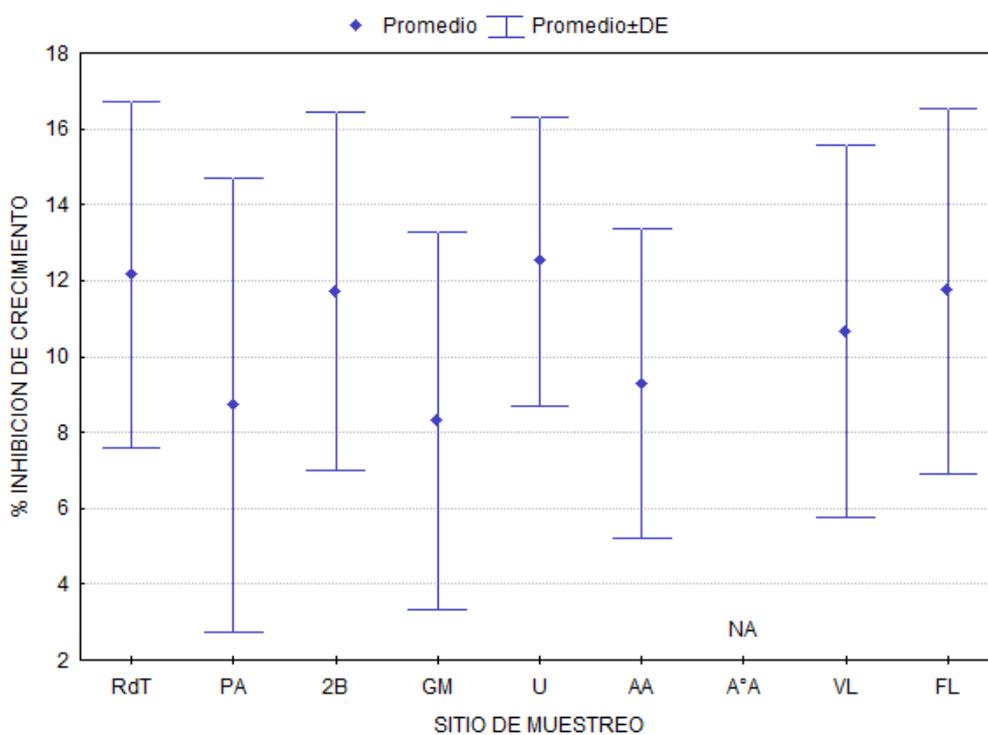


Figura 6.25. Promedio y desviación estándar (DE) del porcentaje de inhibición del crecimiento de *H. curvispina* después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo GUA2. NA: No analizado.

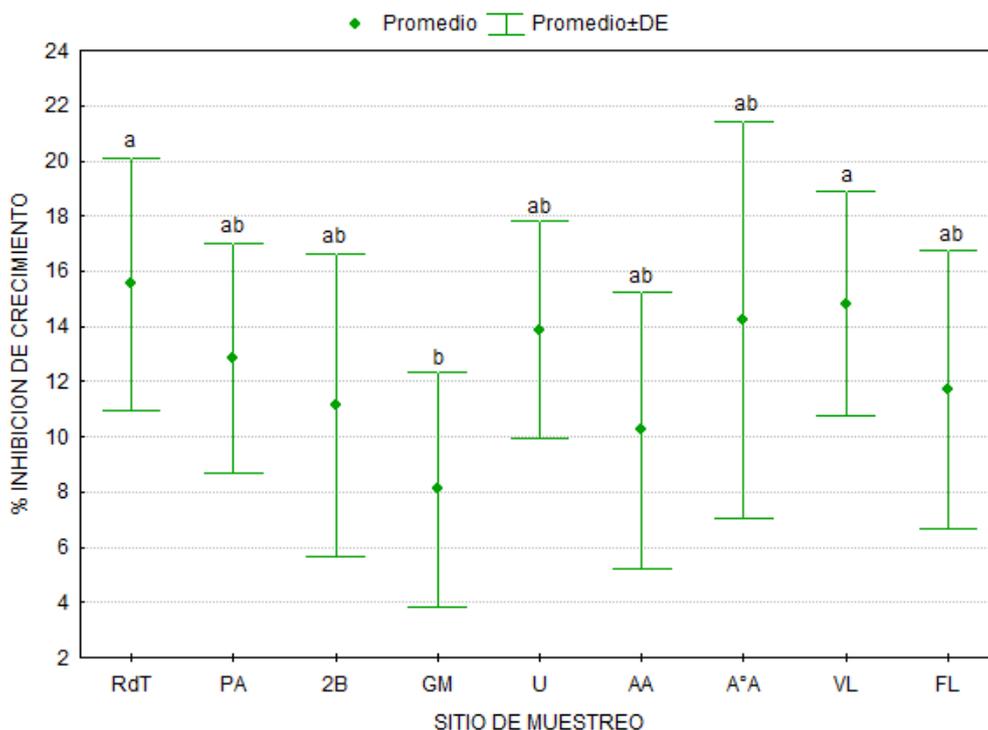


Figura 6.26. Promedio y desviación estándar (DE) del porcentaje de inhibición del crecimiento de *H. curvispina* después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo GUA3. NA: No analizado. Las letras indican diferencias significativas respecto del control negativo ( $p < 0,05$ ).

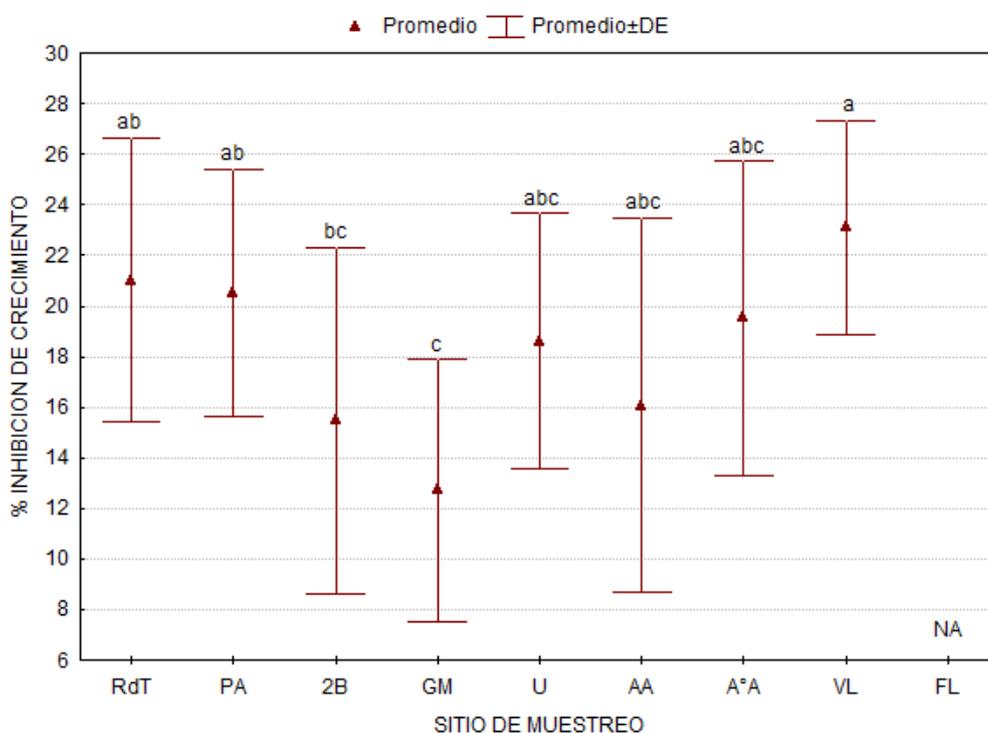


Figura 6.27. Promedio y desviación estándar (DE) del porcentaje de inhibición del crecimiento de *H. curvispina* después de 10 días de exposición a sedimentos de la campaña de muestreo GUA4. NA: No analizado. Las letras indican diferencias significativas respecto del control negativo ( $p < 0,05$ ).

### 6.4.3 Unidades tóxicas

Empleando nuevamente la **Ecuación 6.1** se calcularon las UT para los sedimentos de fondo de GUA. En tan solo 2 muestras se detectaron insecticidas en concentraciones cuantificables: GUA1-RdT y GUA1-VL. Para RdT, se detectaron  $\lambda$ -CIAL y CLP, lo que corresponde a un total de 10,52 UT, mientras que en VL sólo se detectó CLP, lo que equivalió a 3,69 UT. Como ya se presentó, en estos sitios no se observó mortalidad, a pesar de ser lo esperado dado que se registraron más de 10 UT para RdT (Weston & Lydy, 2010b). Esta diferencia entre lo esperado y observado puede explicarse por el bajo contenido de materia orgánica en estos sedimentos (cf. **Tabla 5.4**) donde los mismos incluso se encuentran dentro del error metodológico de dicha técnica y consecuentemente la estimación de las UT pueden estar sesgadas conforme al denominador de la ecuación obteniéndose valores inadecuados para ese tipo de matrices.

## 6.5 Consideraciones finales

Estudios previos realizados en región del CHP han demostrado que los ensambles de macroinvertebrados se ven afectados por las actividades hortícolas. En arroyos asociados a la horticultura se encontraron ensamblajes de taxones tolerantes, junto con una menor riqueza y densidad taxonómicas (Arias et al., 2020). Taxones sensibles a la exposición a insecticidas, como *Hyalella* sp., estaban ausentes o presentes en bajas densidades en los arroyos impactados por la horticultura, mientras que estuvieron bien representados en los menos afectados. Se encontraron entre 907 a 1.773 ind·m<sup>-2</sup> de *Hyalella curvispina* en cuerpos de agua ubicados en una reserva ecológica y zonas de ganadería frente a 92 ind·m<sup>-2</sup> cercano a sitios de cultivo (Solis et al., 2019). Juntas, estas tres líneas de evidencia sugieren que las

concentraciones de plaguicidas en los sedimentos, en particular insecticidas, están limitando las comunidades de macroinvertebrados en la zona del CHP.

Basándose en los reportes de su abundancia y en los resultados de los bioensayos aquí realizados, es que *Hyaella curvispina* puede funcionar como una especie indicadora del impacto de los plaguicidas en los cuerpos de agua producto de la actividad hortícola. Más aún, estos resultados indican una fuerte necesidad de continuar desarrollando estudios de toxicidad con organismos de diferentes niveles organizacionales, cubriendo el rango de diferentes sensibilidades a compuestos con diferentes modos de acción – por ejemplo, fungicidas. El desarrollo de estudios en niveles superiores de organización (*e.g.* la comunidad) también es crucial para proporcionar predicciones ecológicamente relevantes de los efectos tóxicos en el medio ambiente. Finalmente, este estudio evidencia la importancia de integrar diferentes líneas de evidencia, tanto ecotoxicológicas como químicas para una adecuada evaluación de riesgos.

*Hyaella sp.* se utiliza ampliamente como un organismo de ensayo, debido no solo a su fácil cría y mantenimiento en el laboratorio, sino también por su sensibilidad a insecticidas, como piretroides o el organofosforado clorpirifós (Mac Loughlin et al., 2017; Peluso, Abelando, et al., 2013; Weston & Lydy, 2010a). En las campañas llevadas a cabo en la cuenca del río Gualeguay estos compuestos fueron muy raramente detectados. Al mismo tiempo, resulta relevante que los sitios de muestreo en arroyos afluentes y sobre el curso principal no mostraron diferencias en la mortalidad de los organismos de ensayo, con la respuesta ecotoxicológica estando en acuerdo con la carga medida de residuos de plaguicidas.

La determinación de la toxicidad de sedimentos provenientes de ecosistemas acuáticos es una importante herramienta para la evaluación de riesgos (de Castro-Català et al., 2016; Nowell et al., 2016). Sin embargo, las pruebas de laboratorio de sedimentos completo no pueden capturar los efectos que podrían observarse a nivel comunitario en un sistema natural. Los efectos directos e indirectos de los contaminantes sobre los individuos y las especies pueden alterar la estructura de la comunidad (disminución de la biodiversidad, cambio de especies sensibles a especies más tolerantes). La evaluación simultánea de la química de los sedimentos, la toxicidad de los sedimentos y las comunidades de macroinvertebrados proporciona múltiples líneas de evidencia al investigar las relaciones entre los contaminantes de los sedimentos y la degradación ecológica. Estos enfoques a menudo se denominan tríada de calidad de sedimentos (Moran et al., 2017; WFD-CIS, 2003).

Se enfatiza entonces la necesidad de herramientas de monitoreo que ayuden a dilucidar el vínculo entre una concentración de un contaminante y el estado ecológico, como pueden llegar a ser las unidades tóxicas, y así mejorar el realismo ecológico de los bioensayos de ecotoxicidad de laboratorio.

# CAPÍTULO 7

## COMPARACIONES ENTRE SISTEMAS PRODUCTIVOS

## 7. Comparaciones entre sistemas productivos

### 7.1 Número de compuestos y frecuencia de detección

A fin de la adecuada interpretación de los resultados se realizaron comparaciones respecto a perfiles y concentraciones de plaguicidas, así como respuestas toxicológicas para un sistema hortícola (CHP) ubicado en la ciudad de La Plata y un sistema de producción extensiva (GUA) ubicado en la provincia de Entre Ríos, tal como lo presentado en los capítulos anteriores. Respecto del número de compuestos detectados en cada sistema, en agua y MPS se encontraron un número similar de compuestos, con 12 y 11 plaguicidas en agua superficial, y 7 y 5 en el MPS de los sitios del CHP y GUA, respectivamente. En los sedimentos de fondo, se detectaron, en número, más plaguicidas en el CHP que en GUA: 11 y 4.

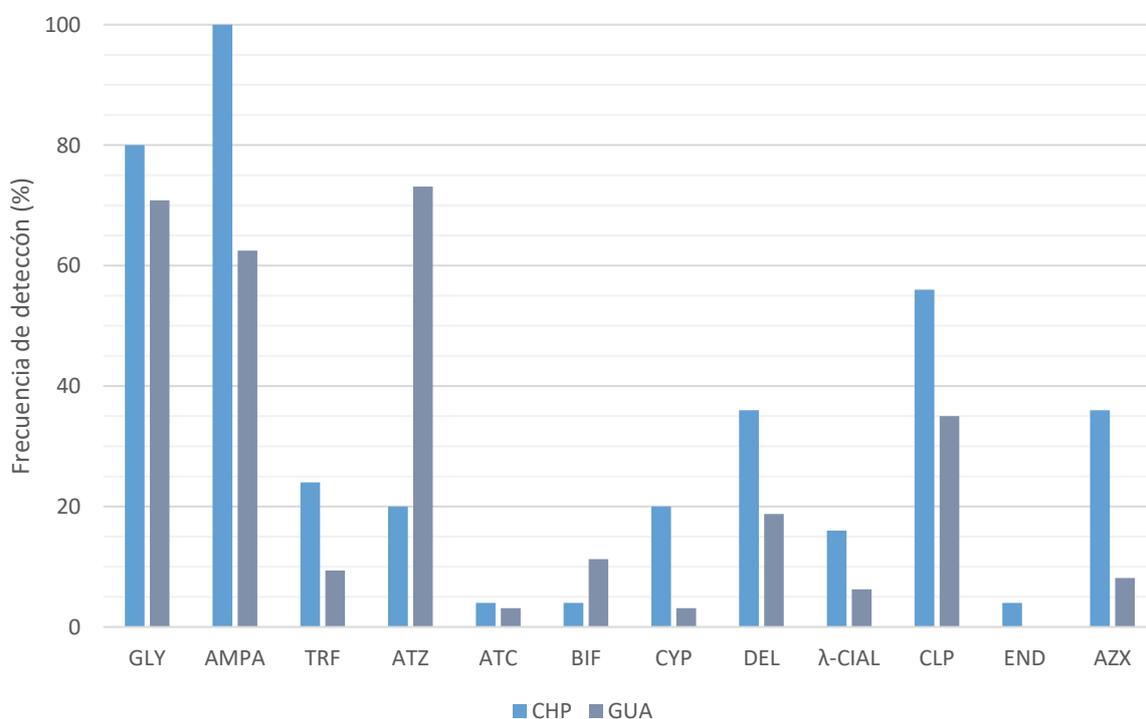


Figura 7.1. Comparación de frecuencias de detección de plaguicidas en agua superficial entre sistemas de producción.

En todos los casos, las frecuencias de detección para un mismo plaguicida, en la misma matriz, resultaron ser mayores en el CHP. En la **Figura 7.1** se presentan las frecuencias de detección de los plaguicidas en agua superficial en ambos sistemas productivos – exceptuando a GLY y AMPA, que se discutirán, dada su relevancia, en detalla a continuación. Como caso particular se tiene al herbicida ATZ, que resultó el más frecuentemente detectado en la producción extensiva que tiene alta demanda de este activo conforme al tipo de cultivo dominante y tal como fuera discutido en el Capítulo 5. El insecticida organoclorado END, cuyo uso se encuentra prohibido en Argentina, fue el único que se detectó en el CHP, pero no en GUA.

En los sedimentos de GUA, sólo otros 2 plaguicidas, pertenecientes al grupo de insecticidas, fueron detectados: CLP y  $\lambda$ -CIAL, en frecuencias de o menores al 10%. Coincidentemente, estos fueron los insecticidas más detectados en los sedimentos del CHP, en más del 50% de las muestras. Por lo tanto, y si bien se pueden distinguir diferencias en la frecuencia a simple vista, estos insecticidas, del total de compuestos estudiados, en función de la evidencia ambiental se infiere que son los más empleados en ambos sistemas de producción del país, y se debe profundizar su estudio en los sedimentos de ambientes nacionales, así como los efectos ecotoxicológicos, que, en general, para esta matriz no son frecuentes.

### 7.1.1 Pseudo-persistencia de GLY y AMPA

Como ya se presentó anteriormente, GLY y AMPA fueron los compuestos más detectados en ambos sistemas de producción, encontrándose, en promedio, con mayores frecuencias de detección en las muestras obtenidas del CHP, salvo para GLY en sedimentos, que se detectó en el 92% de los sedimentos del CHP y en el 97% de GUA (**Figura 7.2**). Lo que difirió en ambos

es que compuesto, el herbicida o su metabolito, presentó una mayor frecuencia: en el CHP, el AMPA estuvo presente en todas las muestras, mas no el GLY; y si bien en GUA en el período de trabajo no llegó a una frecuencia de detección del 100%, GLY fue más frecuentemente detectado que AMPA, en un 10% más en todas las matrices estudiadas.

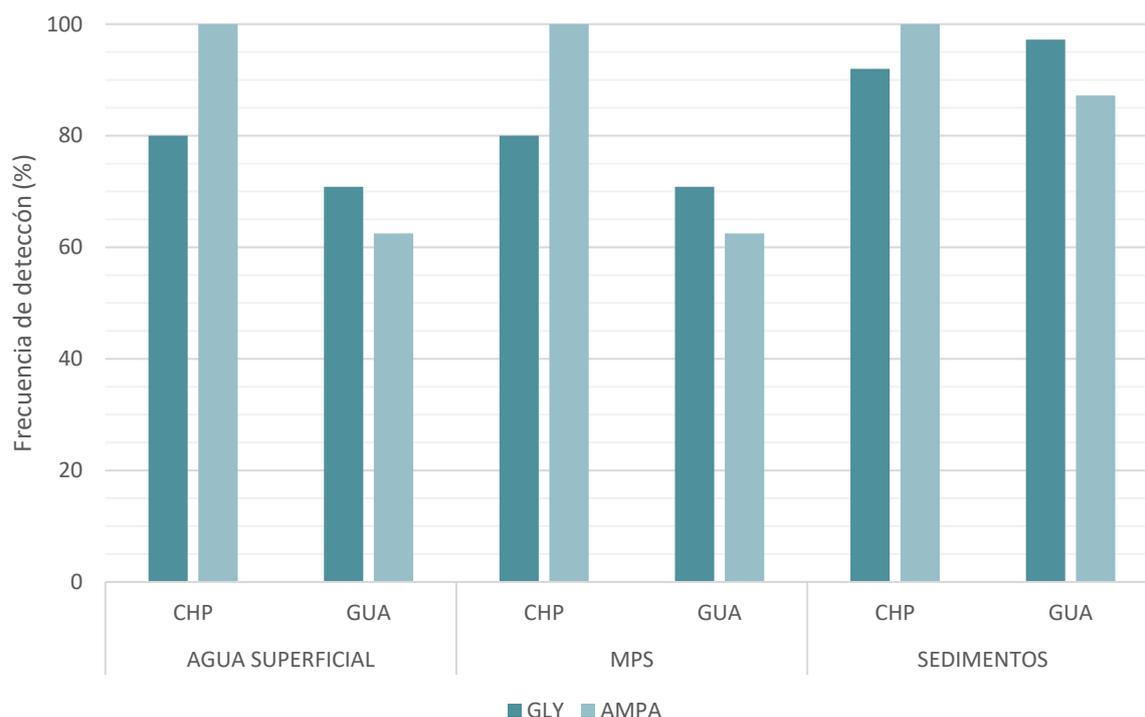


Figura 7.2. Frecuencia de detección de GLY y AMPA en las distintas matrices analizadas en ambos sistemas de producción.

En el marco regulatorio, la *persistencia* se define por la biodegradabilidad de las sustancias químicas medida por su vida media en diferentes medios o su potencial de transporte a largo plazo. Es entonces que esta propiedad determina cuánto tiempo un compuesto permanecerá en el ambiente y, a su vez, para fines toxicológicos, afecta las rutas y tasas de exposición (Goldenman, 2017). No obstante, las sustancias que no serían consideradas como persistentes debido a su vida media relativamente corta podrían, pueden, debido a su liberación continua, dar como resultado un tipo de exposición continua, generalmente asociada a los contaminantes persistentes.

El término *pseudo-persistencia* se acuñó por primera vez con respecto a las trazas de productos de cuidado personal y farmacéuticos que se descargan continuamente al medio acuático (Daughton, 2003). Sin embargo, se considera *engañoso* porque no se refiere a una propiedad intrínseca del compuesto, sino que describe patrones generalizados de uso e ingreso al ambiente. Se ha propuesto que sea reemplazado por el término *presente continuamente*, que es más descriptivo y presenta menor probabilidad de que se malinterprete como una propiedad intrínseca (Goldenman, 2017). Indiferentemente del calificativo que se use, no es necesario que estas sustancias sean persistentes en el ambiente para causar efectos negativos, siendo que el factor clave es que su suministro se repone continuamente, incluso si su vida media es corta.

En la presente tesis doctoral, GLY y/o AMPA, su metabolito de degradación ambiental, fueron detectados a lo largo de los años en el 92% y 75% de las muestras del CHP y GUA, respectivamente. Con esta evidencia, y dado que estaban “presentes continuamente” es que podemos clasificar al herbicida GLY como un contaminante pseudo-persistente en el ambiente acuático producto de las actividades agro-productivas, sea por la producción de verduras en la horticultura, o por la producción de granos en la agricultura extensiva. Estos resultados se complementan a los propuestos por Primost et al. (2017) y Soracco et al. (2018), quienes habían verificado dicha condición de pseudo-persistencia para suelos. En términos generales tanto el contaminante primario como secundario aquí relevados, pueden proponerse como trazadores generales de impacto agrícola ya que sumados a los datos de esta tesis, en el país vienen publicándose resultados de su presencia generalizada en distintos compartimentos ambientales como atmósfera (Alonso et al., 2018), aguas superficiales y

subterráneas (Aparicio et al., 2013; Mac Loughlin et al., 2020), y hasta en suelos agroecológicos (Bernasconi et al., 2021).

## 7.2 Concentraciones de GLY y AMPA

Se compararon los rangos de concentraciones de GLY y AMPA en agua superficial (concentración total=fracción soluble + fracción particulada) cuantificadas en los sistemas productivos estudiados: horticultura (CHP) y extensivo (GUA). Se encontraron diferencias para ambos compuestos entre los sistemas (GLY:  $p=0,0078$ ; AMPA:  $p=0,0026$ ). Si bien para AMPA el máximo se dio en GUA (GUA4-CLE), para GLY el máximo se dio en CHP (CHP2-S1), y las medianas de ambos compuestos fueron mayores en CHP, como se observa en la **Figura 7.3** para GLY y **Figura 7.4** para AMPA.

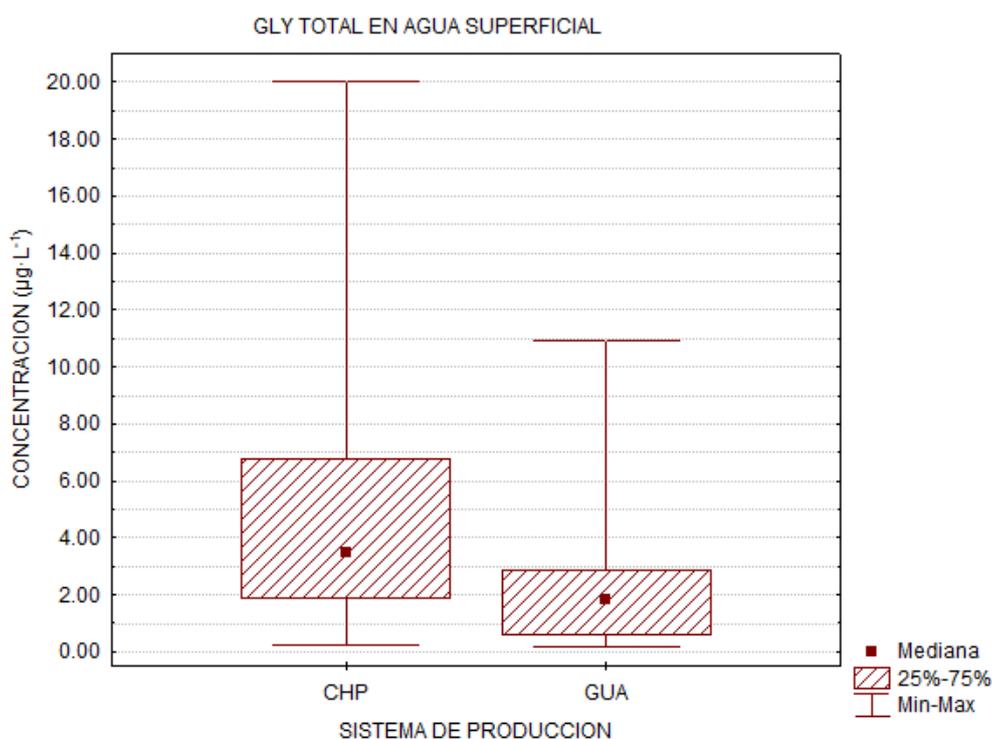


Figura 7.3. Concentraciones de GLY total en agua superficial en los sistemas de producción.

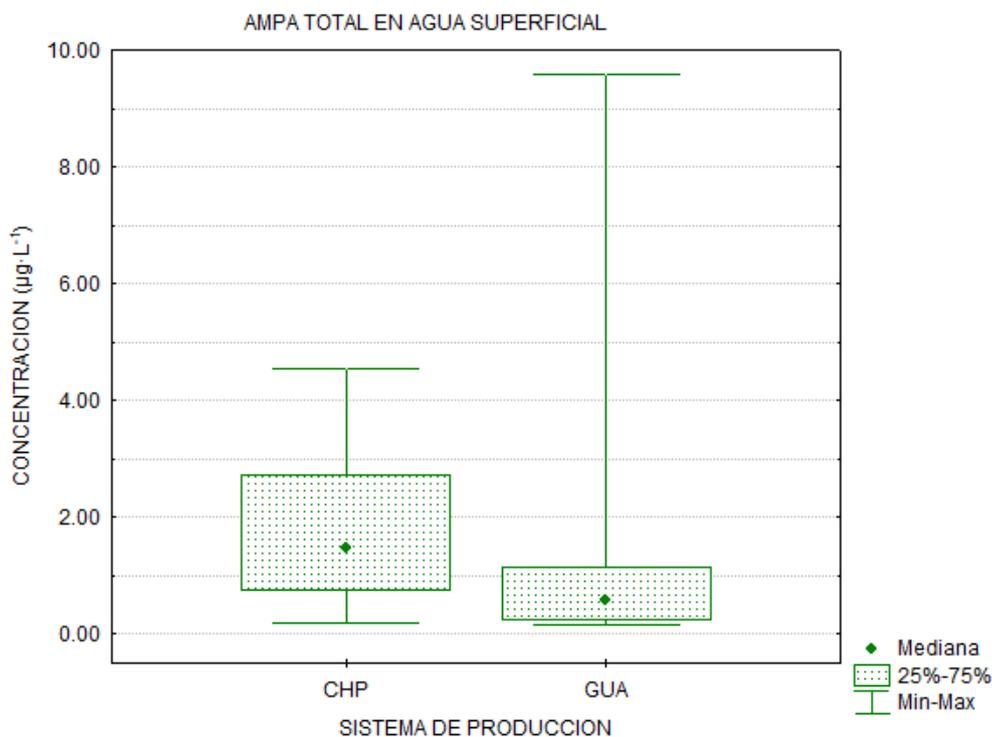


Figura 7.4. Concentraciones de AMPA total en agua superficial en los sistemas de producción.

El mismo análisis de datos se llevó a cabo para las concentraciones en sedimentos de fondo, donde también hubo diferencias estadísticamente significativas entre sistemas, para ambos compuestos ( $p < 0,000007$ ). En la **Figura 7.5** se presenta el rango de concentraciones de GLY para sedimentos, y en la **Figura 7.6** para AMPA. En esta matriz, se repitió lo observado respecto de las medianas, siendo mayores en el CHP, con valores de GLY 6,6 veces y AMPA 3,5 veces los de las medianas de GUA. Ambos máximos fueron detectados en el CHP, los que se encontraron 5,5 y 38,5 por encima a los máximos de GUA para GLY y AMPA, respectivamente.

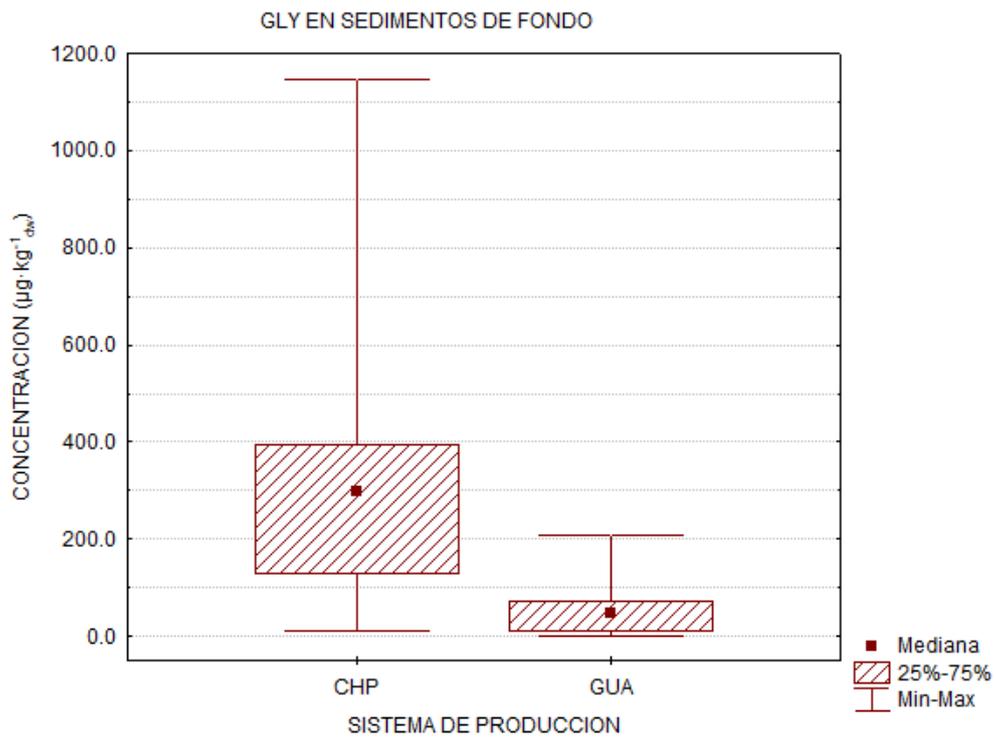


Figura 7.5. Concentraciones de GLY en sedimentos de fondo en los sistemas de producción.

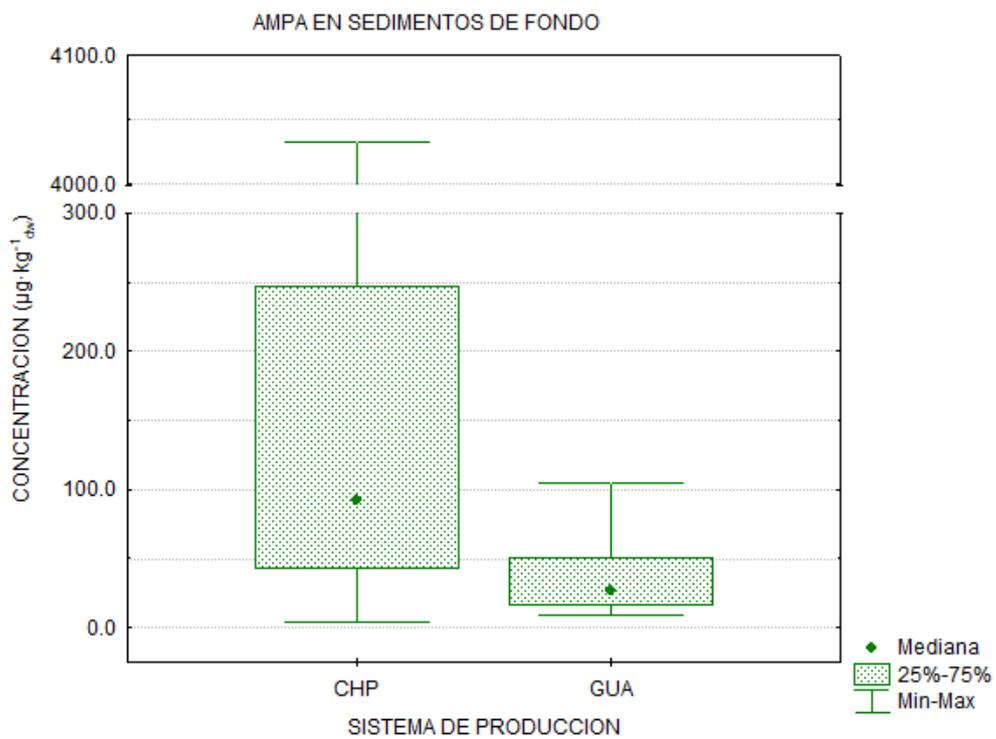


Figura 7.6. Concentraciones de AMPA en sedimentos de fondo en los sistemas de producción.

Si bien la extensión de la cuenca del arroyo Carnaval es menor a la del río Gualeguay, el tamaño de los tributarios de este último son similares al arroyo, por lo que la zona de captación queda descartada como variable determinante en las observaciones de tendencias de concentraciones. La diferencia de estos sistemas radica en que en el CHP hay una amplia diversidad de cultivos llevándose a cabo en múltiples unidades de producción con parcelas que no superan 1 o 2 hectáreas, por lo que hay un mayor número de posibles fuentes de ingreso, y a distintos momentos según la dinámica productiva de cada una. En comparación, en la agricultura extensiva, con superficies amplias donde se realiza un solo cultivo, por lo que, en comparación, las fuentes y tiempos de ingresos son relativamente más homogéneas, y hasta predecibles.

### 7.2.1 Toxicidad de glifosato en sedimentos

Un notable resultado de la presente tesis es la baja frecuencia de detección de insecticidas en los sedimentos de fondo muestreados en el sistema de producción extensivo: 3 muestras presentaron concentraciones de CLP, en una de ellas coocurriendo con  $\lambda$ -CIAL, en concentraciones menores a los  $10 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ . En contraste, en el CHP el 88% de las muestras de sedimentos había por lo menos un insecticida, con concentraciones hasta 3 órdenes de magnitud por encima del máximo de GUA. Además del análisis químico, los sedimentos recolectados en ambos sistemas de producción fueron sujetos a bioensayos de laboratorio con *Hyalella curvispina*. Los ensayos con los sedimentos del GUA no mostraron toxicidad, con supervivencia promedio del 93% y en todos los casos por encima del 80%, a pesar de haberse detectado GLY y/o AMPA en ellos. De manera comparativa, en los sitios del CHP donde sólo se detectó al herbicida y su metabolito, y ningún insecticida, no se registró toxicidad. Por

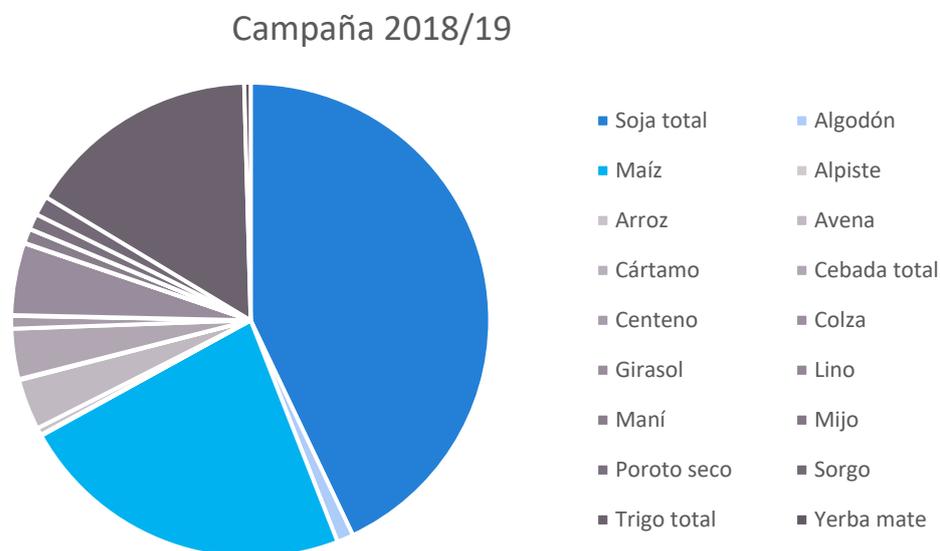
ejemplo, en GUA2-U se cuantificó la concentración más alta de GLY+AMPA=226,1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$  y una supervivencia del 96% de los organismos de ensayo. En contraste, en solo dos instancias no se detectaron insecticidas en los sedimentos del CHP, pero si GLY+AMPA: CHP4-S2 y CHP4-S4. Ambos sedimentos tenían más del triple de concentración de GLY+AMPA y tampoco mostraron mortalidad, con supervivencias mayores al 80% en ambos casos.

Por consiguiente, estos resultados ambientales en conjunto a las respuestas ecotoxicológicas llevan a proponer que GLY/AMPA no estarían generando toxicidad directa en el sedimento para *H. curvispina*, sino que estas respuestas estarían mayormente asociadas a los insecticidas.

### **7.3 Los no resultados también son resultados: ausencia de glufosinato**

En la actualidad, la soja, el maíz y el algodón son los principales cultivos transgénicos sembrados en Argentina. Los mismos presentan distintas combinaciones de eventos, como la tolerancia a herbicidas, la resistencia a insectos y la tolerancia a sequía (ArgenBio, 2020). Hace más de una década, prácticamente la totalidad de la superficie de soja en Argentina se siembra con variedades transgénicas tolerantes a herbicidas. Para el caso del maíz, más del 97% de la superficie se siembra con maíz transgénico. La mayoría corresponde a híbridos con características combinadas de tolerancia a herbicidas y resistencia a insectos y una fracción muy menor a híbridos con tolerancia a herbicida o resistencia a insectos por separado. En algodón, prácticamente el 100% de la superficie sembrada corresponde a variedades transgénicas con características combinadas de resistencia a insectos y tolerancia a

herbidas. Esto significa que más de la mitad de la superficie sembrada de Argentina se encuentra sembrada con cultivos transgénicos (66,9%, **Figura 7.7**).



*Figura 7.7. Distribución de superficie sembrada durante la campaña/19 en Argentina. Elaboración propia. Fuente: MAGyP, (2020).*

Más recientemente se aprobó *ad referendum* la primera variedad de trigo transgénico, tolerante a sequía y al herbicida glufosinato (MAGyP, 2020b). En nuestro país ya hay lotes de trigo transgénicos – que serán utilizados como multiplicación por la empresa que los está promocionando – pero se encuentran aislados de los demás lotes de trigo. La comercialización se encuentra condicionada a la aprobación de varios países, entre ellos Brasil, el principal comprador de trigo de Argentina con aproximadamente el 45% de la producción (La Nación, 2019; Mich, 2020). Sumado a esto, el 55% del trigo se comercializa en el Sudeste asiático, que tiene prohibido el trigo transgénico. La situación presenta ciertas irregularidades, ya que se aprueba la comercialización de un evento biotecnológico antes que los mercados compradores.

La mayoría de estos cultivos que presentan resistencia a herbicidas, lo hacen para el glifosato. Sin embargo, en el último tiempo, el glifosato ha empezado a mostrar algunas “debilidades” desde el punto de vista productivo. En general, es común que las malezas se vuelvan resistentes a un herbicida que se ha utilizado durante 3-5 años. Con más de 20 años de uso, las malezas están mostrando una gran resistencia al glifosato (Dill, 2005). Al momento de la escritura de esta tesis, hay reportadas 324 instancias de resistencia a GLY, siendo la última reportada en 2019 en Argentina para la especie *Echinochloa crus-galli var. crus-galli* (pasto dentado) (Heap, 2020). Sumado a su “infectividad”, recientemente se ha cuestionado su toxicidad y la seguridad ambiental GLY, y, aunque la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (*United States Environmental Protection Agency, USEPA*) continúa sosteniendo que no representa una amenaza para la salud humana o el medio ambiente, muchas agencias proponen la limitación y prohibición en uso (Benbrook, 2019; Neal & Senesac, 2018). Es en este contexto que el glufosinato de amonio es presentado como una alternativa.

El glufosinato, comercializado en Argentina bajo el nombre de Liberty® (glufosinato de amonio al 20%), es un herbicida de amplio espectro que pertenece al grupo químico los ácidos fosfínicos (cf. **Tabla 3.1**). Se trata de un herbicida de contacto, penetra a través de los tejidos de las plantas susceptibles, donde actúa sobre la biosíntesis de glutamina previniendo la detoxificación del exceso de amonio, que finalmente resulta en la muerte de las plantas. Al mismo tiempo inhibe de manera acentuada la fotosíntesis. Este plaguicida surge como una solución para controlar las malezas que escapan al control de glifosato (Battaglin et al., 2005; Scribner et al., 2007).

Ya en 2011, Bayer CropScience recibió la aprobación del Ministerio de Agricultura para comercializar en la Argentina cultivares de soja con tolerancia al herbicida glufosinato de amonio (InfoCampo, 2011). En 2015 se aprueba en todo el territorio argentino el cuarto evento biotecnológico para algodón, con tolerancia a glufosinato de amonio y glifosato, nuevamente, desarrollado por Bayer CropScience (ValorSoja, 2015).

A pesar de esto, como ya es comercializado durante muchos años, el glifosato ha sido ampliamente aceptado por los agricultores. Por tanto, todavía no se ha aceptado completamente el uso de glufosinato de amonio. Sin embargo, a mediados de 2020, China aprobó la importación de dos nuevas variedades de soja genéticamente modificada, una de ellas es la soja DBN-Ø9ØØ4-6, resistente al glifosato y al glufosinato (Lendoiro, 2020). Con la aprobación de China, el principal comprador de soja del mundo, esta semilla puede ser comercializada para su producción en Argentina. En consecuencia, en los próximos años se verá un incremento en el uso de glufosinato de amonio.

Después de su introducción en 1997, en Estados Unidos la detección de este compuesto es escasa. De 154 muestras, GLU fue detectado en tan solo 2 muestras por Battaglin et al. (2005). En la compilación de información del periodo 2001-2007, Scribner et al. (2007) informó la ocurrencia en 7 de las 1.262 muestras analizadas, con concentración promedio (mínima-máxima) de 0,39 (0,05-1,5)  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Al día de la fecha, no se ha reportado la ocurrencia de GLU en aguas superficiales del país. El único reporte de GLU fue realizado por Demonte et al. (2018), donde lo cuantificó en sólo en 1 de 33 muestras de agua de tanques bebederos de tambos en la provincia de Santa Fe, a 0,1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (igual al LC allí reportado).

En el presente trabajo, se analizaron un total de 203 muestras, de sistemas de producción hortícola y extensivo de granos, teniendo en cuenta 3 matrices, pero en ninguna se detectó glufosinato. La ausencia de este compuesto es un dato relevante ya que estaría indicando que su uso no se ha masificado y que consecuentemente el ambiente está respondiendo conforme a los procesos de biodegradación, ya que su uso si está reconocido. Por lo tanto, esto nos permite establecer, con fecha del último muestreo realizado, una línea de base de ocurrencia del 0% para este herbicida.

A pesar de estar posicionado como el herbicida para reemplazar al glifosato, es importante hacer notar que ya hay reportadas 7 malezas resistentes al glufosinato de amonio (Heap, 2020).

### 7.4 Importancia de los arroyos chicos

El monitoreo de plaguicidas es una tarea compleja, ya que varios factores espaciales y temporales afectan las concentraciones máximas (picos) en los cuerpos de agua. Sumado a eso, existe una carencia fundamental: falta una delimitación espacial clara de “arroyo pequeño” en términos del tamaño de cuenca: por ejemplo, la *Water Framework Directive* de la Unión Europea define a los arroyos pequeños con un tamaño de cuenca de entre 10 y 100 km<sup>2</sup>, sin clasificación detallada para aquellos <10 km<sup>2</sup> (Szöcs et al., 2017).

Los cuerpos de agua pequeños son ecosistemas de agua dulce de gran relevancia ecológica, ya que contienen mayor biodiversidad en comparación con sistemas mayores. Sin embargo, reciben ingresos considerablemente más altos de plaguicidas debido a su estrecha proximidad con los campos agrícolas adyacentes, en combinación con su bajo volumen o

descarga de agua, es decir, menor poder de dilución (Lorenz et al., 2017). La magnitud del transporte de plaguicidas está determinada por diversos factores climáticos y geológicos, como la cantidad e intensidad de las lluvias, la hidrología, la pendiente del área agrícola y la humedad del suelo (Kronvang et al., 2004; Oliver et al., 2012; Topaz et al., 2018). Al mismo tiempo, los pequeños arroyos alimentan a cuencas más grandes aguas abajo, por lo que comprender el patrón de exposición en cuencas pequeñas facilita la implementación de medidas de mitigación con el objetivo reducir la movilización de plaguicidas desde zonas agrícolas, como los humedales naturales o construcción de humedales artificiales capaces de “atrapar” a los plaguicidas (Bundschuh et al., 2014).

La evaluación del riesgo para plaguicidas requiere datos sobre concentraciones químicas. Paradójicamente, la baja cantidad de estudios de plaguicidas realizados en cuerpos de agua pequeños se contradice con su predominio espacial entre los cuerpos de agua que reciben ingresos de plaguicidas. Lorenz et al. (2017) analizaron un total de 2.589 estudios, y tan solo el 8% de estos se ubican en pequeños arroyos.

Es así como los riesgos asociados a los plaguicidas en pequeños arroyos se encuentran pobremente caracterizados. Los principales desafíos a resolver son: (1) las concentraciones altamente dinámicas, (2) el análisis de varios cientos de sustancias activas, (3) la mayoría de ellos con diferentes frecuencia y estacionalidad de uso (Spycher et al., 2018).

Respecto del primer punto, la resolución temporal es una fuente dominante de incertidumbre para la evaluación de la exposición en general. Los estudios de campo con alta resolución temporal han demostrado que durante los eventos de lluvia las concentraciones pueden aumentar en un factor de 10 a 100 o más en cuestión de horas (Lefrancq et al., 2017; Xing et

al., 2013). El muestreo discreto es el método más simple, que se puede realizar ocasionalmente o en intervalos fijos, aunque tiene la limitación de que probablemente omita los picos de concentración, es decir, las concentraciones ecotoxicológicamente relevantes (Stehle et al., 2013; Xing et al., 2013). Por lo tanto, es común que se subestimen los riesgos calculados, viéndose especialmente limitada la utilidad del método para sustancias muy transitorias y tóxicas. Plaguicidas con baja solubilidad en agua ( $\log K_{OW} > 4$ ) suelen ocurrir en picos correspondientes al momento del flujo máximo. En cambio, la presencia y las concentraciones máximas de plaguicidas con mayor solubilidad en agua (*e.g.*, GLY, ATZ) pueden verse prolongadas temporalmente (Kronvang et al., 2004). Un enfoque alternativo diseñado para superar estas insuficiencias es el muestreo continuo utilizando muestreadores automáticos o muestreadores pasivos (Lorenz et al., 2017; Xing et al., 2013).

Respecto del segundo y tercer punto, la vinculación inequívoca de efectos con un determinado plaguicida es difícil debido a la variabilidad espacial y temporal de las comunidades, y la existencia de otros factores de estrés que pueden estar correlacionados o pueden tener interacciones con el plaguicida en cuestión (Schafer et al., 2011). Al mismo tiempo, alguno de los cientos de plaguicidas que no haya sido incluido en el análisis pueden llegar a aumentar la ocurrencia general y las implicancias ambientales.

Moschet et al. (2014) informaron sobre la importancia de incorporar tantos plaguicidas como sea posible en la lista de cualquier estudio de monitoreo, ya que de lo contrario el riesgo para las aguas superficiales puede subestimarse sustancialmente, especialmente cuando se toman en consideración las mezclas de plaguicidas. A pesar de esto, de un relevamiento de 20 años de información, Stone, Gilliom, & Ryberg (2014) observó que la toxicidad es causada por una

proporción relativamente pequeña de plaguicidas. Identificar los contaminantes específicos de cada cuenca es de suma importancia para introducirlos en los esquemas de monitoreo.

Por lo tanto, se debe implementar un diseño estratégico de los métodos analíticos de laboratorio y las metodologías de muestreo, que tienen que considerar la toxicidad, las propiedades de los plaguicidas y su destino ambiental, de modo de garantizar la apropiada cuantificación de los plaguicidas – y de ser posible, sus metabolitos – más críticos.

En una primera aproximación al estudio de estos cuerpos de agua, la metodología del muestreo discreto aporta información relevante para sistemas que no han sido previamente estudiados. Los resultados de la presente tesis mostraron que, siguiendo esta metodología, para aguas se detectaron concentraciones por encima de los niveles guía para la protección de la biota acuática, no habiéndose analizado concentraciones pico. Por el contrario, las muestras de sedimentos reflejan las condiciones de exposición durante períodos de tiempo más largos en comparación con las de las muestras de agua, y los altos niveles de toxicidad, reflejados por las UTs, mostraron efectos a corto (agudos) y a largo plazo (crónicos) para los organismos que habitan en los sedimentos. Es entonces que los dos compartimentos principales del ecosistema acuático están en riesgo.

El monitoreo de plaguicidas en pequeños arroyos se debe adaptar para captar eventos de exposición de todas las vías de entrada relevantes. Utópicamente, una combinación de muestreo discreto de sedimentos e impulsados por eventos de precipitación para aguas es la metodología más adecuada para obtener datos robustos, evaluar la toxicidad y establecer relaciones con los efectos sobre la biota.

# CAPÍTULO 8

## CONCLUSIONES

## 8. Conclusiones

- Las concentraciones de plaguicidas en las matrices estudiadas en el Cordón Hortícola Platense excedieron las reportadas anteriormente, para Argentina y en otras partes del mundo, un reflejo de la dependencia de plaguicidas en la producción hortícola en las condiciones de desarrollo y ejecución del sistema en la región estudiada.
- La ocurrencia de glifosato y AMPA, tanto en frecuencia como en concentración, en una cuenca rodeada por horticultura expone que este herbicida ya no se usa exclusivamente en cultivos resistentes tal como fuera su objeto de comercialización, su uso se ha extendido a otras prácticas agrícolas para un control de malezas en la etapa de preparación de los suelos para distintos cultivos no transgénicos.
- Las concentraciones de plaguicidas en sedimentos de fondo del arroyo Carnaval se mantuvieron invariables en el tiempo y presentaron el mayor número de compuestos detectados respecto a las otras matrices, evidenciando su papel como sumidero de contaminantes de naturaleza hidrofóbica. Por el seguimiento de esta matriz, se puede obtener información histórica sobre el uso de los plaguicidas utilizados en sistemas agro-productivos que se reflejan en este compartimento ambiental.
- Las concentraciones de plaguicidas en agua superficial, principalmente de insecticidas, se encontraron por encima de los respectivos niveles guía de calidad de agua ambiente para la protección de la biota acuática, y representaron un riesgo de medio a muy alto para la biota acuática según la Evaluación de Riesgo Ambiental realizada para los datos del Cordón Hortícola Platense. Estas herramientas de gestión, a partir de datos reales de estos xenobióticos en el ambiente, constituyen una metodología rápida para la

toma de decisiones y clasificación de cuerpos ya que dichas estimaciones posteriormente fueron confirmadas por resultados de ecotoxicidad en laboratorio.

- Como consecuencia de la actividad hortícola y los plaguicidas utilizados en ella, los cursos de agua superficiales cercanos se ven afectados negativamente. Se deben implementar estrategias para proteger estos ecosistemas y políticas que tiendan a reducir el uso y eventual eliminación de plaguicidas en la producción hortícola. De manera complementaria favorecer acciones vinculadas y metodologías que favorezcan la promoción de zonas de resguardo y franja riparia autóctona a fin de minimizar la llegada de estos contaminantes a los cuerpos de aguas.
- No se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones de glifosato y AMPA en las matrices analizadas respecto de los sitios de muestreo en arroyos afluentes y sobre el curso principal del río Gualeguay. Atrazina, asociada a la producción agrícola extensiva, también fue frecuentemente detectada en muestras de agua, nuevamente, sin diferencias respecto de los sitios de muestreo. Este comportamiento denota no solo la elevada movilidad de estos compuestos, sino también el volumen de uso en la producción agrícola.
- Las precipitaciones fueron un importante factor condicionante en la dinámica de plaguicidas y su consecuente detección en el ambiente. Precipitaciones mayores a 150 mm tuvieron un efecto de dilución sobre la concentración de plaguicidas, llevándolas a niveles por debajo de los límites de detección instrumentales.
- Los bioensayos de toxicidad sobre sedimento completo con el anfípodo autóctono *Hyaella curvispina* como organismo de ensayo resultaron ser una valiosa herramienta

bioanalítica, de bajo costo y reproducible, logrando así complementar la información obtenida del análisis químico de residuos de plaguicidas.

- Fue posible relacionar la mortalidad observada de los organismos de ensayo con la ocurrencia de insecticidas en los sedimentos de fondo, frecuentemente detectados en el Cordón Hortícola Platense, lo que indica que la horticultura pone en riesgo a la comunidad bentónica de los cuerpos de agua asociados a esta actividad productiva.
- Escenarios de mortalidad de todos los organismos de ensayo se dieron en los sitios ubicados en el centro de la actividad agrícola, donde se encontraron concentraciones máximas de  $\lambda$ -cialotrina ( $2.604,7 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ ) y clorpirifós ( $2.258 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{dw}}$ ).
- Los valores calculados de  $K_d$  de entornos naturales muestran que glifosato y AMPA tienen una afinidad por la fracción particulada. A pesar de dicha tendencia en el reparto, en los cuerpos de agua estudiados, la fracción soluble fue el principal aporte a la carga total, representando en promedio más del 90% de ese valor. Estos resultados se contraponen con algunas generalizaciones bibliográficas y por lo tanto se concluye que cada sistema debe ser analizado en particular. Por lo tanto, se propone que el análisis de estos compuestos en la fase soluble siempre debe tenerse en cuenta al estudiar cuerpos de agua superficiales poniendo en evidencia el potencial de movilidad de estas moléculas tal como fue cuantificado en la presente tesis.
- Las constantes de reparto  $K_d$  de glifosato y AMPA para sedimentos del río Gualeguay mostraron relación con la composición del agua, resultando ser dependientes del pH y la capacidad quelante del medio.

- En base a las ocurrencias y concentraciones con las que se encontró glifosato y AMPA en las matrices analizadas de ambos sistemas de estudio, es que se propone al glifosato como un contaminante pseudo-persistente de los sistemas acuáticos asociados a actividades agro-productivas que se suma a su pseudo persistencia ya definida para suelos en el país.
- El presente trabajo de tesis aporta información relevante a la problemática relacionada con el uso de plaguicidas para distintas actividades de producción de alimentos de interés para el país. Futuros estudios podrán tomar esta información como insumo para profundizar investigaciones en este campo temático.

## Bibliografía

- AAPRESID. (2016). *Mapas de malezas resistentes y tolerantes de Argentina*. <https://www.aapresid.org.ar/rem/nuevos-mapas-de-malezas-resistentes-y-tolerantes-de-argentina/>
- Adams, S. M. (2003). Establishing causality between environmental stressors and effects on aquatic ecosystems. *Human and Ecological Risk Assessment*. <https://doi.org/10.1080/713609850>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2003). Toxicological profile for Atrazine. *CDC*, 175–227.
- Aizen, M. A., Garibaldi, L. A., & Dondo, M. (2009). Expansión de la soja y diversidad de la agricultura argentina. *Ecología Austral*, 19(1), 45–54.
- Allinson, G., Bui, A. D., Zhang, P., Rose, G., Wightwick, A. M., Allinson, M., & Pettigrove, V. (2014). Investigation of 10 Herbicides in Surface Waters of a Horticultural Production Catchment in Southeastern Australia. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 67(3), 358–373. <https://doi.org/10.1007/s00244-014-0049-z>
- Alonso, L. L., Demetrio, P. M., Capparelli, A. L., & Marino, D. J. G. (2019). Behavior of ionophore antibiotics in aquatic environments in Argentina: The distribution on different scales in water courses and the role of wetlands in depuration. *Environment International*, 133(August), 105144. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105144>
- Alonso, L. L., Demetrio, P. M., Etchegoyen, M. A., & Marino, D. J. G. (2018). Glyphosate and atrazine in rainfall and soils in agroproductive areas of the pampas region in Argentina. *Science of the Total Environment*, 645, 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.134>
- Amiot, A., Landry, D., Jadas-Hécart, A., La Jeunesse, I., & Sourice, S. (2014). Study of glyphosate transport through suspended particulate matter. *Geophysical Research Abstracts*, 16, 7924.
- Amweg, E. L., & Weston, D. P. (2007). Whole-sediment toxicity identification evaluation tools for pyrethroid insecticides: I. Piperonyl Butoxide Addition. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(11), 2397–2404. <https://doi.org/10.1897/07-018R.1>
- Amweg, E. L., Weston, D. P., & Ureda, N. M. (2005). Use and toxicity of pyrethroid pesticides in the Central Valley, California, USA. - ERRATUM. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24(4), 1300–1301.

- Anastassiades, M., & Lehotay, S. J. (2003). Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction\_Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *Journal of AOAC International*, *86*(2), 412–431.
- Anastassiades, M., Maštovská, K., & Lehotay, S. J. (2003). Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *Journal of Chromatography A*, *1015*(1–2), 163–184. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)01208-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01208-1)
- AOAC. (2011). AOAC Official Method 2007.01 Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, *90*(2), 17–26. [http://lib3.dss.go.th/fulltext/E\\_content/1060-3271/2007v90n2.pdf](http://lib3.dss.go.th/fulltext/E_content/1060-3271/2007v90n2.pdf)
- Aparicio, V. C., De Gerónimo, E., Marino, D. J. G., Primost, J. E., Carriquiriborde, P., & Costa, J. L. (2013). Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere*, *93*(9), 1866–1873. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.06.041>
- ArgenBio. (2020). *Características de los cultivos transgénicos adoptados en Argentina (19-04-2020)*. <http://argenbio.org/cultivos-transgenicos/12548-caracteristicas-de-los-cultivos-transgenicos-adoptados-en-argentina>
- Arias, M., Scalise, A., Solis, M., Paracampo, A., Indaco, M., Fanelli, S., Mugni, H., Bonetto, C., & Arias, M. (2020). Horticulture affects macroinvertebrate assemblages in adjacent streams (Buenos Aires, Argentina). *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, *2020-Janua*(421). <https://doi.org/10.1051/kmae/2019048>
- ASTM. (2002). Standard test methods for determining sediment concentration in water samples. *American National Standard*.
- ASTM. (2003). *Standard Guide for Collection, Storage, Characterization, and Manipulation of Sediments for Toxicological Testing and for Selection of Samplers Used to Collect Benthic Invertebrates (E1391-03)*. ASTM International. <https://doi.org/10.1520/E1391-03R08.2>
- ASTM. (2014). *Standard Guide for Designing Biological Tests with Sediments (E1525-02)*. ASTM International. <https://doi.org/10.1520/E1525-02R14>
- ASTM. (2019). *Standard Test Method for Measuring the Toxicity of Sediment-Associated Contaminants with Freshwater Invertebrates (E1706-19)*. ASTM International.
- Banda Noriega, R., & Ruíz de Galarreta, A. (2002). Riesgo de contaminación hídrica subterránea por actividad industrial, cuenca de los arroyos Martín y Carnaval, Buenos Aires, Argentina. *Groundwater and Human Development*, 153–162.

- Barceló, D. (2000). Sample handling and trace analysis of pollutants - Techniques, applications and quality assurance. In *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*. [https://doi.org/10.1016/S0167-9244\(00\)80010-4](https://doi.org/10.1016/S0167-9244(00)80010-4)
- Battaglin, W. A., Kolpin, D. W., Scribner, E. A., Kuivila, K. M., & Sandstrom, M. W. (2005). Glyphosate, other Herbicides, and Transformation Product in Midwestern Streams. *Journal of the American Water Resources Association*, 41(2), 323–332.
- Battaglin, W. A., Meyer, M. T., Kuivila, K. M., & Dietze, J. E. (2014). Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in U.S. soils, surface water, groundwater, and precipitation. *Journal of the American Water Resources Association*, 50(2), 275–290. <https://doi.org/10.1111/jawr.12159>
- Benbrook, C. M. (2019). How did the US EPA and IARC reach diametrically opposed conclusions on the genotoxicity of glyphosate-based herbicides? *Environmental Sciences Europe*, 31(1). <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0184-7>
- Berenzen, N., Lentzen-Godding, A., Probst, M., Schulz, H., Schulz, R., & Liess, M. (2005). A comparison of predicted and measured levels of runoff-related pesticide concentrations in small lowland streams on a landscape level. *Chemosphere*, 58(5), 683–691. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.05.009>
- Bernasconi, C., Demetrio, P. M., Alonso, L. L., Mac Loughlin, T. M., Cerdá, E., Sarandón, S., Marino, D. J. G., Cerda, E., Sarandón, S., Marino, D. J. G., Cerdá, E., Sarandón, S., & Marino, D. J. G. (2021). Evidence for soil pesticide contamination of an agroecological farm from a neighboring chemical-based production system. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 313(July 2020). <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107341>
- Bird, S. L., Esterly, D. M., & Perry, S. G. (1996). Off-Target Deposition of Pesticides from Agricultural Aerial Spray Applications. *Journal of Environmental Quality*. <https://doi.org/10.2134/jeq1996.00472425002500050024x>
- Bollag, J. M., Myers, C. J., & Minard, R. D. (1992). Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter. *Science of the Total Environment*, 123–124, 205–217.
- Bonanse, R. I., Amé, M. V., & Wunderlin, D. A. (2013). Determination of priority pesticides in water samples combining SPE and SPME coupled to GC-MS. A case study: Suquía River basin (Argentina). *Chemosphere*, 90, 1860–1869. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.10.007>
- Bonanse, R. I., Filippi, I., Wunderlin, D. A., Marino, D. J. G., & Amé, M. V. (2017). The fate of glyphosate and AMPA in a freshwater endorheic basin: An ecotoxicological risk assessment. *Toxics*, 6(1), 3. <https://doi.org/10.3390/toxics6010003>
- Borowsky, B. (1991). Patterns of reproduction of some amphipod crustaceans and insights

into the nature of their stimuli. *Journal of Crustacean Sexual Biology*, 33–66.

- Brondi, S. H. G., de Macedo, A. N., Vicente, G. H. L., & Nogueira, A. R. A. (2011). Evaluation of the QuEChERS method and gas chromatography-mass spectrometry for the analysis pesticide residues in water and sediment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86(1), 18–22. <https://doi.org/10.1007/s00128-010-0176-9>
- Bundschuh, M., Goedkoop, W., & Kreuger, J. (2014). Evaluation of pesticide monitoring strategies in agricultural streams based on the toxic-unit concept - Experiences from long-term measurements. *Science of the Total Environment*, 484(1), 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.03.015>
- Bunzel, K., Schäfer, R. B., Thrän, D., & Kattwinkel, M. (2015). Pesticide runoff from energy crops: A threat to aquatic invertebrates? *Science of the Total Environment*, 537, 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.08.011>
- Burton, G. A., & Landrum, P. F. (2003). Toxicity of sediments. In *Sedimentology* (pp. 1232–1240). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3609-5\\_241](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3609-5_241)
- Carrasco, A. E., Sánchez, N. E., & Tamango, L. E. (2012). Modelo agrícola e impacto socio-ambiental en la Argentina : monocultivo y agronegocios. In *CMA-AUGM* (Primera ed). AUGM-Comité de Medio Ambiente. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/24722>
- CASAFE. (2012). *Informe del Mercado Argentino de Productos Fitosanitarios*.
- Ccanccapa, A., Masiá, A., Navarro-Ortega, A., Picó, Y., & Barceló, D. (2016). Pesticides in the Ebro River basin: Occurrence and risk assessment. *Environmental Pollution*, 211, 414–424. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.12.059>
- CCME. (1994). Atrazine. *Canadian Council of Ministers of the Environment. Canadian Environmental Quality Guidelines*, 1–4.
- CCME. (1999a). Deltamethrin. *Canadian Council of Ministers of the Environment. Canadian Environmental Quality Guidelines*, 1299, 1–3.
- CCME. (1999b). Trifluralin. *Canadian Council of Ministers of the Environment. Canadian Environmental Quality Guidelines*, 1–4.
- Cervera, M. I., Medina, C., Portolés, T., Pitarch, E., Beltrán, J., Serrahima, E., Pineda, L., Muñoz, G., Centrich, F., & Hernández, F. (2010). Multi-residue determination of 130 multiclass pesticides in fruits and vegetables by gas chromatography coupled to triple quadrupole tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397(7), 2873–2891. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3597-8>

- Chen, Y., Yu, K., Hassan, M., Xu, C., Zhang, B., Gin, K. Y. H., & He, Y. (2018). Occurrence, distribution and risk assessment of pesticides in a river-reservoir system. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 166(July), 320–327. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.09.107>
- Cruzeiro, C., Amaral, S., Rocha, E., & Rocha, M. J. (2017). Determination of 54 pesticides in waters of the Iberian Douro River estuary and risk assessment of environmentally relevant mixtures using theoretical approaches and *Artemia salina* and *Daphnia magna* bioassays. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 145(June), 126–134. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.07.010>
- Cruzeiro, C., Pardal, M. Â., Rodrigues-Oliveira, N., Castro, L. F. C., Rocha, E., & Rocha, M. J. (2016). Multi-matrix quantification and risk assessment of pesticides in the longest river of the Iberian peninsula. *Science of the Total Environment*, 572, 263–272. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.203>
- Dabrowski, Ł. (2016). Review of use of keepers in solvent evaporation procedure during the environmental sample analysis of some organic pollutants. *Trends in Analytical Chemistry*, 80, 507–516. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.10.014>
- Darwano, H., Vo Duy, S., & Sauvé, S. (2014). A new protocol for the analysis of pharmaceuticals, pesticides, and hormones in sediments and suspended particulate matter from rivers and municipal wastewaters. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 66(4), 582–593. <https://doi.org/10.1007/s00244-014-0007-9>
- Daughton, C. G. (2003). Cradle-to-cradle stewardship of drugs for minimizing their environmental disposition while promoting human health. I. Rational for and avenues toward a green pharmacy. *Environmental Health Perspectives*, 111(5), 757–774. <https://doi.org/10.1289/ehp.5947>
- de Castro-Català, N., Kuzmanovic, M., Roig, N., Sierra, J., Ginebreda, A., Barceló, D., Pérez, S., Petrovic, M., Picó, Y., Schuhmacher, M., & Muñoz, I. (2016). Ecotoxicity of sediments in rivers: Invertebrate community, toxicity bioassays and the toxic unit approach as complementary assessment tools. *Science of the Total Environment*, 540, 297–306. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.071>
- De Gerónimo, E., Aparicio, V. C., Bárbaro, S., Portocarrero, R., Jaime, S., & Costa, J. L. (2014). Presence of pesticides in surface water from four sub-basins in Argentina. *Chemosphere*, 107, 423–431. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.039>
- Degenhardt, D., Humphries, D., Cessna, A. J., Messing, P., Badiou, P. H., Raina, R., Farenhorst, A., & Pennock, D. J. (2012). Dissipation of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water and sediment of two Canadian prairie wetlands. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*,

- 47(7), 631–639. <https://doi.org/10.1080/03601234.2012.668459>
- Delistraty, D., & Yokel, J. (2007). Chemical and ecotoxicological characterization of Columbia River sediments below the Hanford site (USA). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66(1), 16–28. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.10.008>
- Demonte, L. D., Michlig, N., Gaggiotti, M., Adam, C. G., Beldoménico, H. R., & Repetti, M. R. (2018). Determination of glyphosate, AMPA and glufosinate in dairy farm water from Argentina using a simplified UHPLC-MS/MS method. *Science of the Total Environment*, 645, 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.340>
- DGSA. (2016). *Resolución N° 104/016 de DGSA: Prohíbase la importación, registro y renovación de los productos fitosanitarios a base de Atrazina*. Dirección General de Servicios Agrícolas, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Uruguay. <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/institucional/normativa/resolucion-n-104016-dgsa-prohibase-importacion-registro-renovacion>
- Di Marzio, W. D., Sáenz, M., Alberdi, J., Tortorelli, M., & Silvana, G. (2005). Risk assessment of domestic and industrial effluents unloaded into a freshwater environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.10.002>
- Dill, G. M. (2005). Glyphosate-resistant crops: History, status and future. *Pest Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.1008>
- Ding, Y., Harwood, A. D., Foslund, H. M., & Lydy, M. J. (2010). Distribution and toxicity of sediment-associated pesticides in urban and agricultural waterways from Illinois, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(1), 149–157. <https://doi.org/10.1002/etc.13>
- Dollinger, J., Dagès, C., & Voltz, M. (2015). Glyphosate sorption to soils and sediments predicted by pedotransfer functions. *Environmental Chemistry Letters*, 13(3), 293–307. <https://doi.org/10.1007/s10311-015-0515-5>
- Donald, P. F. (2004). Biodiversity Impacts of Some Agricultural Commodity Production Systems. In *Conservation Biology*. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2004.01803.x>
- Đurovic, R., & Đorđević, T. (2011). Modern Extraction Techniques for Pesticide Residues Determination in Plant and Soil Samples. *Pesticides in the Modern World – Trends in Pesticides Analysis*. <https://doi.org/10.5772/701>
- EC. (1997). Biological Test Method: Test for Survival and Growth in Sediment Using the Freshwater Amphipod *Hyalella azteca*. In *Environment Canada*. <https://doi.org/EPS1/RM/33>

- EC. (2002). Review Report for the Active Substance Glyphosate. *EUROPEAN COMMISSION HEALTH & CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL*, 6511/V1/99-final, 1–56.
- ECOFRAM. (1999). *ECOFRAM Aquatic Report*.
- EFSA. (2015). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance pyridaben. *EFSA Journal*, 13(11), 107. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1632>.
- Engler, P., Rodriguez, M. G., Cancio, R. A., Handloser, M., & Vera, L. M. (2008). Zonas AgroEconómicas Homogéneas Entre Ríos. *Estudios Socioeconómicos de La Sustentabilidad de Los Sistemas de Producción y Recursos Naturales*, 6, 1–11.
- Etchegoyen, M. A., Marino, D. J. G., & Capparelli, A. L. (2020). *Tópicos de Química y Físicoquímica Ambiental*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata.
- Etchegoyen, M. A., Ronco, A. E., Almada, P., Abelando, M., & Marino, D. J. G. (2017). Occurrence and fate of pesticides in the Argentine stretch of the Paraguay-Paraná basin. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(2), 63. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-5773-1>
- European Commission. (2003). Technical guidance document in support of commission directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and commission regulation (EC) No 1488/94 on risk assessment for exiting substances. In *European Chemicals Bureau*.
- European Union. (2004). Commission Decision of 10 March 2004 concerning the non-inclusion of atrazine in Annex I to Council Directive 91/414/EEC and the withdrawal of authorisations for plant protection products containing this active substance. *Official Journal of the European Union*. <https://doi.org/10.4337/9781843769767.00039>
- Fairbairn, D. J., Karpuzcu, M. E., Arnold, W. A., Barber, B. L., Kaufenberg, E. F., Koskinen, W. C., Novak, P. J., Rice, P. J., & Swackhamer, D. L. (2015). Sediment-water distribution of contaminants of emerging concern in a mixed use watershed. *Science of the Total Environment*, 505, 896–904. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.10.046>
- FAO. (2014). *Código Internacional de Conducta para la Gestión de Plaguicidas*. Food and Agriculture Organization. <https://doi.org/13604S/1/12.14>
- Feo, M. L., Ginebreda, A., Eljarrat, E., & Barceló, D. (2010). Presence of pyrethroid pesticides in water and sediments of Ebro River Delta. *Journal of Hydrology*, 393(3–4), 156–162. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2010.08.012>
- Finizio, A., Vighi, M., & Sandroni, D. (1997). Determination of n-octanol/water partition coefficient (Kow) of pesticide critical review and comparison of methods. *Chemosphere*.

[https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(96\)00355-4](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(96)00355-4)

Friberg, N., Lindstrøm, M., Kronvang, B., & Larsen, S. E. (2003). Macroinvertebrate/sediment relationships along a pesticide gradient in danish streams. *Hydrobiologia*, *494*, 103–110. <https://doi.org/10.1023/A:1025493627272>

García, M. (2008). Uso y acceso a la tierra en el marco del nuevo modelo productivo de la horticultura platense. *Rev. Interdiscipl. Est. Agr.*, *29*(01).

García, M. (2011). El cinturón hortícola platense: ahogándonos en un mar de plásticos. Un ensayo acerca de la tecnología, el ambiente y la política. *Theomai*, *23*, 35–53. <https://doi.org/ISSN 1515-6443>

García, M. (2015). Horticultura de La Plata (Buenos Aires). Modelo productivo irracionalmente exitoso. *Rev. Fac. Agron. La Plata*, *114*, 190–201.

García, M. E., Rodríguez Capítulo, A., & Ferrari, L. (2010). Age-related differential sensitivity to cadmium in *Hyalella curvispina* (Amphipoda) and implications in ecotoxicity studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.12.022>

Gimsing, A. L., Borggaard, O. K., & Sestoft, P. (2004). Modeling the Kinetics of the Competitive Adsorption and Desorption of Glyphosate and Phosphate on Goethite and Gibbsite and in Soils. *Environmental Science and Technology*, *38*(6), 1718–1722. <https://doi.org/10.1021/es030572u>

Goldenman, G. (2017). Study for the strategy for a non-toxic environment of the 7th EAP. Sub-study d : Very Persistent Chemicals. *Directorate-General for Environment Sustainable Chemicals*, August. <https://ec.europa.eu/environment/chemicals/non-toxic/pdf/Sub-study a substitution grouping NTE final.pdf>

González-Curbelo, M., Socas-Rodríguez, B., Herrera-Herrera, A. V., González-Sálamo, J., Hernández-Borges, J., & Rodríguez-Delgado, M. (2015). Evolution and applications of the QuEChERS method. *Trends in Analytical Chemistry*, *71*, 169–185. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.012>

Graymore, M., Stagnitti, F., & Allinson, G. (2001). Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. *Environment International*, *26*(7–8), 483–495. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(01\)00031-9](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(01)00031-9)

Hanke, I., Singer, H., & Hollender, J. (2008). Ultratrace-level determination of glyphosate, aminomethylphosphonic acid and glufosinate in natural waters by solid-phase extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Performance tuning of derivatization, enrichment and detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *391*(6), 2265–2276. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2134-5>

- He, L. M., Troiano, J., Wang, A., & Goh, K. (2008). Environmental chemistry, ecotoxicity, and fate of lambda-cyhalothrin. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 195, 71–91. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-77030-7\\_3](https://doi.org/10.1007/978-0-387-77030-7_3)
- Heap, I. (2014). Global perspective of herbicide-resistant weeds. In *Pest Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.3696>
- Heap, I. (2020). *The International Survey of Herbicide Resistant Weeds*. [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)
- Heiri, O., Lotter, A. F., & Lemcke, G. (2001). Loss on ignition as a method for estimating organic and carbonate content in sediments: reproducibility and comparability of results. *Journal of Paleolimnology*, 25(1), 101–110. <https://doi.org/10.1023/A:1008119611481>
- Hernández, A. F., Gil, F., & Lacasaña, M. (2017). Toxicological interactions of pesticide mixtures: an update. *Archives of Toxicology*, 91(10), 3211–3223. <https://doi.org/10.1007/s00204-017-2043-5>
- Herrero-Hernández, E., Andrades, M. S., Álvarez-Martín, A., Pose-Juan, E., Rodríguez-Cruz, M. S., & Sánchez-Martín, M. J. (2013). Occurrence of pesticides and some of their degradation products in waters in a Spanish wine region. *Journal of Hydrology*, 486, 234–245. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2013.01.025>
- Hladik, M. L., & McWayne, M. M. (2012). Methods of Analysis—Determination of Pesticides in Sediment Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *U.S. Geological Survey*, 28.
- Hladik, M. L., Orlando, J. L., & Kuivila, K. M. (2009). Collection of Pyrethroids in Water and Sediment Matrices: Development and Validation of a Standard Operating Procedure. *US Geological Survey*, 1–34. <http://pubs.usgs.gov/sir/2009/5012/%5Cnhttp://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Collection+of+Pyrethroids+in+Water+and+Sediment+Matrices+:+Development+and+Validation+of+a+Standard+Operating+Procedure+Scientific+Investigations+Report+2>
- Ho, K. T., & Burgess, R. M. (2013). What's causing toxicity in sediments? Results of 20 years of toxicity identification and evaluations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32(11), 2424–2432. <https://doi.org/10.1002/etc.2359>
- Höss, S., Claus, E., Von der Ohe, P. C., Brinke, M., Güde, H., Heininger, P., & Traunspurger, W. (2011). Nematode species at risk - A metric to assess pollution in soft sediments of freshwaters. *Environment International*. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.03.013>
- Hunt, L., Bonetto, C., Resh, V. H., Buss, D. F., Fanelli, S., Marrochi, N., & Lydy, M. J. (2016). Insecticide concentrations in stream sediments of soy production regions of South America. *Science of the Total Environment*, 547, 114–124. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.140>

- Hunt, L., Marrochi, N., Bonetto, C., Liess, M., Buss, D. F., Vieira da Silva, C., Chiu, M. C., & Resh, V. H. (2017). Do Riparian Buffers Protect Stream Invertebrate Communities in South American Atlantic Forest Agricultural Areas? *Environmental Management*, 60(6), 1155–1170. <https://doi.org/10.1007/s00267-017-0938-9>
- Hurtado, M. A., & Giménez, J. E. (2006). ANÁLISIS AMBIENTAL DEL PARTIDO DE LA PLATA, Aportes al Ordenamiento Territorial. *Instituto de Geomorfología y Suelos*, 129.
- Ibáñez, M., Pozo, Ó. J., Sancho, J. V., López, F. J., & Hernández, F. (2005). Residue determination of glyphosate, glufosinate and aminomethylphosphonic acid in water and soil samples by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1081(2), 145–155. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.05.041>
- InfoCampo. (2011). *Bayer CropScience podrá comercializar en el país cultivos de soja con tolerancia a glufosinato de amonio (19-08-2011)*. <https://www.infocampo.com.ar/bayer-cropscience-podra-comercializar-en-el-pais-cultivos-de-soja-con-tolerancia-a-glufosinato-de-amonio/>
- Ingersoll, C. G., Kunz, J. L., Hughes, J. P., Wang, N., Ireland, D. S., Mount, D. R., Hockett, J. R., & Valenti, T. W. (2015). Relative sensitivity of an amphipod *Hyaella azteca*, a midge *Chironomus dilutus*, and a unionid mussel *Lampsilis siliquoidea* to a toxic sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34(5), 1134–1144. <https://doi.org/10.1002/etc.2909>
- IRAM. (2003). *Calidad ambiental-Calidad de agua. Muestreo. Parte 16: Guía para el bioensayo de muestras (29012-16)*. Instituto Argentino de Normalización y Certificación.
- Iturburu, F. G., Calderon, G., Amé, M. V., & Menone, M. L. (2019). Ecological Risk Assessment (ERA) of pesticides from freshwater ecosystems in the Pampas region of Argentina: Legacy and current use chemicals contribution. *Science of the Total Environment*, 691, 476–482. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.044>
- Jablonowski, N. D., Schäffer, A., & Burauel, P. (2011). Still present after all these years: Persistence plus potential toxicity raise questions about the use of atrazine. *Environmental Science and Pollution Research*, 18(2), 328–331. <https://doi.org/10.1007/s11356-010-0431-y>
- Jergentz, S., Mugni, H., Bonetto, C., & Schulz, R. (2004). Runoff-Related Endosulfan Contamination and Aquatic Macroinvertebrate Response in Rural Basins Near Buenos Aires, Argentina. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 46(3), 345–352. <https://doi.org/10.1007/s00244-003-2169-8>
- Jergentz, S., Mugni, H., Bonetto, C., & Schulz, R. (2005). Assessment of insecticide contamination in runoff and stream water of small agricultural streams in the main

- soybean area of Argentina. *Chemosphere*, 61(6), 817–826. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.04.036>
- Karickhoff, S. W., & Morris, K. R. (1985). Sorption dynamics of hydrophobic pollutants in sediment suspensions. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 4(4), 469–479. <https://doi.org/10.1002/etc.5620040407>
- Kreuger, J., Graaf, S., Patring, J., & Adielsson, S. (2010). Pesticides in surface water in areas with open ground and greenhouse horticultural crops in Sweden 2008. *Swedish University of Agricultural Sciences*, 49. <https://doi.org/10.1108/17542731011035514>
- Kronvang, B., Strøm, H. L., Hoffman, C. C., Laubel, A., & Friberg, N. (2004). Subsurface tile drainage loss of modern pesticides: Field experiment results. *Water Science and Technology*, 49(3), 139–148.
- La Nación. (2019). *El trigo transgénico (23-02-2019)*. La Nación. <https://www.lanacion.com.ar/editoriales/el-trigo-transgenico-nid2222558>
- Larson, S. J., Capel, P. D., Goolsby, D. A., Zaugg, S. D., & Sandstrom, M. W. (1995). Relations between pesticide use and riverine flux in the Mississippi River basin. *Chemosphere*, 31(5), 3305–3321. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(95\)00176-9](https://doi.org/10.1016/0045-6535(95)00176-9)
- Larson, S. J., Capel, P. D., & Majewski, M. S. (1997). Pesticides in surface waters, Distribution, trends and governing factors. In *Ann Arbor Press*.
- Lefrancq, M., Jadas-Hécart, A., La Jeunesse, I., Landry, D., & Payraudeau, S. (2017). High frequency monitoring of pesticides in runoff water to improve understanding of their transport and environmental impacts. *Science of the Total Environment*, 587–588, 75–86. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.022>
- Lendoiro, F. (2020). *Bioceres se entusiasma con la aprobación de la soja transgénica de un aliado en China (23-06-2020)*. El Cronista. <https://www.cronista.com/apertura-negocio/empresas/Bioceres-se-entusiasma-con-la-aprobacion-de-la-soja-transgenica-de-un-aliado-en-China-20200623-0003.html>
- Lewis, K. A., Tzilivakis, J., Warner, D. J., & Green, A. (2016). An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and Ecological Risk Assessment*, 22(4), 1050–1064. <https://doi.org/10.1080/10807039.2015.1133242>
- Linde, C. D. (1994). Physico-Chemical Properties and Environmental Fate of Pesticides. *Environmental Hazards Assessment Program*, 56.
- Loewy, R. M. (2011). Dinámica ambiental de plaguicidas. *Clasificación y Toxicología de Plaguicidas*, 237–265.

- Lorenz, S., Rasmussen, J. J., Süß, A., Kalettka, T., Golla, B., Horney, P., Stähler, M., Hommel, B., & Schäfer, R. B. (2017). Specifics and challenges of assessing exposure and effects of pesticides in small water bodies. *Hydrobiologia*, 793(1), 213–224. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-2973-6>
- Lupi, L., Miglioranza, K., Aparicio, V. C., Marino, D. J. G., Bedmar, F., & Wunderlin, D. A. (2015). Occurrence of glyphosate and AMPA in an agricultural watershed from the southeastern region of Argentina. *Science of the Total Environment*, 536, 687–694. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.090>
- Mac Loughlin, T. M., Peluso, M. L., Aparicio, V. C., & Marino, D. J. G. (2020). Contribution of Soluble and Particulate-Matter Fractions to the Total Glyphosate and AMPA Load in Water Bodies Associated with Horticulture. *Science of the Total Environment*, 703, 134717. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134717>
- Mac Loughlin, T. M., Peluso, M. L., Etchegoyen, M. A., Alonso, L. L., de Castro, M. C., Percudani, M. C., & Marino, D. J. G. (2018). Pesticide residues in fruits and vegetables of the argentine domestic market: Occurrence and quality. *Food Control*, 93(November), 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.041>
- Mac Loughlin, T. M., Peluso, M. L., & Marino, D. J. G. (2017). Pesticide impact study in the peri-urban horticultural area of Gran La Plata, Argentina. *Science of the Total Environment*, 598, 572–580. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.116>
- Macchi, P., Loewy, R. M., Lares, B., Latini, L., Monza, L., Guiñazú, N., & Montagna, C. M. (2018). The impact of pesticides on the macroinvertebrate community in the water channels of the Río Negro and Neuquén Valley, North Patagonia (Argentina). *Environmental Science and Pollution Research*, 25(11), 10668–10678. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1330-x>
- MAGyP. (2020a). *Estimaciones Agrícolas (01-10-2020)*. Subsecretaria de Agricultura, Dirección Nacional de Agricultura, Dirección de Estimaciones Agrícolas. <http://datosestimaciones.magyp.gob.ar/>
- MAGyP. (2020b). *RESOL-2020-41-APN-SABYDR#MAGYP*. Boletín Oficial. <https://www.boletinoficial.gob.ar/detalleAviso/primera/235913/20201009>
- Mahler, B. J., Van Metre, P. C., Burley, T. E., Loftin, K. A., Meyer, M. T., & Nowell, L. H. (2017). Similarities and differences in occurrence and temporal fluctuations in glyphosate and atrazine in small Midwestern streams (USA) during the 2013 growing season. *Science of the Total Environment*, 579, 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.236>
- Marino, D. J. G., & Ronco, A. E. (2005). Cypermethrin and Chlorpyrifos Concentration Levels in Surface Water Bodies of the Pampa Ondulada, Argentina. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75(4), 820–826. <https://doi.org/10.1007/s00128-005->

0824-7

- Martínez, S. J. (2004). *CUENCA DEL RIO GUALEGUAY Cuenca N° 34*. <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/34.pdf>
- Masiá, A., Vasquez, K., Campo, J., & Picó, Y. (2015). Assessment of two extraction methods to determine pesticides in soils, sediments and sludges. Application to the Turia River Basin. *Journal of Chromatography A*, 1378, 19–31.
- Massei, R., Busch, W., Wolschke, H., Schinkel, L., Bitsch, M., Schulze, T., Krauss, M., & Brack, W. (2018). Screening of Pesticide and Biocide Patterns As Risk Drivers in Sediments of Major European River Mouths: Ubiquitous or River Basin-Specific Contamination? *Environmental Science and Technology*, 52(4), 2251–2260. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04355>
- McConnell, J. S., & Hossner, L. R. (1985). pH-Dependent Adsorption Isotherms of Glyphosate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(6), 1075–1078. <https://doi.org/10.1021/jf00066a014>
- McLaughlin, A., & Mineau, P. (1995). The impact of agricultural practices on biodiversity. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 55(3), 201–212. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(95\)00609-V](https://doi.org/10.1016/0167-8809(95)00609-V)
- Medalie, L., Baker, N. T., Shoda, M. E., Stone, W. W., Meyer, M. T., Stets, E. G., & Wilson, M. (2020). Influence of land use and region on glyphosate and aminomethylphosphonic acid in streams in the USA. *Science of the Total Environment*, 707. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136008>
- Mich, L. (2020). *Trigo transgénico: la segregación condicionará su comercialización (05-10-2020)*. <https://elabcrural.com/trigo-transgenico-la-segregacion-condicionara-su-comercializacion/>
- Miglioranza, K., González Sagrario, M. de los A., Aizpún de Moreno, J. E., Moreno, V. J., Escalante, A. H., & Osterrieth, M. L. (2002). Agricultural soil as a potential source of input of organochlorine pesticides into a nearby pond. *Environmental Science and Pollution Research*, 9(4), 250–256. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0346550127&partnerID=tZOtx3y1>
- Miranda, K., Cunha, M. L. F. F., Dores, E. F. G. C. G. C., & Calheiros, D. F. (2008). Pesticide residues in river sediments from the Pantanal Wetland, Brazil. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 43(8), 717–722. <https://doi.org/10.1080/03601230802388843>
- Mmualefe, L. C., Mpofo, C., & Torto, N. (2011). Modern Sample Preparation Techniques for Pesticide Analysis. *Pesticides in the Modern World – Trends in Pesticides Analysis*, 199–

220. <http://www.intechopen.com/books/pesticides-in-the-modern-world-trends-in-pesticides-analysis/modern-sample-preparation-techniques-for-pesticide-analysis>
- Moran, P. W., Nowell, L. H., Kemble, N. E., Mahler, B. J., Waite, I. R., & Van Metre, P. C. (2017). Influence of sediment chemistry and sediment toxicity on macroinvertebrate communities across 99 wadable streams of the Midwestern USA. *Science of the Total Environment*, 599–600, 1469–1478. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.035>
- Moschet, C., Wittmer, I., Simovic, J., Junghans, M., Piazzoli, A., Singer, H., Stamm, C., Leu, C., & Hollender, J. (2014). How a complete pesticide screening changes the assessment of surface water quality. *Environmental Science and Technology*, 48(10), 5423–5432. <https://doi.org/10.1021/es500371t>
- Mugni, H., Paracampo, A., Marrochi, N., & Bonetto, C. (2013). Acute toxicity of cypermethrin to the non target organism *Hyalella curvispina*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 35(1), 88–92. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2012.11.008>
- Municipalidad de La Plata. (2005). Censo Hortiflorícola de la Provincia de Buenos Aires. *Provincia de Buenos Aires*.
- Neal, J. (2015). *Greenhouse Weed Control*. <https://content.ces.ncsu.edu/greenhouse-weed-control>
- Neal, J., & Senesac, A. (2018). *Are There Alternatives to Glyphosate for Weed Control in Landscapes?* NC State Extension Publications. <https://content.ces.ncsu.edu/are-there-alternatives-to-glyphosate-for-weed-control-in-landscapes>
- Noble, A. (1993). Partition coefficients (n-octanol-water) for pesticides. *Journal of Chromatography A*, 642(1–2), 3–14. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(93\)80072-G](https://doi.org/10.1016/0021-9673(93)80072-G)
- Nowell, L. H., Norman, J. E., Ingersoll, C. G., & Moran, P. W. (2016). Development and application of freshwater sediment-toxicity benchmarks for currently used pesticides. *Science of the Total Environment*, 550, 835–850. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.081>
- O'Connor, D. J., & Connolly, J. P. (1980). The effect of concentration of adsorbing solids on the partition coefficient. *Water Research*. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(80\)90018-4](https://doi.org/10.1016/0043-1354(80)90018-4)
- OECD. (2004). Test No. 117: Partition Coefficient (n-octanol/water), HPLC Method. *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*. <https://doi.org/10.1787/9789264069824-en>
- Ogbeide, O., Chukwuka, A., Tongo, I., & Ezemonye, L. (2018). Relationship between geosorbent properties and field-based partition coefficients for pesticides in surface water and sediments of selected agrarian catchments: Implications for risk assessment. *Journal of Environmental Management*, 217, 23–37.

<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.065>

- Okada, E., Pérez, D. J., De Gerónimo, E., Aparicio, V. C., Massone, H., & Costa, J. L. (2018). Non-point source pollution of glyphosate and AMPA in a rural basin from the southeast Pampas, Argentina. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(15), 15120–15132. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1734-7>
- Oliver, D. P., Kookana, R. S., Anderson, J. S., Cox, J. W., Fleming, N., Waller, N., & Smith, L. H. (2012). Off-site transport of pesticides from two horticultural land uses in the Mt. Lofty Ranges, South Australia. *Agricultural Water Management*, 106, 60–69. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2011.06.004>
- Padilla, J. T., & Selim, H. M. (2019). Interactions among Glyphosate and Phosphate in Soils: Laboratory Retention and Transport Studies. *Journal of Environmental Quality*, 48(1), 156–163. <https://doi.org/10.2134/jeq2018.06.0252>
- Palma, P., Köck-Schulmeyer, M., Alvarenga, P., Ledo, L., Barbosa, I. R., López de Alda, M. J., & Barceló, D. (2014). Risk assessment of pesticides detected in surface water of the Alqueva reservoir (Guadiana basin, southern of Portugal). *Science of the Total Environment*, 488–489(1), 208–219. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.088>
- Palumbo, A. J., Fojut, T. L., Brander, S. M., & Tjeerdema, R. S. (2010). Water Quality Criteria Report for Bifenthrin. Phase III: Application of the pesticide water quality criteria methodology. *Department of Environmental Toxicology University of California, Davis*.
- Papadakis, E. N., Tsaboula, A., Kotopoulou, A., Kintzikoglou, K., Vryzas, Z., & Papadopoulou-Mourkidou, E. (2015). Pesticides in the surface waters of Lake Vistonis Basin, Greece: Occurrence and environmental risk assessment. *Science of the Total Environment*, 536, 793–802. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.099>
- Peluso, M. L. (2011). *Evaluación de efectos biológicos y biodisponibilidad de contaminantes en sedimentos del Río de la Plata y afluentes*. 170.
- Peluso, M. L., Abelando, M., Apartín, C. D., Almada, P., & Ronco, A. E. (2013). Integrated ecotoxicological assessment of bottom sediments from the Paraná basin, Argentina. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 98, 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.09.001>
- Peluso, M. L., Bulus Rossini, G., Salibián, A., & Ronco, A. E. (2013). Physicochemical and ecotoxicological based assessment of bottom sediments from the Luján River basin, Buenos Aires, Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(7), 5993–6002. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-3000-7>
- Peluso, M. L., Giusto, A., Bulus Rossini, G., Ferrari, L., Salibián, A., & Ronco, A. E. (2011). *Hyalella curvispina* (amphipoda) as a test organism in laboratory toxicity testing of

- environmental samples. *Fresenius Environmental Bulletin*.
- Pérez, D. J., Iturburu, F. G., Calderon, G., Oyesqui, L. A. E., De Gerónimo, E., & Aparicio, V. C. (2021). Ecological risk assessment of current-use pesticides and biocides in soils, sediments and surface water of a mixed land-use basin of the Pampas region, Argentina. *Chemosphere*, 263. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128061>
- Phillips, B. M., Anderson, B. S., Hunt, J. W., Huntley, S. A., Tjeerdema, R. S., Kapellas, N., & Worcester, K. (2006). Solid-phase sediment toxicity identification evaluation in an agricultural stream. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(6), 1671–1676. <https://doi.org/10.1897/05-497R1.1>
- Pimentel, D. (1995). Amounts of pesticides reaching target pests: Environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*. <https://doi.org/10.1007/BF02286399>
- Posthuma, L., van Gils, J., Zijp, M. C., van de Meent, D., & de Zwart, D. (2019). Species sensitivity distributions for use in environmental protection, assessment, and management of aquatic ecosystems for 12 386 chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 38(4), 703–711. <https://doi.org/10.1002/etc.4373>
- Primost, J. E., Marino, D. J. G., Aparicio, V. C., Costa, J. L., & Carriquiriborde, P. (2017). Glyphosate and AMPA, “pseudo-persistent” pollutants under real-world agricultural management practices in the Mesopotamic Pampas agroecosystem, Argentina. *Environmental Pollution*, 229, 771–779. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.06.006>
- Quignard, I., Sione, W. F., Maldonado, F. D., Gavilan, S., Tentor, F. R., & Aceñolaza, P. (2013). Análisis de la distribución espacio temporal de puntos de calor en la cuenca del Río Gualaguay, Provincia de Entre Ríos, Argentina. *Anais XVI Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, April 2013*, 2046–2053. <http://www.dsr.inpe.br/sbsr2013/files/p0794.pdf>
- Quinn, G. P., & Keough, M. J. (2002). Experimental Design and Data Analysis for Biologists. In *Experimental design and data analysis for biologists* (Vol. 277, Issue 2). [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(02\)00278-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(02)00278-2)
- Rand, G. M. (1995). *Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment*. 2nd ed.
- Reilly, T. J., Smalling, K. L., Orlando, J. L., & Kuivila, K. M. (2012). Occurrence of boscalid and other selected fungicides in surface water and groundwater in three targeted use areas in the United States. *Chemosphere*, 89(3), 228–234. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.023>
- Ronco, A. E., Marino, D. J. G., Abelando, M., Almada, P., & Apartín, C. D. (2016). Water quality

- of the main tributaries of the Paraná Basin: glyphosate and AMPA in surface water and bottom sediments. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(8). <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5467-0>
- Roseth, R., & Haarstad, K. (2010). Pesticide runoff from greenhouse production. *Water Science and Technology*, 61(6), 1373–1381. <https://doi.org/10.2166/wst.2010.040>
- Rueden, C. T., Schindelin, J., Hiner, M. C., DeZonia, B. E., Walter, A. E., Arena, E. T., & Eliceiri, K. W. (2017). ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. *BMC Bioinformatics*, 18(1), 1–26. <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1934-z>
- SAMLA. (2004). *Recopilación de las técnicas de laboratorio vigentes y reconocidas por el "Sistema de apoyo metodológico a los laboratorios de análisis de suelos, agua, vegetales y enmiendas orgánicas-SAMLA", en proceso de revisión y actualización en el marco del conveni.*
- SANCO. (2006). QUALITY CONTROL PROCEDURES FOR PESTICIDE RESIDUES ANALYSIS. In *Document N° SANCO/10232/2006.*
- SANTE. (2015). *Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed.*
- Sarandón, S. (2015). Relevamiento de la utilización de agroquímicos en la Provincia de Buenos Aires. Mapa de situación e incidencia sobre la salud. *Defensor Del Pueblo de La Provincia de Buenos Aires*, 533.
- Schafer, R. B., Pettigrove, V., Rose, G., Allinson, G., Wightwick, A. M., Von Der Ohe, P. C., Shimeta, J., Kuhne, R., Kefford, B. J., Schäfer, R. B., Pettigrove, V., Rose, G., Allinson, G., Wightwick, A. M., Von Der Ohe, P. C., Shimeta, J., Kühne, R., & Kefford, B. J. (2011). Effects of pesticides monitored with three sampling methods in 24 sites on macroinvertebrates and microorganisms. *Environmental Science and Technology*, 45(4), 1665–1672. <https://doi.org/10.1021/es103227q>
- Scribner, E. A., Battaglin, W. A., Gilliom, R. J., & Meyer, M. T. (2007). Concentrations of Glyphosate, Its Degradation Product, Aminomethylphosphonic Acid, and Glufosinate in Ground- and Surface-Water, Rainfall, and Soil Samples Collected in the United States, 2001–06. *U.S. Geological Survey*, 111.
- Shoemaker, C. R. (1942). A new species of amphipoda from Uruguay and Brazil. *Journal of the Washington Academy of Sciences*, 32(3), 80–82.
- Silva, C., Boia, C., Valente, J., & Borrego, C. (2005). Pesticides in Esteros del Ibera (AR): Evaluation of impacts and proposal of guidelines for water quality protection. *Ecological Modelling*, 186(1 SPEC. ISS.), 85–87. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.01.018>

- Smalling, K. L., Reilly, T. J., Sandstrom, M. W., & Kuivila, K. M. (2013). Occurrence and persistence of fungicides in bed sediments and suspended solids from three targeted use areas in the United States. *Science of the Total Environment*, 447, 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.021>
- Solis, M., Arias, M., Fanelli, S., Bonetto, C., & Mugni, H. (2019). Agrochemicals' effects on functional feeding groups of macroinvertebrates in Pampas streams. *Ecological Indicators*, 101(January), 373–379. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.01.036>
- Solis, M., Mugni, H., Fanelli, S., & Bonetto, C. (2017). Effect of agrochemicals on macroinvertebrate assemblages in Pampasic streams, Buenos Aires, Argentina. *Environmental Earth Sciences*, 76(4). <https://doi.org/10.1007/s12665-017-6476-1>
- Soracco, C. G., Villarreal, R., Lozano, L. A., Vittori, S., Melani, E. M., & Marino, D. J. G. (2018). Glyphosate dynamics in a soil under conventional and no-till systems during a soybean growing season. *Geoderma*, 323, 13–21. <https://doi.org/10.1016/J.GEODERMA.2018.02.041>
- Souza Casadinho, O. J., & Bocero, S. L. (2008). Agrotóxicos: condiciones de utilización en la horticultura de la Provincia de Buenos Aires (Argentina). *Revista Iberoamericana de Economía Ecológica*, 9(9), 87–101. <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2940991&info=resumen&idioma=EN G>
- Spectro Scientific. (2015). *Emulsion breaking techniques for oil in water solvent extractions*. 9001. [http://wilksir.com/pdf/Breaking\\_Emulsions\\_Oil\\_Grease\\_Extractions.pdf](http://wilksir.com/pdf/Breaking_Emulsions_Oil_Grease_Extractions.pdf)
- Sprague, J. B., & Ramsay, B. A. (1965). Lethal Levels of Mixed Copper–Zinc Solutions for Juvenile Salmon. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. <https://doi.org/10.1139/f65-042>
- Spycher, S., Mangold, S., Doppler, T., Junghans, M., Wittmer, I., Stamm, C., & Singer, H. (2018). Pesticide Risks in Small Streams - How to Get as Close as Possible to the Stress Imposed on Aquatic Organisms. *Environmental Science and Technology*, 52(8), 4526–4535. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b00077>
- SRHN. (2003a). DESARROLLOS DE NIVELES GUIA NACIONALES DE CALIDAD DE AGUA AMBIENTE CORRESPONDIENTES A ATRAZINA. *Subsecretaria de Recursos Hídricos de La Nación, República Argentina*.
- SRHN. (2003b). DESARROLLOS DE NIVELES GUIA NACIONALES DE CALIDAD DE AGUA AMBIENTE CORRESPONDIENTES A CIPERMETRINA. *Subsecretaria de Recursos Hídricos de La Nación, República Argentina*.
- SRHN. (2003c). DESARROLLOS DE NIVELES GUIA NACIONALES DE CALIDAD DE AGUA

- AMBIENTE CORRESPONDIENTES A GLIFOSATO. *Subsecretaria de Recursos Hídricos de La Nación, República Argentina.*
- SRHN. (2004). DESARROLLOS DE NIVELES GUIAS NACIONALES DE CALIDAD DE AGUA AMBIENTE CORRESPONDIENTES A ENDOSULFAN. *Subsecretaria de Recursos Hídricos de La Nación, República Argentina*, pp18.
- SRHN. (2005). DESARROLLOS DE NIVELES GUIA NACIONALES DE CALIDAD DE AGUA AMBIENTE CORRESPONDIENTES A CLORPIRIFOS. *Subsecretaria de Recursos Hídricos de La Nación, República Argentina.*
- Stehle, S., Knäbel, A., & Schulz, R. (2013). Probabilistic risk assessment of insecticide concentrations in agricultural surface waters: A critical appraisal. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(8), 6295–6310. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-3026-x>
- Stone, W. W., Gilliom, R. J., & Ryberg, K. R. (2014). Pesticides in U.S. streams and rivers: Occurrence and trends during 1992-2011. *Environmental Science and Technology*, 48(19), 11025–11030. <https://doi.org/10.1021/es5025367>
- Szöcs, E., Brinke, M., Karaoglan, B., & Schäfer, R. B. (2017). Large Scale Risks from Agricultural Pesticides in Small Streams. *Environmental Science and Technology*, 51(13), 7378–7385. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00933>
- Thomatou, A. A., Zacharias, I., Hela, D., & Konstantinou, I. (2013). Determination and risk assessment of pesticide residues in lake Amvrakia (W. Greece) after agricultural land use changes in the lake's drainage basin. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 93(7), 780–799. <https://doi.org/10.1080/03067319.2012.656099>
- Topaz, T., Egozi, R., Eshel, G., & Chefetz, B. (2018). Pesticide load dynamics during stormwater flow events in Mediterranean coastal streams: Alexander stream case study. *Science of the Total Environment*, 625, 168–177. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.213>
- USEPA. (1996). Method 3510C - Separatory funnel LLE. *Hazardous Waste Test Methods / SW-846*, 1(December), 1–7. [http://repository.upi.edu/1360/1/s\\_d5451\\_0604180\\_chapter1.pdf](http://repository.upi.edu/1360/1/s_d5451_0604180_chapter1.pdf)
- USEPA. (2000). Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates. *Environmental Protection Agency*. [https://doi.org/EPA\\_600/R-94/024](https://doi.org/EPA_600/R-94/024)
- USEPA. (2001). Methods for Collection, Storage and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses: Technical Manual Acknowledgments. *Environmental Protection Agency*.

- USEPA. (2008). *Risks of Glyphosate Use to Federally Threatened California Red-legged Frog (Rana aurora draytonii)*.
- USGS. (1999). Pesticides in stream sediment and aquatic biota. *USGS Fact Sheet, 092-00*. pdf
- ValorSoja. (2015). *Argentina autorizó el evento de algodón con tolerancia a glufosinato de amonio y glifosato (09-11-2015)*. <https://www.valorsoja.com/2015/11/09/argentina-autorizo-el-evento-de-algodon-con-tolerancia-a-glufosinato-de-amonio-y-glifosato/>
- van Vlaardingen, P. L. A., Traas, T. P., Wintersen, A. M., & Aldenberg, T. (2004). ETX 2.0 A Program to Calculate Hazardous Concentrations and Fraction Affected, Based on Normally Distributed Toxicity Data. *RIVM*, 1–68.
- Vašíčková, J., Hvězdová, M., Kosubová, P., & Hofman, J. (2019). Ecological risk assessment of pesticide residues in arable soils of the Czech Republic. *Chemosphere*, 216, 479–487. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.158>
- Vryzas, Z., Vassiliou, G., Alexoudis, C., & Papadopoulou-Mourkidou, E. (2009). Spatial and temporal distribution of pesticide residues in surface waters in northeastern Greece. *Water Research*, 43(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.09.021>
- Waller, A. (2017). Ficha zoológica: *Hyaella curvispina* (Shoemaker, 1942) (Crustacea: Peracarida: Amphipoda). *Noticias de La SZU*, 10(35), 27–29.
- Waller, A., Ramos, T., & Verdi, A. (2020). ESTRUCTURA POBLACIONAL Y ASPECTOS REPRODUCTIVOS DE UNA POBLACIÓN DE *Hyaella curvispina* (Shoemaker, 1942) DE URUGUAY. *Boletín de La Sociedad Zoológica Del Uruguay*, 29(2), 106–115.
- Wang, D., Weston, D. P., & Lydy, M. J. (2009). Method development for the analysis of organophosphate and pyrethroid insecticides at low parts per trillion levels in water. *Talanta*, 78(4–5), 1345–1351. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.02.012>
- Wen, Y. H. (1992). Life history and production of *Hyaella azteca* (Crustacea: Amphipoda) in a hypereutrophic prairie pond in southern Alberta. *Canadian Journal of Zoology*, 70(7). <https://doi.org/10.1139/z92-198>
- Weston, D. P., Ding, Y., Zhang, M., & Lydy, M. J. (2013). Identifying the cause of sediment toxicity in agricultural sediments: The role of pyrethroids and nine seldom-measured hydrophobic pesticides. *Chemosphere*, 90(3), 958–964. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.06.039>
- Weston, D. P., & Lydy, M. J. (2010a). Focused toxicity identification evaluations to rapidly identify the cause of toxicity in environmental samples. *Chemosphere*, 78(4), 368–374. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.11.017>

- Weston, D. P., & Lydy, M. J. (2010b). Urban and Agricultural Sources of Pyrethroid Insecticides to the Sacramento-San Joaquin Delta of California. *Environmental Science & Technology*, 44(5), 1833–1840. <https://doi.org/10.1021/es9035573>
- Weston, D. P., You, J., & Lydy, M. J. (2004). Distribution and Toxicity of Sediment-Associated Pesticides in Agriculture-Dominated Water Bodies of California's Central Valley. *Environmental Science & Technology*, 38(10), 2752–2759. <https://doi.org/10.1021/es0352193>
- WFD-CIS. (2003). Guidance Document No 25: Chemical monitoring of sediment and biota. In *Common Implementation Strategy for the WFD - Guidance Documents*.
- Widenfalk, A. (2002). Pesticide bioavailability in aquatic sediments – a literature review. Pesticide bioavailability in aquatic sediments - a literature review. *Department of Environmental Assessment, Swedish University of Agricultural Sciences*.
- Wightwick, A. M., Bui, A. D., Zhang, P., Rose, G., Allinson, M., Myers, J. H., Reichman, S. M., Menzies, N. W., Pettigrove, V., & Allinson, G. (2012). Environmental fate of fungicides in surface waters of a horticultural-production catchment in Southeastern Australia. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 62(3), 380–390. <https://doi.org/10.1007/s00244-011-9710-y>
- Xing, Z., Chow, L., Rees, H., Meng, F., Li, S., Ernst, B., Benoy, G., Zha, T., & Hewitt, L. M. (2013). Influences of sampling methodologies on pesticide-residue detection in stream water. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 64(2), 208–218. <https://doi.org/10.1007/s00244-012-9833-9>
- Xu, D., Meyer, S., Gaultier, J., Farenhorst, A., & Pennock, D. J. (2009). Land Use and Riparian Effects on Prairie Wetland Sediment Properties and Herbicide Sorption Coefficients. *Journal of Environment Quality*, 38(4), 1757. <https://doi.org/10.2134/jeq2008.0357>
- You, J., Pehkonen, S., Weston, D. P., & Lydy, M. J. (2008). Chemical availability and sediment toxicity of pyrethroid insecticides to *Hyalella azteca*: Application to field sediment with unexpectedly low toxicity. *Environmental Toxicology*, 27(10), 2124–2130. <https://doi.org/10.1897/08-016.1>
- You, J., Schuler, L. J., & Lydy, M. J. (2004). Acute toxicity of sediment-sorbed endrin, methoxychlor, and endosulfan to *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 73(3), 457–464. <https://doi.org/10.1007/s00128-004-0451-8>
- Zar, J. (2010). Biostatistical analysis. 5th. In *Pearson Prentice-Hall, Upper Saddle River*.

## Anexo

Tabla A1. Datos toxicológicos de plaguicidas ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) utilizados para riesgo agudo y crónico en aguas superficiales.

Plaguicida	Efecto agudo			Efecto crónico			CC	AF	PNEC
	Pez	Invertebrado	Alga	Pez	Invertebrado	Alga			
<b>GLY</b>	38	40	19	9,6	12,5	2	2	10	0,2
<b>AMPA</b>	520	690	200	12	150	0,2	0,2	10	0,02
<b>TRF</b>	0,088	0,245	0,0122	10	0,051	0,005	0,005	10	0,0005
<b>ATZ</b>	4,5	85	0,059	2	0,25	0,1	0,1	10	0,01
<b>ATC</b>	0,36	8,3	0,0036	0,13	0,022	0,00059	0,00059	10	0,000059
<b>BIF</b>	0,00026	0,00011	0,822	0,000012	0,0000013	10	0,0000013	10	0,00000013
<b>CYP</b>	0,0015	0,00021	0,067	0,00003	0,00004	1,3	0,00003	10	0,000003
<b>DEL</b>	0,00015	0,00056	0,00047	0,000032	0,0000041	<i>DNR</i>	0,0000041	50	0,000000082
<b><math>\lambda</math>-CIAL</b>	0,00021	0,00023	0,005	0,000031	0,0000022	0,31	0,0000022	10	0,00000022
<b>CLP</b>	0,025	0,0001	0,48	0,00014	0,0046	0,043	0,00014	10	0,000014
<b>END</b>	0,002	0,44	2,15	0,0000001	<i>DNR</i>	<i>DNR</i>	0,0000001	100	0,000000001
<b>AZX</b>	0,47	0,23	0,36	0,147	0,044	0,8	0,044	10	0,0044

*DNR: data no reportada.*

Tabla A2. Eigenvalues, variabilidad, y carga de cada variable sobre todos los factores (F1 a F15) del Análisis de Componentes Principales para resultados de bioensayos de toxicidad, concentraciones de plaguicidas en sedimentos del CHP.

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15
<b>Eigenvalue</b>	3,6466	2,3386	2,1621	1,8500	1,5215	0,9102	0,8102	0,5592	0,4818	0,2154	0,2129	0,1294	0,0805	0,0664	0,0150
<b>Variabilidad (%)</b>	24,3107	15,5905	14,4143	12,3333	10,1434	6,0683	5,4016	3,7281	3,2117	1,4362	1,4195	0,8629	0,5368	0,4429	0,0999
<b>%SUPERV.</b>	-0,3082	0,1159	<b>-0,6972</b>	-0,5287	0,1388	-0,0132	-0,1640	-0,0787	0,1111	0,1823	-0,1069	-0,0517	-0,0097	0,1100	0,0382
<b>%INH.</b>	0,4578	0,1276	0,0586	0,2793	<b>0,6239</b>	-0,0313	-0,4029	0,3259	0,0123	0,0390	0,1011	-0,1411	-0,0388	-0,0227	0,0116
<b>GLY</b>	<b>0,7585</b>	0,1176	-0,1037	0,1590	-0,4773	-0,1707	-0,1845	-0,1397	0,0655	-0,1225	0,1187	0,0181	-0,1416	0,1021	0,0092
<b>AMPA</b>	<b>0,6374</b>	0,5887	-0,2802	-0,2275	-0,1274	0,0555	0,0623	-0,0551	-0,1660	0,0628	0,1953	0,0668	0,0926	-0,0739	0,0510
<b>TRF</b>	0,4032	0,0950	0,4551	<b>-0,4896</b>	-0,4227	0,1038	-0,1077	0,0244	0,3925	0,0508	0,0367	-0,1206	0,0805	-0,0173	-0,0263
<b>ATZ</b>	<b>-0,7099</b>	0,4369	0,1934	0,0458	0,0004	0,3911	0,0807	-0,0645	-0,1857	0,0334	0,2169	-0,0893	-0,0016	0,1029	-0,0299
<b>ATC</b>	-0,1428	<b>0,8156</b>	0,0022	0,3714	0,0150	-0,1165	0,2506	-0,1273	0,0959	-0,1554	-0,1463	-0,1656	0,0168	-0,0138	0,0309
<b>CYP</b>	0,3739	-0,4782	-0,1475	<b>0,7145</b>	-0,0340	-0,1673	-0,0085	-0,1573	-0,0069	0,0900	0,0296	-0,0472	0,1647	0,0836	-0,0034
<b>λ-CIAL</b>	0,4725	0,2765	<b>0,5695</b>	0,2905	-0,3039	0,2285	0,0564	0,1649	-0,1492	0,2289	-0,1927	0,0337	-0,0422	0,0386	0,0184
<b>CLP</b>	-0,3703	-0,3957	<b>0,7348</b>	-0,0433	0,2200	-0,0934	0,2168	-0,0305	0,1871	0,0120	0,1272	0,0298	-0,0175	0,0386	0,0736
<b>END</b>	0,0695	-0,2398	<b>-0,6215</b>	0,1918	-0,2378	0,0891	0,5178	0,3768	0,1595	0,0522	0,0856	-0,0491	-0,0457	-0,0048	-0,0008
<b>EPX</b>	-0,4021	<b>0,7002</b>	-0,0427	0,3701	0,1221	-0,1190	-0,1056	0,1407	0,3214	0,0409	0,0328	0,2016	0,0346	0,0311	-0,0197
<b>AZX</b>	0,3727	-0,1704	-0,2086	0,2891	0,2881	<b>0,7026</b>	-0,0250	-0,2696	0,2230	-0,0285	-0,0273	0,0413	-0,0304	-0,0329	0,0088
<b>%H</b>	<b>0,5941</b>	0,2027	0,1174	-0,1522	0,4994	-0,2792	0,3648	-0,2662	0,0370	0,1694	0,0324	-0,0064	-0,0683	-0,0087	-0,0434
<b>%Corg</b>	<b>0,7177</b>	0,0614	0,0861	-0,3981	0,3798	0,1303	0,1973	0,2124	-0,0505	-0,1982	-0,0699	0,0551	0,0736	0,1213	-0,0067

Los valores en negrita corresponden para cada variable al factor para el cual la calidad de representación es mayor.