

Informe Técnico-Científico sobre los Usos e Impactos del Insecticida Clorpirifos en Argentina

PNUD ARG/17/010 sobre el “Fortalecimiento de las capacidades nacionales para el manejo de productos químicos y desechos”

Argentina. Marzo 2021.



Ministerio de Ambiente
y Desarrollo Sostenible
Argentina



CONICET



C I T A A C

Ficha del ISBN

Informe técnico-científico sobre el uso e impactos del insecticida clorpirifos en Argentina /
Andrés Venturino ... [et al.]; dirigido por Andrés Venturino; coordinación general de Melina Álvarez. - 1a ed. -
Buenos Aires: Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo - PNUD; Ministerio de Ambiente y Desarrollo
Sostenible de la Nación, 2021.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-1560-86-8

1. Ambiente. 2. Contaminante. 3. Insecticidas. I. Venturino, Andrés, dir. II. Álvarez, Melina, coord.
CDD 363.7063

El presente informe ha sido realizado a solicitud del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de la Nación (MAYDS) en el marco de la ejecución del Proyecto PNUD ARG/17/010 sobre el “Fortalecimiento de las capacidades nacionales para el manejo de productos químicos y desechos”.

El análisis y las recomendaciones de políticas de esta publicación no reflejan necesariamente las opiniones del Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo, de su Junta Ejecutiva o de sus Estados Miembro.

Todos los derechos están reservados. Ni esta publicación ni partes de ella pueden ser reproducidas mediante cualquier sistema o transmitidas, en cualquier forma o por cualquier medio, sea este electrónico, mecánico, de fotocopiado, de grabado o de otro tipo, sin permiso escrito previo del editor.

Hecho el depósito que establece la Ley Nº 11723.

Se agradecen las contribuciones de Alemania, Austria, Bélgica, Dinamarca, Los Estados Unidos de América, Finlandia, Noruega, Países Bajos, Reino Unido, Suiza y la Unión Europea al fondo del Programa Especial.

Copyright © Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, 2021

Esmeralda 130, Piso 13, C1035ABD

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

www.pnud.org.ar





Autoridades

Presidente de la Nación

Alberto Fernández

Vicepresidenta de la Nación

Cristina Fernández de Kirchner

Jefe de Gabinete de Ministros

Santiago Cafiero

Ministro de Ambiente
y Desarrollo Sostenible

Juan Cabandié

Titular de la Unidad
de Gabinete de Asesores

María Soledad Cantero

Secretaría de Control
y Monitoreo Ambiental

Sergio Federovisky

Dirección Nacional de Sustancias
y Productos Químicos

Jorge Luis Etcharrán

AUTORES

Equipo científico-técnico del Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue:

Dr. Andrés Venturino: Dirección CITAAC. Dr. de la Universidad de Buenos Aires, Investigador principal CONICET, Profesor Asociado Regular en Química Biológica, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Comahue.

Dra. Ana María Pechen: Vicedirección CITAAC. Dra. en Bioquímica, Profesora Consulta, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Comahue.

Dra. Eugenia Parolo: Dra. en Química. Profesora adjunta, Secretaria de Posgrado de Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Comahue.

Dra. María Martha Quintana: Dra. en Biología. Docente de Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Comahue.

Mg. Mercedes Indaco: Magister en Tecnología de los Alimentos, Profesional Adjunta CONICET.

Dra. Natalia Guiñazú: Dra. en Ciencias Químicas, Investigadora Independiente CONICET, Profesora Asociada, Facultad de Ciencias del Ambiente y la Salud, Universidad Nacional del Comahue.

Mg. Berta Vera: Mg. en Ciencias Químicas, Profesora Adjunta Regular, Secretaria de Investigación y Vinculación Tecnológica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Comahue.

Dra. Soledad Jaureguiberry: Dra. en Ciencias Exactas, Investigadora Asistente CONICET, Docente de la Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Comahue.

Dra. Ana Cecilia Mestre: Dra. de la Universidad de Buenos Aires, área Ciencias Biológicas. Investigadora Postdoctoral CITAAC.

Dra. Cecilia Inés Lascano: Dra. en Biología, Investigadora Asistente CONICET, Docente de Química Biológica, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Comahue.

Dra. Flavia Bieczynski: Dra. en Biología, Investigadora Asistente CONICET.

Dra. Laura Beatriz Parra Morales: Dra. en Biología, Profesora adjunta, Facultad de Ciencias del Ambiente y de la Salud, Universidad Nacional del Comahue.

Equipo del Proyecto PNUD ARG/17/010 sobre el “Fortalecimiento de las capacidades nacionales para el manejo de productos químicos y desechos”:

Dra. Melina Álvarez: Dra. en Biología y profesora universitaria. Responsable del Proyecto ARG/17/010.

Vet. Hernán Agostini: Veterinario y docente universitario. Coordinador II del Proyecto ARG/17/010.

Equipo técnico de la Dirección Nacional de Sustancias y Productos Químicos:

Lic. Agustín Harte: Lic. en Ciencias Biológicas, Coordinador Técnico de la Dirección Nacional de Sustancias y Productos Químicos.

REVISIÓN GENERAL Y EDICIÓN

Dr. Andrés Venturino: Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue (CITAAC)

Dra. Ana María Pechen: Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue (CITAAC)

Dra. Melina Álvarez: Proyecto PNUD ARG/17/010 sobre el “Fortalecimiento de las capacidades nacionales para el manejo de productos químicos y desechos”

Vet. Hernán Agostini: Proyecto PNUD ARG/17/010 sobre el “Fortalecimiento de las capacidades nacionales para el manejo de productos químicos y desechos”

Lic. Agustín Harte: Dirección Nacional de Sustancias y Productos Químicos (DNSyPQ) del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.

ÍNDICE

	Página
1 INTRODUCCIÓN	11
2 PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y DINÁMICA AMBIENTAL DEL CLORPIRIFOS	14
2.1 Conclusiones.....	24
2.2 Referencias.....	26
3 PRESENCIA DE CLORPIRIFOS EN ALIMENTOS	29
3.1 Introducción al problema en general.....	29
3.2 Niveles de clorpirifos hallados en alimentos en Argentina y otros países.....	30
3.3 Límites de residuos máximos de clorpirifos en alimentos.....	34
3.4 Conclusiones.....	36
3.5 Referencias.....	38
3.6 Webgrafía consultada por LMR.....	40
4 IMPACTOS EN SALUD HUMANA	41
4.1 Exposición humana a clorpirifos.....	41
4.2 Vías de exposición de los seres humanos a los plaguicidas.....	43
4.2.1 Exposición dérmica.....	44
4.2.2 Exposición respiratoria.....	47
4.2.3 Exposición oral.....	52
4.3 Proximidad a los sitios de aplicación.....	54
4.4 Subpoblaciones vulnerables.....	58
4.5 Toxicidad aguda.....	61
4.5.1 Exposición aguda.....	61
4.5.2 Exposición ocupacional.....	65
4.6 Toxicidad crónica.....	68
4.6.1 Disrupción endócrina.....	68
4.6.2 Neurotoxicidad.....	70
4.6.2.1 Estudios de efectos neurodegenerativos en modelos animales..	76
4.6.3 Relación del clorpirifos con la aparición de cáncer.....	78
4.6.3.1 Cáncer de mama.....	81
4.6.3.2 Cáncer de próstata y colorrectal.....	82
4.6.3.3 Cáncer de pulmón.....	83
4.6.3.4 Linfoma de Hodgkin.....	84
4.7 Inmunotoxicidad.....	84
4.8 Genotoxicidad.....	86
4.9 Conclusiones.....	89
4.10 Referencias.....	90
5 IMPACTOS EN LA BIOTA ACUÁTICA	106
5.1 Peces.....	107
5.1.1 Efectos tóxicos agudos: Concentración Letal 50 (CL50).....	108
5.1.2 Efectos tóxicos subletales.....	108
5.1.2.1 Neurotoxicidad.....	109
5.1.2.2 Efectos a nivel reproductivo.....	110
5.1.2.3 Alteraciones histopatológicas.....	111
5.1.2.4 Alteraciones bioquímicas, estrés oxidativo y genotoxicidad.....	112
5.1.3 Factores que influyen en la toxicidad de clorpirifos.....	114
5.1.3.1 Salinidad.....	114
5.1.3.2 Temperatura.....	115
5.1.3.3 Etapa de desarrollo y tiempo de exposición.....	116



5.1.4 Bioacumulación.....	116
5.1.5 Situación en Argentina.....	117
5.1.6 Conclusiones.....	121
5.2 Anfibios.....	123
5.2.1 Situación de los anfibios en la República Argentina.....	124
5.2.1.1 Estudios in situ y ex situ.....	124
5.2.1.2 Estudios en condiciones controladas de laboratorio.....	128
5.2.2 Situación a nivel mundial.....	133
5.2.2.1 Estudios sobre el organismo modelo <i>Xenopus laevis</i>	133
5.2.2.2 Estudios sobre anfibios anuros nativos.....	135
5.2.3 Consideraciones finales.....	144
5.3 Macroinvertebrados acuáticos.....	146
5.3.1 Efectos de clorpirifos a nivel de especie.....	146
5.3.2 Estudios a nivel de comunidad béntica.....	148
5.3.3 Efectos de clorpirifos en comunidades de macroinvertebrados.....	149
5.4 Evaluaciones de Riesgo Ambiental para organismos acuáticos.....	152
5.5 Conclusiones.....	163
5.6 Referencias Bibliográficas.....	165
6 IMPACTOS EN LA FAUNA TERRESTRE	177
6.1 Efectos sobre Vida Salvaje.....	177
6.1.1 Aves.....	177
6.1.2 Mamíferos.....	179
6.1.3 Reptiles.....	184
6.1.4 Invertebrados terrestres.....	185
6.1.5 Insectos benéficos.....	186
6.1.5.1 Impacto de clorpirifos en las abejas melíferas.....	188
6.1.5.2 Efectos adversos subletales de plaguicidas en abejas y otros insectos benéficos...	190
6.1.6 Evaluaciones de riesgo e impacto sobre ecosistemas terrestre.....	194
6.2 Efectos sobre animales de granja y domésticos.....	201
6.3 Conclusiones.....	203
6.4 Referencias.....	205
7 ASPECTOS LEGALES DEL USO DE CLORPIRIFOS	213
7.1 Usos de clorpirifos.....	213
7.2 Legislación Nacional e Internacional.....	214
7.3 Alternativas propuestas para reemplazo de clorpirifos a nivel nacional y mundial.....	217
7.4 Conclusiones.....	225
7.5 Referencias.....	226
8 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	228
8.1 Recomendaciones.....	229
9. CONSIDERACIONES FINALES	230

Prólogo

En el marco de las actividades de cooperación internacional en Argentina, el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) y el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), con financiamiento provisto por el Programa Especial de Fortalecimiento Institucional para el Grupo Temático sobre Productos Químicos, apoyaron al Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible a través del Proyecto PNUD ARG/17/010 destinado al “fortalecimiento de las capacidades nacionales para el manejo de productos químicos y desechos”.

Este proyecto, encabezado por la Secretaría de Control y Monitoreo Ambiental e implementado en el marco de las actividades de la Dirección Nacional de Sustancias y Productos Químicos, ha colaborado en las tareas institucionales de la autoridad ambiental nacional en coordinación con distintos actores gubernamentales relevantes del país, y ha aportado instrumentos técnicos y normativos para la gestión adecuada de los productos químicos y sus desechos.

El objetivo principal de este proyecto fue fortalecer la gestión ambientalmente racional de los químicos y sus desechos mediante la implementación efectiva de los acuerdos multilaterales sobre sustancias y residuos peligrosos, como la consideración de los nuevos temas emergentes, teniendo en cuenta las necesidades y prioridades nacionales. Para ello, se establecieron mecanismos para promover la cooperación y la coordinación entre las principales partes interesadas, incluido el sector privado, los organismos de la sociedad civil, las autoridades locales y los sectores académico-científicos. Además, el proyecto colaboró en el desarrollo de nuevas políticas, legislación y programas relacionados con la gestión adecuada de los residuos peligrosos en todo su ciclo de vida, en aras de promover la protección de los ecosistemas y los seres vivos.

Entendiendo la situación nacional en relación con el uso creciente de agroquímicos y sus efectos sobre la salud de las personas, los organismos y los ecosistemas, se consideró imprescindible la recopilación de información científica actualizada sobre los usos actuales y los posibles impactos de dichos productos químicos. Para esto, se propició la generación de alianzas con diferentes unidades académicas de prestigio y de amplio reconocimiento que garantizaran un análisis con rigurosidad científica de la información disponible y/o la falta de esta, a fin de coadyuvar a la autoridad nacional ambiental en la toma de decisiones.

En el marco de las alianzas gestadas, se seleccionó un conjunto de plaguicidas de interés ambiental por su aplicación y uso extendido en el mercado local. Una de las sustancias

escogidas para su evaluación ha sido el pesticida clorpirifos, ampliamente utilizado en Argentina para combatir y controlar diferentes tipos de plagas.

Este insecticida ataca el sistema nervioso central de los organismos blanco y no blanco. Se utiliza en cultivos de soja, maíz, trigo, cítricos y girasol. Es sabido que este compuesto llega a los cuerpos de agua superficiales a través de la escorrentía y las aspersiones aéreas; también se ha comprobado su presencia en napas freáticas y acuíferos.

En los cuerpos de agua se une a material particulado y tarda en degradarse en formas más inofensivas para el ambiente. Los organismos entran en contacto con esta sustancia y la acumulan en sus tejidos, diseminándose y bioacumulándose a través de las cadenas alimentarias.

El clorpirifos ha sido evaluado como “altamente tóxico” para las abejas y “muy tóxico” para aves, peces y organismos acuáticos. Recientemente, la Unión Europea ha tomado la decisión de no renovar la licencia de los productos y formulados que lo contienen. Además, el clorpirifos está categorizado como altamente peligroso por la OMS y la FAO, y se encuentra prohibido en seis estados de Estados Unidos. Por su parte Australia, en junio de 2019, decidió cancelar el registro de clorpirifos en productos de jardinería doméstica y en espacios públicos como parques y senderos.

Existe una preocupación creciente acerca de las posibilidades de diseminación de este compuesto, ya que se ha encontrado en ciertas regiones del Ártico. Diversas organizaciones gubernamentales y no gubernamentales plantean que esta sustancia sea considerada como un compuesto orgánico persistente y se la incluya en el Convenio de Estocolmo.

En Argentina se lo ha clasificado como clase II: “moderadamente peligroso y nocivo”, aunque existen otras clasificaciones a nivel internacional que lo señalan como altamente dañino. En el año 2008 se dispuso su prohibición para uso domisanitario, aunque se sigue utilizando como plaguicida en la actividad agropecuaria y en productos veterinarios de uso en animales domésticos.

Debido a que este pesticida es un potente inactivador de la enzima colinesterasa en las zonas de sinapsis neuronal en cerebro y músculos, que genera diversos trastornos como incoordinación motora, retraso en la maduración, deterioro del crecimiento y de la reproducción, cambios comportamentales y neurológicos, deformidades y mortalidad, y que podría favorecer la proliferación de distintas células cancerosas, se ha entendido que es de extrema prioridad comprender su transporte y diseminación en el ambiente, así como también analizar los posibles efectos negativos que podría generar en los organismos vivos expuestos al mismo.

Por su amplia utilización en el ámbito agropecuario y en la sanidad de animales, y a su elevada peligrosidad para las personas, animales domésticos y demás organismos que habitan los ecosistemas, se decidió encomendar la elaboración de este informe a integrantes del Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas y Químicas del Ambiente (LIBIQUIMA), perteneciente al Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue (CITAAC), de la Universidad Nacional del Comahue. Dicha institución, con más de 30 años de trayectoria en el estudio de los efectos ambientales no deseables de plaguicidas y estudios ecotoxicológicos relacionados, es una unidad de referencia en el ámbito nacional.

El presente trabajo reúne los hallazgos de estudios científicos nacionales e internacionales, en conjunto con diversa información de los usos, características y normativa aplicable, y presenta un examen robusto de los impactos a la salud y el ambiente ocasionados por este producto químico. De esta manera, constituye un insumo de relevancia para el posterior análisis y la toma de decisiones, tanto por parte de las autoridades competentes, como también por la de los usuarios del clorpirifos y actores sociales.

Finalmente, es pertinente destacar que el desarrollo y publicación de este tipo de informes técnicos promueve el acceso a la información pública ambiental y sustenta las políticas que el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de la Nación fomenta.

Lic. Juan Cabandié

1. INTRODUCCIÓN

Ana María Pechen y Andrés Venturino

Las revisiones periódicas de los plaguicidas permiten asegurar que estos productos químicos no causarán efectos adversos significativos cuando se usa de acuerdo a las indicaciones de la etiqueta del proveedor y que no existirá, con una razonable certeza, daño probable sobre la salud por la exposición laboral, residencial y/o la ingesta de alimentos.

El presente informe pretende esclarecer y transparentar el riesgo de impacto ambiental y sobre la salud humana del **CLORPIRIFOS** y **METILCLORPIRIFOS**, realizando una extensiva revisión de las publicaciones internacionales referidas al tema, el uso de modelos conceptuales y el análisis de datos propios relevados por integrantes del CITAAC a lo largo de los años.

Existe una profusa información que analiza la naturaleza, presencia, magnitud, destino y toxicología de estos plaguicidas, por lo que es necesario identificar y articular con seriedad académica las últimas evidencias surgidas en la literatura internacional producida por la ciencia junto a la documentación correspondiente a la legislación internacional pertinente y de nuestro país para lograr este objetivo.

Desde el CITAAC (Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue), estamos abocados al desarrollo de investigaciones sobre los efectos ambientales no deseados de plaguicidas desde la creación en el año 1983 del entonces LIBIQUIMA (Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas, Químicas y de Medio Ambiente). El CITAAC surgió de la unión del LIBIQUIMA con el IBAC (Instituto de Biotecnología Agropecuaria del Comahue) y se consolidó como un Centro de bipertenencia de la Universidad Nacional del Comahue (UNCo) y el CONICET en el año 2015. Actualmente posee dos sedes: una situada en el campus universitario de la ciudad de Neuquén, área de laboratorios de la Facultad de Ingeniería y otra en el campus de la Facultad de Ciencias Agrarias, Cinco Saltos (Provincia de Río Negro). Durante más de 35 años, nos hemos especializado en los aspectos toxicológicos de plaguicidas, tema de relevancia regional, dado que la UNCo está localizada en la zona de cultivos frutihortícolas del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, donde la aplicación de estos compuestos es intensiva. Los estudios que se llevan a cabo incluyen la evaluación de la dinámica de plaguicidas en el ambiente, particularmente en aguas y suelos de la región, el estado de resistencia en algunas especies de insectos de importancia económica y el análisis de los efectos deletéreos de diversas familias de plaguicidas sobre la fauna silvestre: peces e invertebrados de agua dulce y anfibios. En cuanto al impacto en la salud humana, los estudios de la exposición crónica se centran en grupos de alta vulnerabilidad a los contaminantes ambientales como son las embarazadas, los neonatos y la población infantil.

La experiencia obtenida a partir de nuestros estudios en los distintos sistemas experimentales ha sustentado el trabajo a campo de tal modo que los resultados de los monitoreos ambientales han sido de

utilidad para detectar numerosos problemas regionales y/o nacionales de naturaleza ecotoxicológica, mientras que los estudios en humanos han permitido identificar nuevos parámetros de utilidad en el diagnóstico de la intoxicación ambiental crónica con plaguicidas. En este sentido, hemos asesorado a Organismos Públicos y Privados, y los resultados de nuestras investigaciones han sido utilizados por las autoridades competentes como sustento para evaluaciones o reevaluaciones para el registro de plaguicidas/herbicidas en nuestro país, la resolución de conflictos internacionales derivados del impacto del uso de algunos insecticidas organofosforados sobre especies de aves migratorias (Aguilucho Langostero) y controles periódicos de las autoridades jurisdiccionales de cuencas hídricas sobre la presencia de residuos en los cursos de agua superficiales y subterráneas.

El presente informe aborda el análisis exhaustivo acerca del clorpirifos, un insecticida no sistémico de amplio espectro, perteneciente a la familia de los plaguicidas organofosforados. El clorpirifos es utilizado en agricultura, horticultura, viticultura, ornamentales y forestación en un amplio rango de cultivos y en el control de vectores de enfermedades veterinarias y de la Salud Pública desde 1965. Se comercializa bajo diferentes formas, como producto sólido, líquido, granulado, polvo o gránulos hidratables, que pueden ser aplicados por equipos aéreos o terrestres. Existen varias marcas comerciales registradas en Argentina como Arapirifos 48, Boraz 48, Lorsban 48 E, Pirifos 48, Pointer 48%, Pyrinex, Robust, Clorpirifos Estrella, Terminator, Yarara, Fuxol D y Clorfox, entre otros.

El uso de clorpirifos en la salud pública ha sido revisado frecuentemente por diversos organismos internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1997,1980) por su aplicación como larvicida de mosquito. También fue evaluado reiteradamente por sus efectos toxicológicos y por sus residuos desde 1972 hasta la fecha por la Reunión Conjunta sobre residuos de plaguicidas de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la OMS (FAO/WHO JMPR, Joint FAO/WHO meeting on pesticide residues). El Programa de Seguridad Química de la OMS (WHO/PCS) ha clasificado al clorpirifos como Clase II, moderadamente tóxico para los seres humanos. Sin embargo, este plaguicida es muy tóxico para organismos acuáticos, pudiendo causar efectos adversos de largo plazo en ambientes acuáticos y sobre insectos benéficos.

En el año 1997, el clorpirifos fue voluntariamente retirado de su uso en interiores y en mascotas por su fabricante DowElanco, y en 2001 la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de Norteamérica lo prohibió para uso residencial. Recientemente, han surgido evidencias que revelan que la toxicidad del clorpirifos puede ir más allá de los efectos esperados por la inhibición de la enzima colinesterasa (parámetro tomado como referencia en muchas determinaciones de riesgo), y producir efectos neurotóxicos en el desarrollo a dosis que no inhiben la enzima. Si bien no se han podido identificar aún biomarcadores precisos y específicos de exposición en humanos, tal vez sea éste el tema principal en discusión a nivel internacional.

En diciembre de 2019, el Comité Permanente de Vegetales, Animales, Alimentos y Piensos (Comité PAFF) de la Unión Europea votó la no renovación de la aprobación de uso de clorpirifos y metil-clorpirifos, la cual comenzó a regir formalmente el 1 de febrero de 2020, donde establece que los Estados miembros deberán quitar la autorización de cualquier producto de protección vegetal que contenga dichos principios activos. Las razones expresadas por el comité de expertos convocado a tal efecto marcaron la preocupación en relación a la posibilidad de desarrollar efectos genotóxicos y neurotoxicidad en humanos, no pudiendo establecerse niveles seguros de exposición con la información disponible hasta el momento. En California, el Departamento de Regulación de Pesticidas (DPR) estableció que todo uso de clorpirifos debe cesar el 31 de diciembre de 2020, siguiendo las recomendaciones de un Comité de Expertos Independientes que indicaron que el producto posee propiedades neurotóxicas en niños y población sensible, acordando con Dow Agrosciences el retiro del mismo del Estado. Por su parte otros cinco estados, New York, Hawaii, Oregon, Connecticut y New Jersey, han avanzado también en sus propias agendas para lograr su prohibición.

En contraposición, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de Norteamérica dio marcha atrás a la propuesta de prohibición de uso de clorpirifos como fitosanitario en 2017, si bien actualmente se prevé su reevaluación a la luz de la actualización de la información científica disponible. Otros países como Canadá, Australia, India, Tailandia, Palestina, Arabia Saudita y Sudáfrica han restringido o prohibido su uso y avanzan los procesos de revisión para lograr su prohibición total en varios países de Oriente Medio.

Estos antecedentes exponen la necesidad de realizar un análisis riguroso y comprensivo de la situación en nuestro país, que desarrollaremos a continuación.

2. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y DINÁMICA AMBIENTAL DEL CLORPIRIFOS

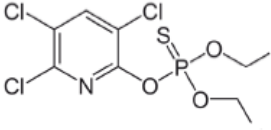
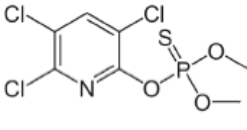
María Eugenia Parolo

El clorpirifos es un insecticida clasificado químicamente como tiofosfato orgánico; su nombre químico es O,O-dietil-(3,5,6-tricloro-2-piridil) fosforotioato. El metil-clorpirifos (O,O-dimetil O-(3,5,6-tricloro-2-piridinil) fosforotioato) fue incluido en el Comité del Codex sobre Residuos de Plaguicidas (CCPR) en el año 2008 y evaluado en la Reunión Conjunta FAO/OMS sobre residuos de plaguicidas en el año 2009. Ambos plaguicidas son catalogados como compuestos tóxicos para la fauna terrestre, acuática y para el hombre (Villaamil Lepori et al., 2018). La fórmula estructural de ambas sustancias y sus propiedades fisicoquímicas se presentan en la Tabla 2.1.

En el presente capítulo, se describirán las principales vías de ingreso y distribución del clorpirifos en el ambiente considerando las propiedades del plaguicida y las características de cada matriz de acuerdo a lo que se resume en la Figura 2.1. Algunos de estos procesos conducen a la exposición a organismos no blanco, incluidos los seres humanos, y por lo tanto las concentraciones del plaguicida son monitoreadas y reguladas en suelo y agua en la mayor parte del mundo, como también, aunque en menor medida en el aire (Li y Jennings, 2017). La contribución relativa de cada proceso sobre el destino de los plaguicidas depende de las propiedades fisicoquímicas del plaguicida y otros componentes de la formulación, las propiedades del suelo y el cultivo, y condiciones meteorológicas (temperatura, velocidad del viento, humedad relativa, e intensidad lumínica). Las tasas a las que ocurren estos procesos son necesarias para determinar cuánto tiempo los plaguicidas son efectivos contra las plagas y potencialmente dañinos para los humanos y organismos no blanco (Das et al., 2020).

El plaguicida clorpirifos presenta una moderada persistencia en el ambiente debido a posibles vías de disipación, que incluyen volatilización, fotólisis, hidrólisis abiótica y degradación microbiana, que pueden ocurrir simultáneamente. La disipación por volatilización es controlada por las propiedades físicas y químicas del clorpirifos (Tabla 2.1) y es el proceso dominante durante las primeras 12 h después de la aplicación, luego disminuye a medida que la formulación se adsorbe al follaje o al suelo (Mackay et al., 2014).

Tabla 2.1 Fórmula química y propiedades del clorpirifos y metilclorpirifos^a

Propiedades	clorpirifos	metil clorpirifos
Fórmula estructural		
Peso molecular	350,6 g/mol	322,5 g/mol
Solubilidad	0,39 mg/L ^b	2,74 ^d
Presión de vapor (25°C)	2,31 × 10 ⁻³ Pa ^c	3 × 10 ⁻³ Pa
Densidad (20°C)	1,44	1,64
Log Kow	4,96	4,00 ^d
Punto de fusión	42 °C ^a	43 °C ^a
Índice GUS	0,58 ^e	

^a<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2730>

^b World Health Org; WHO Specifications and Evaluations for Public Health Pesticides. Chlorpyrifos (March 2009). Available from, as of April 2: 2014: http://www.who.int/whopes/quality/Chlorpyrifos_WHO_specs_eval_Mar_2009.pdf

^c (Mackay et al., 2014)

^d Sidney (1997) Determination of physical-chemical properties (surface tension and partition coefficient) (A45). Dow AgroSciences. GLP. Unpublished.

^e<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/Reports/154.htm>

Por otro lado, Rotondaro y Havens (2012) realizaron un estudio de campo sobre la presencia de clorpirifos en aire y encontraron que los flujos máximos por volatilización ocurrieron en las primeras 8 h después de la aplicación en cultivos de alfalfa. La pérdida total de masa se calculó a partir de flujos determinados considerando flujo aerodinámico y el flujo horizontal integrado y se encontraron valores entre el 15,8 y el 16,5% de la masa de clorpirifos aplicada (Giesy y Solomon, 2014).

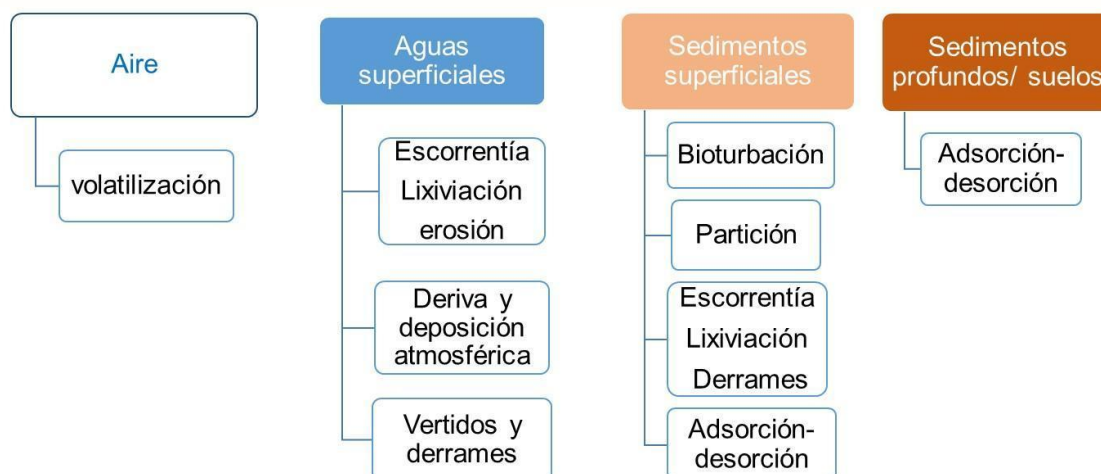


Figura 2.1 Modos de distribución de clorpirifos en el ambiente

Leistra et al. (2006) estudiaron la volatilización de clorpirifos en cultivo de papa. Las tasas de volatilización de plaguicidas fueron calculadas mediante métodos micrometeorológicos: perfil aerodinámico, balance de energía y pluma de dispersión. Se midieron, además, los residuos sobre las hojas del cultivo en varios momentos después de la pulverización. La volatilización acumulada de clorpirifos de la superficie de las hojas durante las horas de luz diurna fue aproximadamente el 65% de la dosis y se produjo mayoritariamente durante los primeros días. Posteriormente, la tasa de volatilización del clorpirifos 28 h después de la pulverización había disminuido a aproximadamente un 2,5% de la tasa más alta en las primeras horas.

El insecticida no muestra la penetración y translocación necesaria para la acción sistémica en plantas. Se encontró que la fototransformación (por absorción de la luz solar en longitudes de onda en el rango de 290-320 nm) en una superficie vegetal es más rápida que en solución acuosa, con una vida media de 3,2 días (Walia et al., 1988). Existen estudios sobre el comportamiento del clorpirifos en cultivos agrícolas, posterior a la aplicación. En este sentido, Antonious, et al., (2017) reportaron tasas de pérdida de clorpirifos y clorpirifos-oxón del follaje de vegetales de hojas verdes, demostrando que la fototransformación es un proceso de menor importancia para el clorpirifos en la superficie de las hojas, en comparación con la volatilización.

Das et al., (2020) detectaron clorpirifos en las matrices aire, suelo y tejido vegetal en concentraciones superiores a las de base hasta 21 días después de la aplicación. También detectaron clorpirifos-oxón en muestras de aire de campo utilizando muestreadores de aire activos colocados a lo largo de una transecta de 500 m. Durante los primeros tres días después de la pulverización, las concentraciones de clorpirifos disminuyeron rápidamente en todas las matrices después de la aplicación. Las concentraciones medidas en

diferentes direcciones fueron notablemente variadas y, en general, podrían explicarse por las direcciones predominantes del viento.

Una vez que se produce la absorción de plaguicidas por la biota, estos pueden biotransformarse para su posterior excreción, eliminarse sin metabolizar o bioacumularse. La bioacumulación ocurre cuando la tasa de entrada de contaminantes es significativamente mayor que la de metabolización y eliminación. El clorpirifos es potencialmente bioacumulable en la biota, debido a su coeficiente de partición octanol-agua ($\log K_{ow}$) superior a 3 (Tabla 2.1). Mediante ensayos de laboratorio, se ha determinado el factor de bioconcentración de clorpirifos. Existe en la literatura una amplia variedad de valores de bioconcentración de clorpirifos en peces, entre 745 y 2406 l/kg (El-Amrani et al., 2012).

En la república Argentina, se cuenta con los reportes elaborados por el Defensor del Pueblo de la Provincia de Buenos Aires y la Universidad Nacional de La Plata realizados durante los períodos junio y octubre 2012 y febrero-Abril 2013 relevando los agroquímicos que se usan en el territorio provincial y su incidencia sobre la salud (https://www.agro.unlp.edu.ar/sites/default/files/paginas/informe_agroquimicos_comprimido.pdfhttps://www.agro.unlp.edu.ar/sites/default/files/paginas/informe_agroquimicos_comprimido.pdf). En el informe se señala que los plaguicidas detectados en aire son isómeros de endosulfán y en menor concentración clorpirifos. El incremento significativo por la variable estacional ha sido explicado por el incremento de la frecuencia de aplicación, entre otros, para el cultivo de la soja. En efecto, si bien en promedio ambos compuestos representan un 86-88% del total de plaguicidas encontrados tanto en invierno como verano (con mayor proporción de clorpirifos en invierno y de endosulfán en verano), en verano sus concentraciones en aire aumentan en promedio 16 a 59 veces (clorpirifos y endosulfan, respectivamente), con máximos de 100 a 500 veces. Cabe destacar que el pulso de plaguicidas aplicados en el campo llega a las ciudades aledañas como lo demuestra el fuerte incremento observado en las localidades de 30 de agosto y especialmente Saladillo. En estos sitios, las concentraciones de clorpirifos aumentaron 6-16 veces entre el muestreo de invierno a verano. La otra estación que presenta valores elevados de clorpirifos (2,8 ng/m³) es Olmos 2, zona hortícola tradicional, evidenciando una aplicación intensiva. En contraste, Olmos 1 dedicada a cultivo orgánico y localizado a unos 5 km de la anterior, mantiene concentraciones más bajas y similares a las del muestreo de invierno.

Las concentraciones máximas detectadas en verano de clorpirifos (2,8-13 ng/m³) son elevadas, comparables a las reportadas para áreas de cultivo intensivo en Canadá (107ng/m³) (Yao et al., 2008), mientras que en áreas tropicales de Costa Rica los valores son más bajos (1,6-4 ng/m³) (Gouin et al. 2008).

En las regiones agrícolas de Chile el clorpirifos es uno de los ingredientes activos más usados. Pozo et al., (2016) realizaron un monitoreo en dos zonas productivas de Chile en la región de Araucanía: Angol

(cinco sitios muestreados) y Villarrica (dos sitios muestreados), utilizando muestreadores pasivos de poliuretano. Los niveles de clorpirifos informados se encuentran entre 20 y 14600 pg/m³. En ambos sitios se observó variación estacional.

Durante los días posteriores a la aplicación, el clorpirifos se adsorbe fuertemente al suelo y penetra en el perfil, razón por la cual se vuelve menos disponible para la volatilización y, en consecuencia, otros procesos de degradación pueden tener importancia. Entre los factores que afectan la degradación de clorpirifos en el suelo se encuentran la exposición a la radiación UV, dechloración, hidrólisis y procesos microbianos. Sin embargo, la hidrólisis de clorpirifos es el mecanismo principal y el producto de degradación es 3,5,6-tricloropiridinol. Este proceso puede ser abiótico o biótico, y la degradación es de 1,7 a 2 veces más rápida en suelos biológicamente activos. La hidrólisis abiótica depende del pH y se produce más rápidamente en condiciones alcalinas y en presencia de catalizadores como ciertos tipos de arcilla (Racke, 1993). Los ensayos en laboratorio reportados en la bibliografía presentan cinéticas de degradación de clorpirifos en el suelo con valores de vida media muy variables, entre 2 a 1575 días, de acuerdo a las propiedades del suelo (Giesy y Solomon, 2014).

Estudios de laboratorio y a campo han estimado una cinética de degradación de clorpirifos en suelo de primer orden con una fase inicial rápida seguida de una lenta degradación. Estos modelos podrían sobreestimar la persistencia y potencial de escorrentía en aguas superficiales. En suelos agrícolas, la vida media de clorpirifos es menor que la medida en laboratorio (2-120 días).

Por otro lado, la fotólisis y la oxidación dan lugar a la formación de clorpirifos-oxón en el aire y en superficies foliares (Mackay et al., 2014); mientras que este producto de degradación no se ha encontrado en suelos.

Al evaluar la persistencia de clorpirifos en suelos, la frecuencia de aplicación del plaguicida es otra variable a considerar. Racke (1993) reportó tasas de degradación que son inversamente proporcionales a la frecuencia y modo de aplicación (líquido o granular), posiblemente porque las concentraciones en el agua del suelo alcanzan el límite de solubilidad de aproximadamente 1 µg/L.

Sobre la superficie de las plantas, el clorpirifos se disipa rápidamente principalmente debido a la volatilidad y la fotólisis. En tejido vegetal se han informado valores de vida media de disipación entre 1 y 14 días (Giesy y Solomon, 2014).

En agua, la degradación abiótica de clorpirifos por hidrólisis ha sido informada con una correspondiente vida media de 81 días a pH 7 (USEPA 2011). Sin embargo, varios estudios respecto del metabolismo aeróbico en sistemas acuosos han informado vidas medias de 22 a 51 días bajo diferentes condiciones experimentales (Giesy y Solomon, 2014).

El clorpirifos presenta un potencial de adsorción al suelo de moderado a alto, razón por la cual la absorción por las raíces, la translocación y el metabolismo de clorpirifos en las plantas son insignificantes y, por lo tanto, el clorpirifos es clasificado como no sistémico, aunque se produce el metabolismo del plaguicida en aplicación foliar (Racke, 1993). La magnitud de la adsorción del clorpirifos reportada en la bibliografía varía significativamente entre diferentes suelos, con una extensión de dos órdenes de magnitud en los valores de coeficientes de adsorción normalizados a fracción de carbono orgánico en sedimentos (Koc) (Tabla 2.2). Wauchope et al. (2002) reportaron una base de datos sobre valores de Koc informados por diferentes autores sobre distintos plaguicidas en suelos y encontraron que la variabilidad se debe tanto al error experimental como a la naturaleza de la materia orgánica del suelo.

El elevado valor de constante de adsorción de clorpirifos (Koc 973–31000 L/Kg) mitigaría en principio la posible lixiviación y el movimiento a través de las aguas subterráneas (Giesy y Solomon, 2014; Smernik y Kookana, 2015). Sin embargo, como se describe a continuación, el clorpirifos ha sido reportado como contaminante en acuíferos, en particular en nuestro país. La adsorción de clorpirifos sobre los sedimentos superficiales de los cuerpos de agua fundamenta los resultados de análisis de residuos del plaguicida sobre esta matriz. Se han reportado residuos de clorpirifos en material particulado superficial de arroyos, drenajes agrícolas y ríos. La escorrentía promueve la formación de partículas suspendidas de suelo que pueden retener plaguicidas. Jergentz et al. (2005) encontraron niveles de 225,8 µg/Kg en partículas suspendidas de un arroyo de la provincia de Buenos Aires. Esta concentración en agua de arroyos es 11 veces superior a la establecida por la USEPA y 100 veces superior a la Guía de Calidad de Agua de Canadá para la vida acuática en agua (CCME, 1999).

Tabla 2.2 Valores de Koc de clorpirifos determinados en experimentos de adsorción sobre suelos

Origen del suelo	Clase textural	%CO	Koc (L/Kg)	Referencia
Argentina	Franco arcilloso	2,03	8495	Savini et al., (2017)
Argentina	Franco arenoso	2,21	19819	Savini et al., (2017)
Argentina	Franco	2,52	10661	Parolo et al., (2017)
Inglaterra	Franco arcilloso arenoso	1,60	4323	Damon y Haim, (2001)

La dinámica ambiental de clorpirifos a partir del punto de la aplicación se ha evaluado extensamente en una variedad de condiciones de campo y se puede concluir que las variables que determinan el transporte del plaguicida son las propiedades físicas y químicas del suelo, erosión, adsorción a partículas de sedimentos y suelos erosionados, la cobertura vegetal, la etapa de desarrollo de la planta, la frecuencia de aplicación y las condiciones climatológicas como precipitaciones, entre otras. En consecuencia, tanto las fracciones del

plaguicida disueltas como las adsorbidas deben considerarse como vías de transporte hacia las aguas superficiales.

La ocurrencia potencial de clorpirifos en agua superficial surge de interacciones de factores relacionados con la aplicación, las prácticas agronómicas, las condiciones climáticas durante y después de la aplicación, la pedología y química del suelo, respuestas hidrológicas de sistemas de drenaje, y las propiedades fisicoquímicas del plaguicida que afectan la movilidad y la persistencia en el ambiente. El clorpirifos se encuentra en aguas superficiales como consecuencia de procesos ambientales como son la escorrentía, la erosión, la deriva y deposición atmosférica (Giesy y Solomon, 2014).

La contaminación de aguas subterráneas es un problema común en áreas de producción agrícola. La vulnerabilidad es mayor en los acuíferos poco profundos no confinados debido a la proximidad del nivel freático a la superficie. En estas situaciones, el suelo y las condiciones de producción determinan la lixiviación de plaguicidas al acuífero (Dufilho y Falco, 2020). La lixiviación en el subsuelo ocurre a través del flujo del plaguicida en la matriz del suelo y también a través de vías preferenciales que permiten la rápida entrada de solutos no degradados (Jarvis y Messing, 1995). La existencia de flujo preferencial a través de macroporos y heterogeneidades del suelo ha sido ampliamente estudiada en la bibliografía y ha sido relacionada con el tipo y humedad del suelo y con las condiciones de riego (Perillo et al., 1999).

Loewy et al. (2006) informaron la presencia de plaguicidas en el acuífero no confinado del Alto Valle del Río Negro debido a la aplicación de organofosforados en cultivos de árboles frutales. Algunos avances en el modelado preferencial de la lixiviación de plaguicida utilizando el programa MACRO 5.2 fueron presentados por Dufilho (2016), a partir de las concentraciones reportadas para metilazinfos en muestras de agua subterránea durante el período 1995–1998 (0,22 a 7,66 µg/L). Posteriormente, Dufilho y Falco (2020) presentaron los resultados del modelado del transporte de clorpirifos por vía preferencial en dos tipos de suelos dominantes en la región del Alto Valle de los ríos Negro y Neuquén, franco arenoso y franco arcilloso, durante el período 2008-2013. En ambos suelos, las concentraciones detectadas y simuladas en los horizontes A y B son mayores a los horizontes inferiores y reproducen los períodos de aplicación de clorpirifos. Las concentraciones en el horizonte A del suelo arenoso fueron superiores a las del suelo arcilloso debido al predominio del transporte dispersivo en este medio y el transporte advectivo en los macroporos de suelos de estructura fina (arcillosos). Estos valores modelados representan una lixiviación promedio de 0,28 mg/ha durante cada año simulado para la producción de manzanas en suelo tipo franco arenoso, mientras que para la producción de peras en suelo tipo franco arcilloso fue de 23,51 mg/ha cada año. Los datos informados revelan que el flujo preferencial ocurre en los horizontes superiores de ambos tipos de suelos. Sin embargo, en el franco arcilloso predomina el flujo por grietas e inter agregados. Considerando que el 25% del suelo del Alto Valle es suelo de textura fina, el flujo preferencial del plaguicida tiene importancia en la distribución del clorpirifos en el ambiente.

La agricultura argentina abarca desde cultivos desarrollados extensiva y tecnológicamente como son los cereales, las hortalizas y la producción de frutas en invernaderos o huertas con baja tecnología y dependencia de mano de obra. La intensificación de la productividad de los cultivos ha ido acompañada de un mayor uso de agroquímicos, en particular herbicidas e insecticidas. Un informe de INTA (2015) presentó el ranking de los 15 productos fitosanitarios más usados durante el año 2013, y se señaló en orden decreciente el glifosato, 2,4-D, atrazina, diclosulam, cletodim, azoxistrobina + ciproconazol, rynaxypyr, haloxifop, clorpirifos, flubendiamide, trifloxystrobina + ciproconazol, pyraclostrobin + epoxiconazole, S-metolaclo, dicamba y tiametoxam + lambdacialotrina (Villaamil Lepori et al., 2018), siendo el clorpirifos y la α -cipermetina (piretroide) los más utilizados en el cultivo de soja.

El clorpirifos fue el insecticida líder en 2012, con una inversión de 61 millones de dólares, de acuerdo con lo informado por la Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes (Álvarez et al., 2019). Entre 2013 y 2015, el mercado de agroquímicos en Argentina registró un gran aumento tanto en el volumen como en los costos de herbicidas. El volumen de importación de clorpirifos y los montos de inversión desde 2013 a la actualidad se resumen en la Tabla 2.3 según la información provista por el SENASA.

Tabla 2.3 El volumen de importación en Argentina de clorpirifos y montos de inversión^c

Año	M Kg ^a	M USD ^b
2012		61,0
2013	4,7	26,5
2014	5,6	29,0
2015	3,2	17,1
2016	2,2	9,0
2017	2,3	11,3
2018	2,3	16,5
2019	1,3	

^a M Kg=1.000.000 kg

^b M USD = 1.000.000 USD

^c<https://www.argentina.gob.ar/senasa/programas-sanitarios/cadena-vegetal/cereales-produccion-primaria/productos-fitosanitarios-y-fertilizantes/registro-nacional-de-terapeutica-vegetal>

En nuestro país, la región pampeana abastece a más del 80% de la producción nacional de trigo, maíz y soja, con destino principalmente a la exportación (Rótolo et al., 2014). La aplicación aérea de este insecticida y otros plaguicidas proporciona una vía de contaminación de cursos de agua cercanos y en este sentido, el clorpirifos es uno de los plaguicidas comúnmente detectados en aguas superficiales y subterráneas en regiones agrícolas de la Pampa Húmeda (Mugni et al., 2011). Las concentraciones de clorpirifos informadas en aguas superficiales de regiones productoras de soja se encuentran entre 0,0005 y 10,8 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 2.4).

Por otro lado, en la región Patagónica Norte de nuestro país la agricultura representa la segunda actividad económica más importante. En particular, la producción frutícola ocupa la sexta posición entre los

productos exportados por Argentina, siendo aproximadamente el 95% de las manzanas y peras exportadas las que se producen en el valle de los ríos Negro y Neuquén (Sánchez, et al., 2019). Los insecticidas no selectivos, como los carbamatos y los organofosforados, todavía se utilizan con importantes implicaciones sobre la calidad ambiental. En los valles, los insecticidas se aplican cada 15 días durante el período primavera-verano y las prácticas de aplicación, como también el riego artificial, que se realiza principalmente mediante inundación, promueven el transporte de plaguicidas desde el suelo a aguas superficiales y subterráneas (Macchi et al., 2018). Estudios realizados por nuestro grupo en la Patagonia Norte demostraron la presencia de organofosforados y carbamatos tanto en suelo (Loewy et al., 2006) como en aguas superficiales (Loewy et al., 2011). En canales de drenaje que fluyen hacia los ríos regionales, clorpirifos presentó una frecuencia de detección de 73% (Loewy et al., 2011).

Tabla 2.4 Concentraciones de clorpirifos en agua en sitios de la República Argentina

Sitio	Concentración (µg/L)	Referencia
Claromecó (Tres Arroyos)	0,2	(Álvarez et al., 2019)
Pampa ondulada	0,2-10,8	(Marino y Ronco, 2005)
Pampa húmeda	0,8	(Jergentz et al., 2005)
Cuenca Río Suquía, Córdoba	$6 \cdot 10^{-4}$ - $5,6 \cdot 10^{-3}$	(Bonansea et al., 2013)

El clorpirifos es uno de los insecticidas más utilizados en el mundo, y por sus efectos demostrados en organismos no blanco (John y Shaik, 2015), incluidos los polinizadores (Sanchez-Bayo y Goka, 2014), ha requerido a nivel mundial de regulaciones en su utilización llevando a la prohibición de uso en el estado estadounidense de California (California Environmental Protection Agency, 2019) y varios países (Pesticide Action Network International, 2019). Aunque su uso en determinadas aplicaciones se ha restringido en varios países, el bajo precio y el fácil acceso hacen que el productor elija el clorpirifos sobre los otros plaguicidas. Incluso después de retirar los productos de clorpirifos de usos domésticos, de jardín e industriales en interiores y exteriores debido a preocupaciones de toxicidad en niños, mascotas, vida silvestre y el medio ambiente (Dow AgroSciences, 2013), su producción y consumo aumentaron drásticamente cada año a partir de 2010.

El análisis histórico de clorpirifos en EEUU ha demostrado que la frecuencia de detección y concentraciones del percentil 95 de clorpirifos en aguas superficiales han disminuido significativamente entre 1992 y 2010. Las detecciones de clorpirifos en el período 1992-2001 se encontraron entre 10 al 53% de las

muestras, mientras que en el período 2002-2010 las detecciones fueron del 7 al 11% de las muestras analizadas. En este período, las concentraciones del percentil-95 oscilaron entre 0,007 y 0,056 $\mu\text{g/L}$ en 1992-2001 y de 0,006 a 0,008 $\mu\text{g/L}$ en el período 2002-2010. Estos resultados son consistentes con las restricciones de venta de productos basados en clorpirifos para usos residenciales a partir de diciembre del año 2001. Las bases de datos regionales reportadas por el Departamento de Regulación de Plaguicidas de California (CDPR) y el Departamento de Ecología del Estado de Washington (WDOE), que son específicas para las áreas de uso de plaguicidas, presentaron mayores concentraciones de clorpirifos en aguas superficiales (Percentiles-95 entre 0,010-0,3 $\mu\text{g/L}$).

En general, los programas de monitoreo proporcionan información relevante para cuantificar el rango de concentraciones de clorpirifos en aguas superficiales. Sin embargo, relativamente pocos programas han muestreado con una frecuencia suficiente para cuantificar el patrón temporal de exposición. Por lo tanto, se utilizaron modelos numéricos para caracterizar las concentraciones de clorpirifos en agua y sedimentos para ambientes representativos de alta exposición en EEUU (Giesy y Solomon, 2014). Las simulaciones permitieron comprender las vulnerabilidades relativas de clorpirifos a la escorrentía con respecto al suelo y la variabilidad climática en EEUU. A partir de los análisis, se identificaron tres regiones geográficas, una en el centro de California, el suroeste de Georgia y la península de Leelanau en Michigan que tienen una mayor exposición potencial a clorpirifos y se utilizaron como escenarios focales para el modelado detallado.

Si bien la mayor exposición humana generalmente ocurre para el operador durante la etapa de aplicación de plaguicidas, los efectos adversos para la salud por exposición debido a la proximidad de los centros urbanos a las zonas productivas son causados por la deriva del plaguicida. La deriva atmosférica se considera una ruta de pérdida importante de plaguicidas desde las áreas objetivo; actualmente son varias las investigaciones que tienen como objetivo estudiar este fenómeno complejo. La deriva de plaguicidas puede ocurrir durante la aplicación (deriva primaria) o después de la aplicación (deriva secundaria). Zivan et al. (2016) detectaron plaguicidas en suspensión en el aire durante y después de las aplicaciones a distancias de 7 y 20 m desde el sitio de aplicación. Los autores concluyen que la deriva secundaria no debe descuidarse en las estimaciones de exposición e impacto ambiental. La aplicación en forma de aerosol puede ser un factor de riesgo para las especies acuáticas, pues existe una deriva ocasionada por vientos y lluvia que puede transportarlo hasta aguas superficiales. Su vida media allí depende de las condiciones climáticas, presión, temperatura, presencia de viento, lluvia humedad, la presencia de flora microbiana y el tipo de fauna béntica, la composición del suelo de la base de esos cursos de agua, su capacidad de adsorción del compuesto y la existencia o no de zonas buffer alrededor de los cultivos. La deriva secundaria ocurre principalmente debido a la evaporación y, por lo tanto, se espera que sea casi en su totalidad el plaguicida se presente en forma de vapor (Zivan et al., 2017) de esta manera puede transportarse a distancias mucho mayores y debe considerarse en evaluaciones de exposición por inhalación (Ferron et al., 1988).

Existe escasa información respecto de planes de monitoreo de aire para detección de plaguicidas en zonas agrícolas. Por ejemplo, Miller & Stoughton (2000) midieron plaguicidas utilizando filtros de aspiración a distancias de 33, 66, 132 y 198 m. Los estudios realizados se basan en mediciones ambientales con muestreadores pasivos a largo plazo (Kosikowska y Biziuk, 2010), principalmente para evaluaciones de exposición (Lee et al., 2002), mientras que otros usan dosímetros pasivos en el campo para medir el efecto de la evaporación directa (Carlsen et al., 2006).

La determinación de la deriva de plaguicidas representa un estudio complejo, ya que está influenciada por diferentes factores, incluidos los equipos y técnicas de aplicación, las características de la aspersión y las condiciones ambientales y meteorológicas, entre otras (Gil, et al., 2008). En el clima semiárido, la mayoría de las aplicaciones de plaguicidas ocurren durante los meses cálidos y secos de primavera y verano. La falta de lluvia y el uso común de goteo minimiza el lavado de superficies tratadas y promueve la evaporación y deriva secundaria en estas áreas agrícolas.

Berenstein et al. (2017) estudiaron el impacto de la aplicación mecanizada de clorpirifos en cultivos de durazno en nuestro país. Los resultados para clorpirifos indican que entre el 5,5 y el 14,8 % del plaguicida aplicado alcanza el suelo y la deriva medida experimentalmente corresponde a valores entre el 2,4 y el 11,2 % del total de plaguicida aplicado. En comparación con la deriva de la aplicación manual de pesticidas, el porcentaje de plaguicida correspondiente a la deriva para la aplicación mecanizada fue similar, pero alcanzó distancias mucho mayores (hasta 80 m).

2.1 Conclusiones

El aumento en la demanda de la producción agrícola, relacionada al crecimiento poblacional y el consumo de alimentos, ha exigido prácticas mejoradas y la aplicación de plaguicidas. Estas prácticas representan la existencia de un riesgo de contaminación, ya sea por deriva durante la aplicación de plaguicidas, por los flujos de lixiviación, por dispersión en el aire, por contacto directo con estas sustancias en el caso de los aplicadores o indirecto en el caso de la población rural o a través del agua, aire y alimentos.

Las propiedades fisicoquímicas y la frecuencia de aplicación de clorpirifos proveen información básica para estimar la exposición ambiental y el análisis de riesgo. Las propiedades que tienen mayor impacto en su distribución en el ambiente son su baja presión de vapor, solubilidad en agua y elevado Kow.

El clorpirifos presenta una moderada persistencia en el ambiente como consecuencia de múltiples vías de disipación en diferentes matrices. Entre los mecanismos primarios de disipación se encuentran la volatilización, fotólisis, hidrólisis abiótica y degradación microbiana. La volatilización domina la disipación del insecticida durante las primeras horas luego de la aplicación y disminuye a medida que el clorpirifos se

adsorbe al suelo o al follaje. Sin embargo, la alta frecuencia de aplicación hace que su detección sea también frecuente, por lo que podría considerarse dentro de los compuestos “pseudo” persistentes.

El clorpirifos puede retenerse en el suelo y sedimentos, en forma dependiente del tipo de suelo y condiciones ambientales. También puede distribuirse por largas distancias en el aire habiéndose reportado su presencia en áreas remotas.

Luego de las primeras horas de aplicación tienen lugar otros procesos de degradación como la hidrólisis química y biodegradación. Como consecuencia de estos procesos, la vida media de clorpirifos en suelos es de 2-120 días dependiendo de las propiedades del suelo, la frecuencia y dosis de aplicación.

Su persistencia, hidrofobicidad y toxicidad para diversas especies (incluido el hombre) requieren programas de monitoreo en matrices ambientales, considerando tanto la zona rural como la urbana, al igual que la aplicación de modelos para estimar la concentración esperable en el ambiente y dosis de exposición a la biota para poder predecir mejor los riesgos ambientales derivados de su uso.

2.2 Referencias

- Alvarez M, Du Mortier C, Jaureguiberry S, Venturino A. 2019. Joint probabilistic analysis of risk for aquatic species and exceedence frequency for the agricultural use of chlorpyrifos in the Pampean Region, Argentina. *Environ. Toxicol. Chem.* 38, 1748-1755. <https://doi.org/10.1002/etc.4441>
- Antonious GF, Turley ET, Abubakari M, Snyder JC. 2017. Dissipation, half-lives, and mass spectrometric identification of chlorpyrifos and its two metabolites on field-grown collard and kale. *J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes* 52, 251-255. <https://doi.org/10.1080/03601234.2016.1270683>
- Berenstein G, Nasello S, Beiguel É, Flores P, Di Schiena J, Basack S, Hughes EA, Zalts A, Montserrat JM. 2017. Human and soil exposure during mechanical chlorpyrifos, myclobutanil and copper oxychloride application in a peach orchard in Argentina. *Sci. Total Environ.* 586, 1254-1262. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.129>
- Bonansea RI, Amé MV, Wunderlin DA. 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>
- Carlsen SCK, Spliid NH, Svensmark B. 2006. Drift of 10 herbicides after tractor spray application. 1. Secondary drift (evaporation). *Chemosphere* 64, 787-794. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.10.061>
- California Environmental Protection Agency, 2019. California acts to prohibit chlorpyrifos pesticide. Acceso junio 2019. <https://calepa.ca.gov/2019/05/08/california-acts-to-prohibit-chlorpyrifos-pesticide/>
- Das S, Hageman KJ, Taylor M, Michelsen-Heath S, Stewart I. 2020. Fate of the organophosphate insecticide, chlorpyrifos, in leaves, soil, and air following application. *Chemosphere* 243, 125194. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125194>
- Dow AgroSciences (2013) Re Organophosphate and Carbamate Reassessment (APP201045) Submission 102675 Appendix A. Chlorpyrifos Environmental Protection Authority, Wellington. http://www.epa.govt.nz/search-databases/HSNO%20Application%20Register%20Documents/APP201045_Submission%20102675%20Appendix%20A%20Chlorpyrifos.pdf
- Dufilho AC, Falco S. 2020. Preferential flow modelling of chlorpyrifos leaching in two arid soils of irrigated agricultural production areas in Argentine Patagonia. *J. Contam. Hydrol.* 229, 103584. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2019.103584>
- El-Amrani S, Pena-Abaurrea M, Sanz-Landaluze J, Ramos L, Guinea J, Cámara C. 2012. Bioconcentration of pesticides in Zebrafish eleutheroembryos (*Danio rerio*). *Sci. Total Environ.* 425, 184-190. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.02.065>
- Ferron GA, Kreyling WG, Haider B. 1988. Inhalation of salt aerosol particles II. Growth and deposition in the human respiratory tract. *J. Aerosol Sci.* 19, 611-631.
- Giesy JP, Solomon KR. 2014. Ecological risk assessment for chlorpyrifos in terrestrial and aquatic systems in the United States. SpringerLink (Online service). *Rev. Environ. Contam. Toxicol. Contin. Residue Rev.* XVI, 269 p. 40 illus. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-03865-0>
- Gil Y, Sinfort C, Guillaume S, Brunet Y, Palagos B. 2008. Influence of micrometeorological factors on pesticide loss to the air during vine spraying: Data analysis with statistical and fuzzy inference models. *Biosyst. Eng.* 100, 184-197. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2008.03.009>
- Gouin T, Wania F, Ruepert C, Castillo LE. 2008. Field testing passive air samplers for current use pesticides in a tropical environment. *Environ. Sci. Technol.* 42, 6625-6630. <https://doi.org/10.1021/es8008425>
- Jarvis NJ, Messing I. 1995. Near-Saturated Hydraulic Conductivity in Soils of Contrasting Texture Measured by Tension Infiltrimeters. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59, 27-34. <https://doi.org/10.2136/sssaj1995.03615995005900010004x>
- 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, 817-826. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.04.036>
- John EM, Shaik JM. 2015. Chlorpyrifos: pollution and remediation. *Environ. Chem. Lett.* 13, 269-291. <https://doi.org/10.1007/s10311-015-0513-7>
- Kosikowska M, Biziuk M. 2010. Review of the determination of pesticide residues in ambient air. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 29, 1064-1072. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.06.008>
- Lee S, McLaughlin R, Harnly M, Gunier R, Kreutzer R. 2002. Community exposures to airborne agricultural pesticides in

- California: Ranking of inhalation risks. *Environ. Health Perspect.* 110, 1175-1184. <https://doi.org/10.1289/ehp.021101175>
- Leistra M, Smelt JH, Hilbrand Weststrate J, Van Den Berg F, Alderink R. 2006. Volatilization of the pesticides chlorpyrifos and fenpropimorph from a potato crop. *Environ. Sci. Technol.* 40, 96-102. <https://doi.org/10.1021/es051248x>
- Li Z, Jennings A. 2017. Worldwide regulations of standard values of pesticides for human health risk control: A review, *International Journal of Environmental Research and Public Health.* <https://doi.org/10.3390/ijerph14070826>
- Loewy, RM, Monza LB, Kirs VE, Savini MC. 2011. Pesticide distribution in an agricultural environment in Argentina. *J. Environ. Sci. Heal. Part B* 46, 37-41. <https://doi.org/10.1080/03601234.2012.592051>
- Loewy RM, Carvajal LG, Novelli M, Pechen De D'Angelo AM. 2006. Azinphos methyl residues in shallow groundwater from the fruit production region of Northern Patagonia, Argentina. *J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes* 41, 869-881. <https://doi.org/10.1080/03601230600805956>
- Macchi P, Loewy RM, Lares B, Latini L, Monza L, Guiñazú N, Montagna CM. 2018. The impact of pesticides on the macroinvertebrate community in the water channels of the Río Negro and Neuquén Valley, North Patagonia (Argentina). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25, 10668-10678. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1330-x>
- Mackay D, Giesy JP, Solomon KR. 2014. Fate in the environment and long-range atmospheric transport of the organophosphorus insecticide, chlorpyrifos and its oxon, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology.* https://doi.org/10.1007/978-3-319-03865-0_3
- Marino D, Ronco A. 2005. Cypermethrin and chlorpyrifos concentration levels in surface water bodies of the Pampa Ondulada, Argentina. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 75, 820-826. <https://doi.org/10.1007/s00128-005-0824-7>
- Miller DR, Stoughton TE. 2000. Response of spray drift from aerial applications at a forest edge to atmospheric stability. *Agric. For. Meteorol.* 100, 49-58. [https://doi.org/10.1016/S0168-1923\(99\)00084-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1923(99)00084-2)
- Mugni H, Ronco A, Bonetto C. 2011. Insecticide toxicity to *Hyalella curvispina* in runoff and stream water within a soybean farm (Buenos Aires, Argentina). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74, 350-354. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.07.030>
- Parolo ME, Savini MC, Loewy RM. 2017. Characterization of soil organic matter by FT-IR spectroscopy and its relationship with chlorpyrifos sorption. *J. Environ. Manage.* 196, 316-322. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.03.018>
- Perillo CA, Gupta SC, Nater EA, Moncrief JF. 1999. Prevalence and initiation of preferential flow paths in a sandy loam with argillic horizon. *Geoderma* 89, 307-331. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(98\)00087-1](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(98)00087-1)
- Pesticide Action Network International, 2019. Pan international consolidated list of banned pesticides. Acceso junio 2019 <http://pan-international.org/paninternational-consolidated-list-of-banned-pesticides/>
- Pozo Karla, Llanos Y, Estellano VH, Cortés S, Jorquera H, Gerli L, Pozo Katherine, Encina F, Palma R, Focardi S. 2016. Occurrence of chlorpyrifos in the atmosphere of the Araucanía Region in Chile using polyurethane foam-based passive air samplers. *Atmos. Pollut. Res.* 7, 706-710. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2016.03.003>
- Racke KD. 1993. Environmental fate of chlorpyrifos. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 131, 1-150. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4362-5_1
- Rótolo GC, Montico S, Francis CA, Ulgiati S. 2014. Performance and environmental sustainability of cash crop production in Pampas Region, Argentina. *J. Environ. Account. Manag.* 2, 229-256. <https://doi.org/10.5890/JEAM.2014.09.004>
- Sanchez-Bayo F, Goka K. 2014. Pesticide residues and bees - A risk assessment. *PLoS One* 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094482>
- Sánchez VG, Gutiérrez CA, Gomez DS, Loewy M, Guiñazú N. 2019. Pesticide residues monitoring in underground drinking water, Neuquén province, northern Patagonia, Argentina. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 35, 641-649. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.03.10>
- Savini MC, Loewy RM, Nicotra VE, Parolo ME. 2017. Contribution of soil components on the sorption of chlorpyrifos. *Water. Air. Soil Pollut.* 228. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3153-z>
- Smernik RJ, Kookana RS. 2015. The effects of organic matter-mineral interactions and organic matter chemistry on diuron sorption across a diverse range of soils. *Chemosphere* 119, 99-104. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.066>
- Villaamil Lepori E, Quiroga PN, Ridolfi AS, Álvarez GV, Rodríguez Giralt ME, Piñeiro AE, Olmos V, Irigoyen MH, Ostera JM, Bonetto J, Pagano E. 2018. Cultivo extensivo de especies transgénicas y exposición humana a fitosanitarios en la Provincia de Buenos Aires. En: Pagano EA Ed, Impacto en el ambiente de los agroquímicos utilizados en cultivos transgénicos y evaluación de la exposición en población rural de la Región Pampeana, Argentina. Editorial Facultad de Agronomía UBA. Argentina. pp. 219-294.

- Walia S, Dureja P, Mukerjee SK. 1988. New photodegradation products of chlorpyrifos and their detection on glass, soil, and leaf surfaces. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 17, 183-188. <https://doi.org/10.1007/BF01056023>
- Wauchope RD, Yeh S, Linders JBHJ, Kloskowski R, Tanaka K, Rubin B, Katayama A, Kördel W, Gerstl Z, Lane M, Unsworth JB. 2002. Pesticide soil sorption parameters: Theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest Manag. Sci.* 58, 419-445. <https://doi.org/10.1002/ps.489>
- Yao Y, Harner T, Blanchard P, Tuduri L, Waite D, Poissant L, Murphy C, Belzer W, Aulagnier F, Sverko E. 2008. Pesticides in the atmosphere across Canadian agricultural regions. *Environ. Sci. Technol.* 42, 5931-5937. <https://doi.org/10.1021/es800878r>
- Zivan O, Bohbot-Raviv Y, Dubowski Y. 2017. Primary and secondary pesticide drift profiles from a peach orchard. *Chemosphere* 177, 303-310. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.014>
- Zivan O, Segal-Rosenheimer M, Dubowski Y. 2016. Airborne organophosphate pesticides drift in Mediterranean climate: The importance of secondary drift. *Atmos. Environ.* 127, 155-162. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.12.003>



3. PRESENCIA DE CLORPIRIFOS EN ALIMENTOS

María Martha Quintana y Mercedes Indaco

3.1 Introducción al problema en general

La necesidad de producción de alimentos y la agricultura intensiva traen aparejado, entre otras consecuencias, la presencia de residuos de plaguicidas en el aire, el suelo, los alimentos y el agua (Aktar et al., 2009; Zhao et al., 2013). Estando clara la importancia comercial y económica, centrada en la expansión de la producción de alimentos, el uso de plaguicidas no debe ignorar sus posibles efectos sobre la salud humana (de O. Gomes, H. et al., 2020).

Dados los niveles de importación de alimentos y considerando las regulaciones menos estrictas en los países emergentes, es necesario mantener un seguimiento de los plaguicidas no autorizados en Europa y otros países importadores. Plaguicidas obsoletos, considerados como compuestos orgánicos persistentes (COP), también deben ser monitoreados, especialmente en la matriz grasa de alimentos para animales, dado su potencial de bioconcentración y biomagnificación en la cadena alimentaria (Nougadère et al., 2011). Entre ellos, el clorpirifos ha sido potencialmente considerado como un COP a comienzos de la década pasada (Watts, 2012), si bien no se pudo avanzar posteriormente en aspectos regulatorios al respecto. Sin embargo, hay evidencia de que los residuos de clorpirifos son acumulados hasta una cierta cantidad en el cuerpo humano y pueden causar varios problemas de salud (EFSA, 2018; EFSA, 2019). Es sabido que para la exposición alimentaria (Trasande, 2017), el agua potable (Wan et al., 2021) y los alimentos son dos formas importantes para que el clorpirifos ingrese al cuerpo humano (Dallegrave et al., 2018; Sang et al., 2020).

En las recomendaciones nutricionales consensuadas en las Guías Alimentarias Para Argentina (GAPA, 2019) se acordó un total de 700 g diarios de frutas y vegetales. Generalmente, el número de alimentos y sustancias estudiadas es limitado en comparación con la diversidad de plaguicidas que se pueden encontrar en los alimentos. En consecuencia, la evaluación de contaminantes en la ingesta dietética no es completa. Además, los estudios en general utilizan el consumo medio de una población y no de un individuo, por lo que los datos de consumo no pueden caracterizar el riesgo de cada individuo ni estimar la distribución de los niveles de exposición para una población (Nougadère et al., 2011; Lehmann et al., 2017).

Por otro lado, existen suficientes evidencias de que los plaguicidas pueden residir en la superficie o penetrar en los frutos (Lozowicka, 2015). Por lo tanto, quitar la piel cuando se cocina no elimina completamente el riesgo de plaguicidas (Ma et al., 2020). Entonces, los residuos de plaguicidas que quedan en cantidades variables en los materiales alimenticios después de la cosecha están más allá del control del consumidor y tienen efectos nocivos para la salud humana. La presencia de plaguicidas en los alimentos varía según la naturaleza de la molécula de plaguicida, el tipo y la porción de material alimentario y los factores

ambientales (Bajwa y Sandhu, 2014). Entonces, la detección precisa y una estricta regulación de los residuos de clorpirifos en los alimentos son muy importantes para controlar la ingesta de clorpirifos en el consumo diario de alimentos. De este modo se hace indispensable la discusión sobre las formas de producción de alimentos para la República Argentina y la utilización de plaguicidas, siendo que el insecticida más utilizado para tal fin es el clorpirifos (Cabaleiro, 2018).

3.2 Niveles de clorpirifos hallados en alimentos en Argentina y otros países

Se utilizan anualmente alrededor de 2 millones de toneladas de plaguicidas en todo el mundo, valor que está aumentando rápidamente, siendo China el principal país consumidor, seguido de Estados Unidos y Argentina (Sharma et al., 2019). Se destaca que desde el año 1997 hasta la fecha, el aumento del uso de plaguicidas en la Argentina supera más del 250 % (de 120 millones litros-kilos a más de 400 millones litros-kilos actuales aproximadamente, por año). A ello deben sumarse también millones de litros-kilos de fertilizantes inorgánicos (Cabaleiro, 2018). El clorpirifos ha sido uno de los plaguicidas más vendidos y se prevé que su uso aumente hasta 2022 (Ma et al., 2020). Existen recomendaciones de uso de Buenas Prácticas Agrícolas para horticultura desde el INTA, específicamente para hacer tratamientos con clorpirifos para controlar plagas como isocas y gusanos cortadores. En estas guías, el INTA sugiere el uso de una dosis de 160 mL/hL con una concentración del 48% (estimativamente 0,77 a 1,15 kg de clorpirifos/ha) y tiempos de carencia entre 15 a 30 días según los cultivos (Cichon et al., 2017).

El clorpirifos se aplica generalmente a cultivos como almendra, maíz, algodón, duraznos y árboles frutales como plátanos, naranjas y manzanas (Wang et al., 2018). Existen reportes que indican que los cítricos importados a Dinamarca contienen clorpirifos en 1/3 de todos los cargamentos provenientes de producciones convencionales. Estas frutas se producen en otros países de la UE, como España, y países asiáticos como China (Foong et al., 2020) (Figura 3.1). El clorpirifos está prohibido en Dinamarca y otros países de la UE, pero sorprendentemente ahora aparece en altas frecuencias y concentraciones. Sang et al. (2020) determinaron la neurotoxicidad potencial de clorpirifos en comida de China y Dinamarca, sugiriendo niveles preocupantes. Los principales factores de riesgo para la salud en China son los grupos de alimentos de granos y productos a base de cereales y productos vegetales, mientras que el principal riesgo crónico para la salud de los dinamarqueses es el grupo de alimentos de frutas y productos de frutas importados (Sang et al., 2020). Del mismo modo deben considerarse los productos nutracéuticos y afines en sus contenidos de residuos de plaguicidas (Martínez-Domínguez et al., 2014).

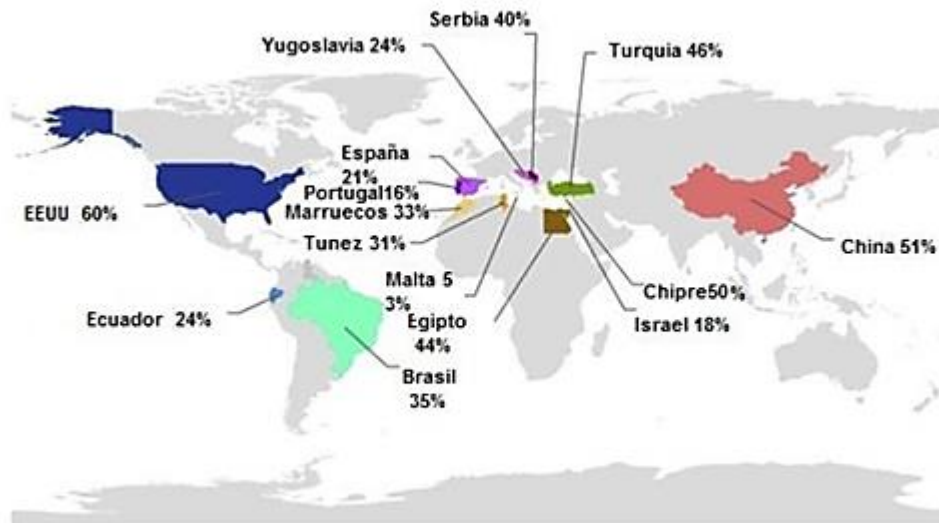


Figura 3.1 Mapa mundial que muestra la prevalencia de clorpirifos (% de fruta) en diferentes partes del mundo

Fuente: Health and Environment Alliance (HEAL) y Pesticide Action Network (PAN) Europe, 2019 (Alliance and Network, 2019) (Modificado de Foong et al., 2020).

Existen reportes en España que indican que el clorpirifos es el plaguicida más habitualmente detectado (1 de cada 5 frutas, incluidas el 40 % de las naranjas y el 35 % de las mandarinas, están contaminadas con clorpirifos) (EFSA, 2018). Sokoloff et al. (2016) señalan que la frecuencia de consumo de manzanas frescas, jugos de frutas, mantequilla, carnes de pollo y pavo se asocian significativamente con una alta exposición a clorpirifos, de manera similar a los resultados de un estudio en adultos. Existen reportes de la prevalencia de clorpirifos en frutas en diferentes países en todo el mundo (figura 3.2). La presencia de residuos de plaguicidas en frutas ha llamado la atención, particularmente en China, ya que el país es el mayor usuario de pesticidas del mundo (Li et al., 2018). Concha-meyer et al. (2019) han investigado el riesgo de exposición a plaguicidas entre ellos clorpirifos, fundamentalmente en duraznos. De treinta y nueve tipos de plaguicidas detectados, el clorpirifos fue uno de los insecticidas más frecuentes detectados en melocotones (29%), que presenta el mayor riesgo de exposición a largo plazo tanto para niños como población adulta en general (Li et al., 2018). También se ha detectado clorpirifos en todas las muestras de alimentos (coliflor, calabaza, duraznos, uvas, plátanos, manzanas, peras y fresas) recolectadas de diferentes regiones de Grecia (Christia et al., 2015).

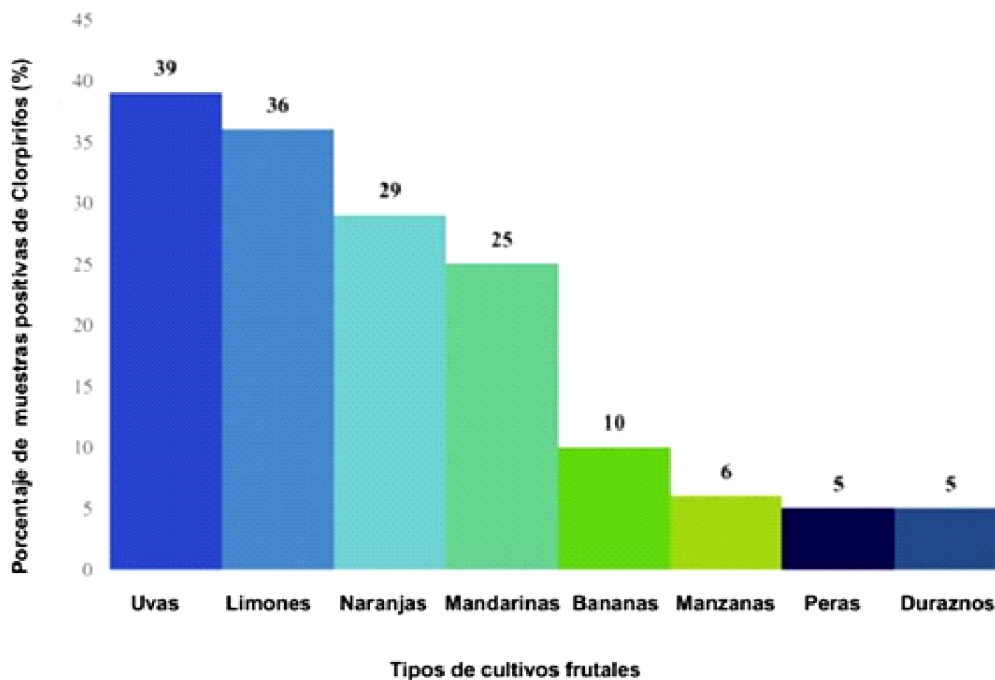


Figura 3.2 Prevalencia de muestras positivas de clorpirifos (%) de frutas vendidas en el mercado de la UE (Alliance and Network, 2019) (Modificado de Foong et al., 2020).

Existen reportes de presencia de clorpirifos en hortalizas en Bolivia (Skovgaard et al., 2017). En el mismo sentido, se destaca que en una serie de muestreos de hortalizas y frutas realizado en el mercado concentrador de Buenos Aires por SENASA el clorpirifos fue el insecticida más frecuentemente detectado (Cabaleiro, 2018) (Figura 3.3). Se detectó clorpirifos en frutas y hortalizas en las que no estaba autorizado su uso como: acelga, achicoria, albahaca, ananá, apio, arroz, avena, espinaca, kiwi, lechuga, pelón, rúcula, uva y zanahoria (Cabaleiro, 2018). Existe un reporte en Chile donde se cuantificó el residuo de plaguicidas en frutas y verduras congeladas en su mercado interno y encontró que el clorpirifos estaba entre los compuestos más frecuentemente detectados. En el 97% de las muestras que contenían plaguicidas, hubo 21 pesticidas diferentes, incluido clorpirifos, que excedieron los Máximos Niveles de Residuos (LMR) establecidos por el Ministerio de Chile y el Codex Alimentarius (Concha-meyer et al., 2019). Lehmann et al. (2017) reportaron que la exposición peligrosa de los niños al clorpirifos estaba relacionada con el consumo de tomates en el 70% de los casos en Burkina Faso. Además, identificaron riesgos crónicos para la exposición alimentaria diaria a organofosforados como el clorpirifos, organoclorados y piretroides.

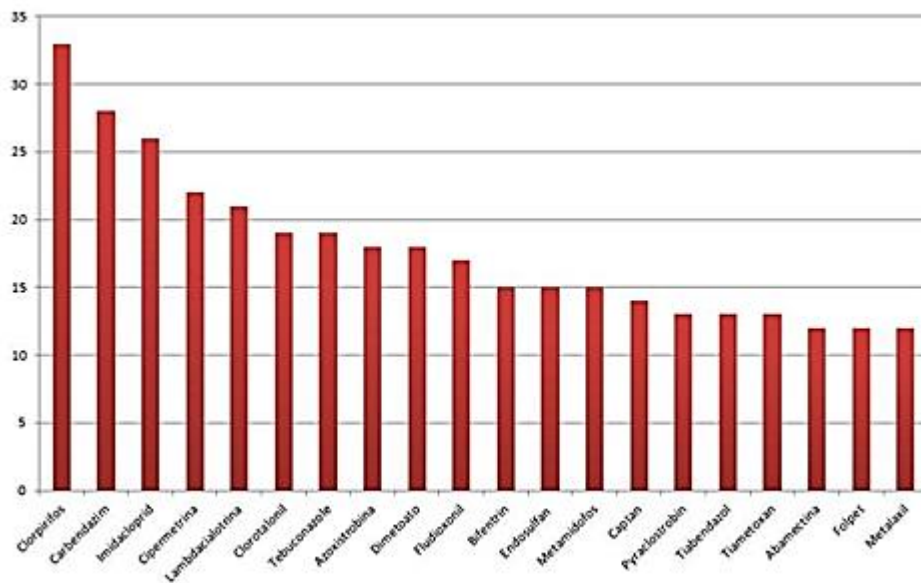


Figura 3.3 Los 20 plaguicidas con mayor prevalencia en alimentos en el Mercado Concentrador de Buenos Aires, Argentina (Extraído de Cabaleiro, 2018).

Por otro lado, se han detectado niveles de plaguicidas en muestras de miel que estaban por debajo de los límites máximos establecidos por el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de Argentina (SAGPyA, Res. 125/98). Se ha informado que la presencia de estos contaminantes en colmenas podría tener un efecto sinérgico deletéreo sobre los acaricidas utilizados en la apicultura (Tomé et al., 2017). Como un caso particular para infantes lactantes, los plaguicidas solubles en las grasas pueden llegar a la leche materna, transformándose en una ruta potencial de exposición. Un estudio en 59 madres en el valle de Salinas, California, detectó en el 95% de las muestras de leche materna de mujeres urbanas, concentraciones medias de clorpirifos de 24,5 pg/g de lípido de leche y de metil clorpirifos de 4,02 pg/g de lípido de leche, mientras que en las muestras de origen rural fue 28 pg/g de lípido de leche (Weldon et al., 2011). En la ciudad de Pujab (India) un estudio de 127 muestras de leche materna determinó un promedio de 1910 pg de clorpirifos/g de lípido (Sharma et al., 2014). En zonas rurales de Venezuela se encontraron residuos de clorpirifos entre 30 ng/g y 1740 ng/g en muestras de leche materna (Uzcátegui et al., 2018).

También debe considerarse la bioconcentración de contaminantes orgánicos persistentes en la leche de origen animal como fuente de exposición alimentaria a los plaguicidas (Kampire et al., 2011). Los insecticidas organofosforados son en general solubles en la grasa en los tejidos animales, acumulándose en la leche y los huevos y representando riesgos para la salud humana (Fagnani et al., 2011). Los residuos de plaguicidas en la leche proceden de piensos contaminados, ensilaje de hierba o maíz, y la aplicación directa de plaguicidas en ganado lechero (Shaker y Elsharkawy, 2015). En ese sentido, la Unión Europea ha especificado un LMR de 10 µg/kg para cualquier plaguicida individual en alimentos procesados a base de

cereales y alimentos para bebés, sobre la base de las opiniones de los Comités de Alimentación, Directiva 2003/13/CE, y ha establecido la prohibición del uso de plaguicidas altamente tóxicos que tienen valores aceptables de ingesta diaria inferiores a 0,5 µg/kg de peso corporal en la producción de productos destinados a la alimentación infantil (Mezcua et al., 2007). Jawaid et al. (2016) reportaron en Pakistán niveles de clorpirifos en leche cruda (0,1-1,6 µg/L) y en leche procesada en alta temperatura (0,1-1µg/L), siendo valores más altos que los permitidos en los LMR.

Entonces, está claro que se deben tomar precauciones para reducir la exposición dietaria de plaguicidas, especialmente para los niños, además de incentivar la aplicación de la ley y la formación de los operadores para mejorar la seguridad de los consumidores (Lehmann et al., 2017). Es interesante remarcar que, pese a que una cantidad de estudios reportan la frecuencia de niveles de clorpirifos y otros plaguicidas que exceden los LMR, muy pocos trabajos publican los valores de concentración que se han determinado analíticamente para establecer las excedencias. A continuación, se muestran niveles de clorpirifos encontrados en agua y distintas matrices de alimentos en varios países (tabla 3.1).

El surgimiento de tecnologías denominadas de “última” generación permite plantear a futuro nuevas herramientas para refinar y profundizar las evaluaciones de los efectos deletéreos de sustancias, inclusive para la presencia de plaguicidas en alimentos. Un estudio metabólico realizado a nivel del microbioma intestinal en ratas expuestas a distintos biocidas (azoxistrobina, boscalid, clorpirifos, glifosato, imidacloprid y tiabendazol) a través de alimento y agua, reveló alteraciones en el metabolismo que sugieren señales de daño celular aun cuando no se encontraron alteraciones histopatológicas o fisiológicas evidentes (Mesnage et al., 2020). Los autores propusieron la utilización de métodos "multi-ómicos" que potencialmente se pueden utilizar como biomarcadores para la predicción de impactos negativos para la salud y como parte de los procedimientos regulatorios para la evaluación de riesgos.

Tabla 3.1 Valores de clorpirifos encontrados en agua y distintas matrices de alimentos

Especie	Concentraciones	Lugar	Referencia
Agua de pozo	0,0448 (µg/L)	Burkina Faso	(Lehmann et al., 2017).
Agua potable	0,013 (µ/L)	Vietnam	(Wan et al., 2021).
Tomates	90,6 (µg/kg)	Burkina Faso	(Lehmann et al., 2017).
Pepinos	<LOQ	Burkina Faso	(Lehmann et al., 2017).
Papas	<LOD	Bolivia	(Skovgaard et al., 2017).
Berenjenas	<LOD	Burkina Faso	(Lehmann et al., 2017).
Lechuga	0,37 mg/kg	Bolivia	(Skovgaard et al., 2017).
Leche vacuna	0,1-1,6 µg/L	Paquistán	(Jawaid et al., 2016).
	45,7 µg/L	Brasil	(Dallegrave et al., 2018).
Carne de vaca	17,5 µg/kg	Brasil	(Dallegrave et al., 2018).
Carne de pollo	<LOQ	Jabalpur, India	(Singh et al., 2018).
Huevos	<LOD	Jabalpur, India	(Singh et al., 2018).

LOQ: límite de cuantificación; LOD: límite de detección

3.3 Límites de residuos máximos de clorpirifos en alimentos

Los métodos tradicionales utilizados para detectar clorpirifos incluyen cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS), cromatografía de gases / líquidos (GC / LC) y biosensor basado en nanomateriales. Sin embargo, estos métodos muestran dificultad en el análisis en tiempo real debido a los pasos previos de extracción de las matrices complejas y acondicionamiento para la ulterior determinación analítica (Ge et al., 2020).

En las siguientes tablas (3.2 y 3.3) se muestran algunos límites de residuos máximos (LMR) para clorpirifos y metil clorpirifos en algunos alimentos representativos de mayor consumo en Argentina, Chile, Brasil, Codex, Unión Europea (UE) Estados Unidos (USA) y China. En la sección 3.6 donde se indican los sitios web consultados al respecto, pueden encontrarse en forma completa los LMR para los distintos productos alimenticios que informa cada país.

Tabla 3.2 Límites Máximos de Residuos para Clorpirifos (mg/kg)

Alimento	Argentina	Chile	Brasil	CODEX	UE	USA	China
manzana	0,2	1	1	1	0,01	1,5	1
naranja	0,3	1	2	1	1,5	1	1
lechuga	-	1	-	-	0,01	-	0,1
tomate	0,5	-	NA	-	0,1	0,5	0,5
papa	0,05	-	-	2	0,1	-	-
cebollas	0,05	0,2	NA	0,2	0,1	0,5	-
zapallo	-	-	-	-	-	0,05	-
trigo	0,05	0,5	-	0,5	0,5	0,5	0,5
bovino	1	1	-	-	0,01	-	1
porcino	0,02	-	-	0,02	0,01	-	0,02
aviar	0,01	0,01	-	0,01	0,01	-	0,01
leche	0,02	0,02	-	0,02	0,02	-	0,02

NA= No Autorizado. Sitios web consultados en sección 3.6

Tabla 3.3 Límites máximos de residuos para metil-clorpirifos (mg/kg)

Alimento	Argentina	Chile	Brasil	CODEX	UE	USA	China
manzana	-	-	-	1	1	-	-
naranja	-	-	-	2	2	-	-
lechuga	-	-	-	-	0,01	-	-
tomate	0,5	-	-	1	1	-	-
papa	-	-	-	-	0,01	-	5
cebolla	-	-	NA	-	0,01	-	-
zapallo	-	-	-	-	-	-	-
trigo	5	-	-	3	0,05	6	5
bovino	-	0,1	-	0,1	0,1	-	0,1
porcino	-	0,1	-	0,1	0,1	-	0,1
aviar	-	0,01	-	-	0,1	-	0,01

leche	-	0,01	-	-	0,01	-	0,01
-------	---	------	---	---	------	---	------

Fuente de información: ver sección 3.6

La horticultura y la fruticultura en Argentina se caracterizan por una amplia distribución geográfica y una diversidad de tipos de productos. Con una producción anual estimada de 8,3 millones de toneladas de frutas y 10 millones de toneladas de hortalizas, esos dos aspectos agrarios del sector social y económico tienen la capacidad de satisfacer la demanda interna y fuertemente contribuyen a cubrir las necesidades alimentarias diarias de la población de la nación (Mac Loughlin et al., 2018).

El SENASA considera como caso no positivo, la detección de un plaguicida como residuo en un alimento cuando su valor sea inferior a 0,01 mg/kg. Eso es así, en virtud del artículo 1 de la Resolución 934/2010 que establece que cuando no se hubiera establecido un valor máximo de residuo de plaguicidas para un alimento determinado, el límite será el valor por defecto de 0,01 mg/kg. Como el SENASA ha fijado pocos Límites Máximos de Residuos (LMR) de agrotóxicos en alimentos, gran parte de éstos están alcanzados por esa regla subsidiaria (Cabaleiro, 2018.) (ver tablas 3.2 y 3.3). De este modo, ese valor por defecto coloca a la normativa argentina, en la formalidad, en una mejor situación respecto de otros países de la región y de Europa, dado que en la mayoría de las jurisdicciones extranjeras se ha avanzado en la fijación de valores de LMR de cada plaguicida sobre los alimentos con valores superiores al 0,01 mg/kg, siguiendo los lineamientos del *Codex Alimentarius*, que prevé parámetros más elevados a los locales.

En Argentina, dado que sólo tres de los grandes mercados mayoristas de frutas y hortalizas tienen la infraestructura adecuada para determinar la presencia o ausencia de residuos de plaguicidas, el resto de los conglomerados urbanos no pueden realizar controles en sus mercados (Mac Loughlin et al., 2018). Es por ello que se necesita la realización de nuevos estudios para cuantificar los niveles de residuos en los alimentos frescos y procesados, para obtener una caracterización más refinada de la exposición dietaria a plaguicidas en Argentina.

3.4 Conclusiones

Como conclusión, se destaca la importancia de considerar el derecho a la alimentación adecuada y segura en el consumo de frutas, hortalizas, verduras, oleaginosas y cereales con una minimización de los residuos de plaguicidas que no superen los 0,01 mg/kg. Preferentemente habría que promover una agricultura que no utilice agroquímicos y busque su reemplazo con bioinsecticidas y prácticas de manejo integrado en forma orgánica.

Por lo tanto, promover inversiones en producción agroecológica y en el uso de bioplaguicidas, así como la prohibición de ingredientes activos que hayan demostrado efectos nocivos, son propuestas que necesitan ser investigadas para mitigar el daño causado por el uso irregular de plaguicidas, especialmente en

organismos no objetivo. La investigación para obtener plaguicidas más selectivos y mejores técnicas de aplicación, así como los cambios en los hábitos alimentarios de la población, también son opciones viables que deben ser estudiadas. Por ende, a pesar de la clara importancia comercial y económica, centrada en la expansión de la producción de alimentos, el uso de plaguicidas no debe estar por encima del resguardo de la salud humana (de O. Gomes, H. et al., 2020). Con todo lo expuesto hasta aquí, y considerando que clorpirifos es candidato para ingresar al grupo de los contaminantes orgánicos persistentes del Anexo A del Convenio de Estocolmo (Pollutants, 2020), es urgente la implementación por parte de los Estados, de políticas públicas para la minimización de riesgos de exposición a este insecticida.

Considerar a la lactancia materna como primer alimento en los seres humanos, pone de manifiesto el impacto que tiene la exposición ambiental a plaguicidas en las personas gestantes y lactantes. El plaguicida clorpirifos es capaz de llegar a la leche materna como se detalló anteriormente, ocasionando un riesgo adicional para los neonatos. Proteger a estos grupos vulnerables debe ser una prioridad en las políticas de estado a fin de minimizar el riesgo de exposición materna y neonatal.

3.5 Referencias

- Aktar W, Sengupta D, Chowdhury A. 2009. Impact of pesticides use in agriculture: Their benefits and hazards. *Interdiscip. Toxicol.* 2, 1–12. <https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7>
- Bajwa U, Sandhu KS. 2014. Effect of handling and processing on pesticide residues in food- A review. *J. Food Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0499-5>
- Cabaleiro. 2018. El plato fumigado. Si tiene agrotóxico no es alimento. Informe. Naturaleza de Derechos. <https://goo.gl/GbNEXd>
- Christia C, Bizani E, Christophoridis C, Fytianos K. 2015. Pesticide residues in fruit samples : comparison of different QuEChERS methods using liquid chromatography – tandem mass spectrometry. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4456-0>
- Cichon L, Araque L, Garrido SA, Lago J. 2017. Residuos y tolerancias control de plagas de Alto Valle de Río Negro y Neuquén. Reporte Técnico actualizado 2017. INTA Estación Experimental Alto Valle. <https://inta.gov.ar/documentos/residuos-y-tolerancias-de-insecticidas-para-el-control-de-plagas-de-frutales-de-pepita-1>
- Concha-meyer A, Grandon S, Sepúlveda G, Diaz R, Yuri JA, Torres C. 2019. Pesticide residues quantification in frozen fruit and vegetables in Chilean domestic market using QuEChERS extraction with ultra-high-performance liquid chromatography electrospray ionization Orbitrap mass spectrometry. *Food Chem.* 295, 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.046>
- Dallegrave A, Pizzolato TM, Barreto F, Bica VC, Eljarrat E, Barceló D. 2018. Residue of insecticides in foodstuff and dietary exposure assessment of Brazilian citizens. *Food Chem. Toxicol.* <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.03.028>
- de O. Gomes, H., Menezes JMC, da Costa JGM, Coutinho HDM, Teixeira RNP, do Nascimento RF. 2020. A socio-environmental perspective on pesticide use and food production. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110627>
- EFSA. 2019. Statement on the available outcomes of the human health assessment in the context of the pesticides peer review of the active substance chlorpyrifos. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5809>
- EFSA. 2018. The 2016 European Union report on pesticide residues in food 16. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5348>
- Fagnani R, Beloti V, Battaglini APP, Dunga KS. 2011. Organophosphorus and carbamates residues in milk and feedstuff supplied to dairy cattle 1. *Pesq. Vet. Bras.* 31, 598–602.
- Foong SY, Ma NL, Lam SS, Peng W, Low F, Lee BHK, Alstrup AKO, Sonne C. 2020. A recent global review of hazardous chlorpyrifos pesticide in fruit and vegetables: Prevalence, remediation and actions needed. *J. Hazard. Mater.* 400, 123006. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123006>
- GAPA. 2019. Guías alimentarias para la población argentina, Secretaría de Gobierno de Salud, Programa Nacional de Alimentación Saludable y Prevención de la Obesidad, resolución 693/2019. IF-2019-17698792-APN-DNPSYCECNT#MSYDS
- Ge X, Zhou P, Zhang Q, Xia Z, Chen S, Gao P, Zhang Z, Gu L, Guo S. 2020. Palladium single atoms on TiO₂ as a photocatalytic sensing platform for analyzing the organophosphorus pesticide chlorpyrifos. *Angew. Chemie* 132, 238–242. <https://doi.org/10.1002/ange.201911516>
- Jawaid S, Talpur FN, Nizamani SM, Khaskheli AA, Afridi HI. 2016. Multipesticide residue levels in UHT and raw milk samples by GC- μ ECD after QuEChER extraction method. *Environ. Monit. Assess.* 188. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5222-6>
- Kampire E, Kiremire BT, Nyanzi SA, Kishimba M. 2011. Chemosphere Organochlorine pesticide in fresh and pasteurized cow's milk from Kampala markets. *Chemosphere* 84, 923–927. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.06.011>
- Lehmann E, Turrero N, Kolia M, Konaté Y, Felipe L, Alencastro D. 2017. Dietary risk assessment of pesticides from vegetables and drinking water in gardening areas in Burkina Faso. *Sci. Total Environ.* 601–602, 1208–1216. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.285>
- Li Z, Nie J, Yan Z, Cheng Y, Lan F, Huang Y, Chen Q, Zhao X, Li A. 2018. A monitoring survey and dietary risk assessment for pesticide residues on peaches in China. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 97, 152–162. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.06.007>
- Mac Loughlin T, Peluso L, Marino D. 2017. Pesticide impact study in the peri-urban horticultural area of Gran La Plata, Argentina. *Science of the Total Environment* 598 (2017) 572–580. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.116>

- Mac Loughlin TM, Peluso ML, Etchegoyen MA, Lucas L, Castro MC De, Percudani MC, Marino DJG. 2018. Pesticide residues in fruits and vegetables of the Argentine domestic market: occurrence and quality. *Food Control*. Accepted Manuscript <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.041>
- Lozowicka B. 2015. Health risk for children and adults consuming apples with pesticide residue. *Sci. Total Environ.* 502, 184–198. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.09.026>
- Ma P, Wang L, Xu L, Li J, Zhang X, Chen H. 2020. Rapid quantitative determination of chlorpyrifos pesticide residues in tomatoes by surface-enhanced Raman spectroscopy. *Eur. Food Res. Technol.* 246, 239–251. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03408-8>
- Martínez-Domínguez G, Plaza-Bolaños P, Romero-González R, Garrido-Frenich A. 2014. Analytical approaches for the determination of pesticide residues in nutraceutical products and related matrices by chromatographic techniques coupled to mass spectrometry. *Talanta* 118, 277–291. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.10.006>
- Mesnage R, Teixeira M, Mandrioli D, Falcioni L, Ducarmon QR, Zwiittink RD, Amiel C, Panoff J-M, Bourne E, Savage E, Mein CA, Belpoggi F, Antoniou MN. 2020. Multi-omics phenotyping of the gut-liver axis allows health risk predictability from in vivo subchronic toxicity tests of a low-dose pesticide mixture. <https://doi.org/10.1101/2020.08.25.266528>
- Mezcua M, Repetti MR, Agüera A, Ferrer C, García-Reyes JF, Fernández-Alba AR. 2007. Determination of pesticides in milk-based infant formulas by pressurized liquid extraction followed by gas chromatography tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 389, 1833–1840. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1501-y>
- Nougadère A, Reninger J, Volatier J, Leblanc J. 2011. Chronic dietary risk characterization for pesticide residues: A ranking and scoring method integrating agricultural uses and food contamination data 49, 1484–1510. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.03.024>
- Pollutants PO. 2020. CHLORPYRIFOS Draft proposal for listing chlorpyrifos in Annex A to the Stockholm Convention on.
- Sang C, Sørensen PB, An W, Andersen JH, Yang M. 2020. Chronic health risk comparison between China and Denmark on dietary exposure to chlorpyrifos. *Environ. Pollut.* 257. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113590>
- Shaker EM, Elsharkawy EE. 2015. Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in raw buffalo milk from agroindustrial areas in Assiut, Egypt. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 39, 433–440. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.12.005>
- Sharma et al. 2014. Monitoring of pesticide residues in human breast milk from Punjab, India and its correlation with health associated parameters. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 93, 465–471. <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1326-2>
- Sharma A, Kumar V, Shahzad B, Tanveer M, Sidhu GPS, Handa N, Kohli SK, Yadav P, Bali AS, Parihar RD, Dar OI, Singh K, Jasrotia S, Bakshi P, Ramakrishnan M, Kumar S, Bhardwaj R, Thukral AK. 2019. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Appl. Sci.* 1. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1485-1>
- Singh RP, Sahni YP, Sharma RK, Shrmn K, Gautam V, Bharti S. 2018. UHPLC determination of residues of chlorpyrifos insecticide in chicken meat. *Pharma Innov. J.* 107, 107–110.
- Skovgaard M, Renjel Encinas S, Jensen OC, Andersen JH, Condarco G, Jørs E. 2017. Pesticide residues in commercial lettuce, onion, and potato samples from Bolivia—A threat to Public Health? *Environ. Health Insights* 11. <https://doi.org/10.1177/1178630217704194>
- Sokoloff K, Fraser W, Arbuckle TE, Fisher M, Gaudreau E, Leblanc A, Morisset A, Bouchard MF. 2016. Determinants of urinary concentrations of dialkyl phosphates among pregnant women in Canada — Results from the MIREC study. *Environ. Int.* 94, 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.05.015>
- Tomé HV V, Ramos GS, Araújo MF, Santana WC, Santos GR, Guedes RNC, Maciel CD, Newland PL, Oliveira EE. 2017. Agrochemical synergism imposes higher risk to Neotropical bees than to honeybees. *Royal Society Open Science*, 4, 160866. doi.org/10.1098/rsos.160866
- Trasande L. 2017. When enough data are not enough to enact policy: The failure to ban chlorpyrifos 1–6. *PLoS Biol* 15(12): e2003671. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003671>
- Uzcátegui J. 2018. Contaminación de leche materna por plaguicida organofosforado clorpirifos de madres residentes en tres poblaciones agrícolas del estado de Mérida, Venezuela. *Acta Bioquim.* 51, Vol 9, N° 18 ISSN: 2244-8136.
- Wan Y, Tran TM, Nguyen VT, Wang A, Wang J, Kannan K. 2021. Neonicotinoids, fipronil, chlorpyrifos,

carbendazim, chlorotriazines, chlorophenoxy herbicides, bentazon, and selected pesticide transformation products in surface water and drinking water from northern Vietnam. *Sci. Total Environ.* 750, 141507. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141507>

Watts M. 2012. Chlorpyrifos as a possible global POP. *Pestic. Action Netw. North Am.* 1–34.

Weldon RH, Barr DB, Trujillo C, Bradman A, Holland N, Eskenazi B. 2011. A pilot study of pesticides and PCBs in the breast milk of women residing in urban and agricultural communities of California. *J. Environ. Monit.* 13, 3136–3144. <https://doi.org/10.1039/c1em10469a>

Zhao Y, Wang C, Wendling LA, Pei Y. 2013. Feasibility of using drinking water treatment residuals as a novel chlorpyrifos adsorbent. *J. Agric. Food Chem.* 61, 7446–7452. <https://doi.org/10.1021/jf401763f>

3.6 Webgrafía consultada por LMR

<http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-934-2010-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria>. Revisado 4/9/2020

http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/INFORMACION/NORMATIVA/RESOL_Y_AN_EXOS/rs-559-2011_apruebense_los_limites_de_residuos_en_alimentos_de_origen_animal.pdf

<http://www.agrichina.org/view.aspx?cid=426&id=6>

<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/4/9/2020>

<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN>
www.minsal.cl

<https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=652f6661f1c740545053c400dfe56616&node=pt40.24.180&rgn=div5>

https://www.infoagro.com/abonos/lmr_eeuu_usa_materia.asp?id=42

<http://portal.anvisa.gov.br/programa-de-analise-de-registro-de-agrotoxicos-para> 4/9/2020

http://www.agrichina.org/admin/kindeditor-4.1.2/attached/file/20200110/20200110152545_0695.pdf

4. IMPACTO EN LA SALUD HUMANA

Natalia Guiñazú, Berta Vera, Maria Soledad Jaureguiberry y Ana Cecilia Mestre Citronovitz

4.1 Exposición humana a clorpirifos

Los plaguicidas son contaminantes habituales del ambiente y los alimentos (Waheed et al., 2017; Dallegrave et al., 2018; Álvarez et al., 2019). El clorpirifos es el agroquímico más utilizado en Argentina luego del glifosato y a nivel global se han hallado sus metabolitos en sangre, orina e incluso en leche materna y sangre de cordón umbilical (Bouvier et al., 2006; Rauh et al., 2012; Liu et al., 2014; Waheed et al., 2017; Hartle et al., 2018; Brahmand et al., 2019). La toxicidad aguda del clorpirifos se debe a la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) con el consecuente aumento de los niveles de acetilcolina, mecanismo de acción neurotóxica que ha sido ampliamente estudiado (Colović et al., 2013) (Figura 4.1). La inhibición de la colinesterasa en humanos lleva a un sistema nervioso sobreestimulado que causa náuseas, mareos, confusión, parálisis respiratoria y muerte a niveles de exposición muy elevados. Se observaron cambios significativos en la inhibición de la acetilcolinesterasa plasmática en dosis repetidas de 0,1 mg/kg de clorpirifos, pero no en dosis únicas. En el ser humano, una dosis de 300 mg/kg por vía oral causa parestesia, debilidad muscular y coma, afectando al sistema nervioso por inhibición de la enzima AChE. La exposición a concentraciones muy por encima del NOAEL podría causar la muerte. (PubChem [Internet]. Bethesda (MD): Biblioteca Nacional de Medicina (EE.UU.), Centro Nacional de Información Biotecnológica; 2004-. Resumen de compuestos de PubChem para CID 2730, clorpirifos; Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorpyrifos>).

Además, en los últimos años ha crecido la preocupación por los efectos del clorpirifos sobre blancos secundarios y a concentraciones subtóxicas, que no pueden explicarse por la inhibición de la enzima AChE (Eaton et al., 2008). En este sentido, se asoció la exposición crónica a bajas concentraciones de clorpirifos con numerosas implicancias en la salud como por ejemplo cáncer de mama, obesidad, diabetes, síndrome metabólico, alteraciones del microbioma, del neurodesarrollo y enfermedades neurodegenerativas, entre otras patologías (Ross y Ginevan, 2014; Burke et al., 2017; Liang et al., 2019; Ventura et al., 2019; von Ehrenstein et al., 2019).

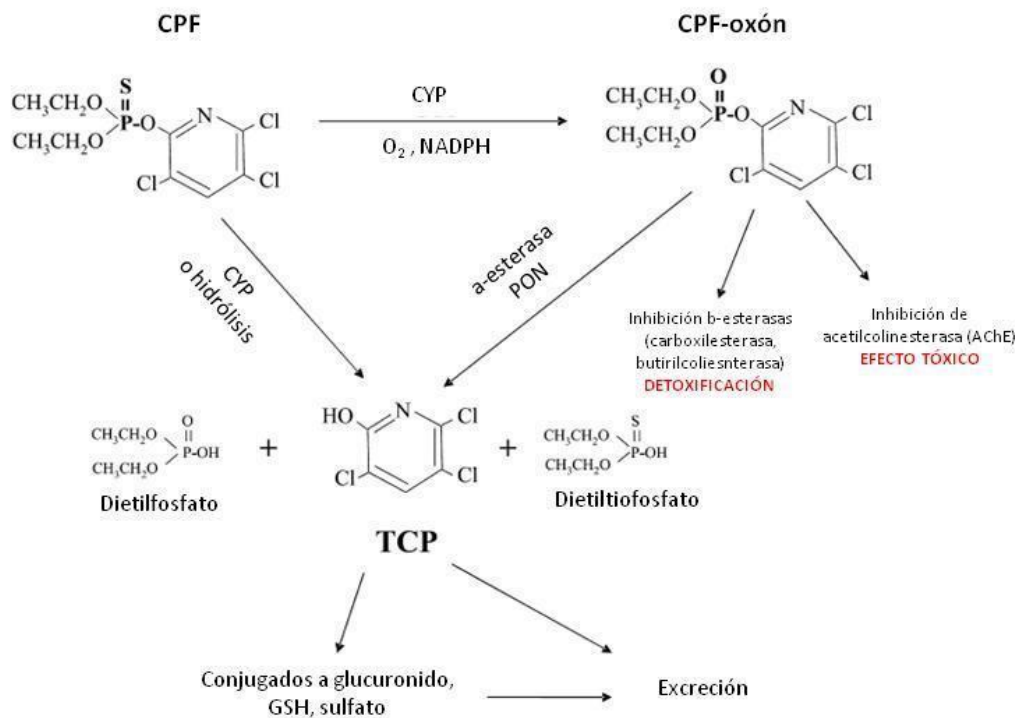


Figura 4.1: Metabolismo de clorpirifos, y metabolitos excretados e inhibidores de AChE

El clorpirifos es un inhibidor débil de la acetilcolinesterasa (AChE) per se, pero mediante la reacción de desulfuración oxidativa (pasaje de P=S a P=O), que es catalizada por el sistema citocromo P450 (CYP), da como resultado el metabolito tóxico clorpirifos-oxón, que es un potente inhibidor de la AChE cerebral y sérica. También ocurre la desarilación catalizada por CYP, que da como resultado 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP) y dietiltiofosfato de (DETP), que son metabolitos detoxificados. Estos metabolitos detoxificados pueden ser producto de la hidrólisis por A-esterasas (paraoxonasas-PON1) y por hidrólisis por B-esterasas como carboxilesterasa y butirilcolinesterasa, actuando como depuradores moleculares al unirse estequiométricamente al clorpirifos-oxón. En pasos posteriores el clorpirifos-oxón, se conjuga por glutatión-S-transferasas con glutatión reducido (GSH). También puede ocurrir la conjugación de TCP mediada por glucuronil-transferasas y sulfotransferasas, para formar los correspondientes conjugados de glucurónido y sulfato. Adaptado de Testai et al. (2010).

Asimismo, se demostró que el clorpirifos induce estrés oxidativo y modifica la respuesta de enzimas antioxidantes, lo cual contribuiría indirectamente con varias de las patologías mencionadas (de Felice et al., 2016; Tanvir et al., 2016; Xu et al., 2017; Albasher et al., 2019). Los efectos neurotóxicos están asociados con exposiciones crónicas, especialmente las deficiencias cognitivas, motoras y sensoriales y las enfermedades neurológicas (Alavanja et al., 2004b; Roldán-Tapia et al., 2005; Joshaghani et al., 2007; Muñoz-Quezada et al., 2017). Los estudios también han encontrado una asociación entre el uso de plaguicidas organofosforados y trastornos emocionales, depresión y ansiedad (Bayrami et al., 2012; Malekirad et al., 2013), dificultades respiratorias, alergias, efectos endocrinos e inmunotóxicos (Costa, 2006), cáncer (Alavanja et al., 2004a; Lee

et al., 2004; Bonner et al., 2007), anomalías fetales (Eskenazi et al., 1999; Berkowitz et al., 2004; Needham, 2005; Engel et al., 2007), neuroconductuales y retrasos en el desarrollo en los hijos de trabajadores temporarios expuestos a plaguicidas organofosforados (Eskenazi et al., 2007; Rosas y Eskenazi, 2008; Muñoz-Quezada et al., 2013).

4.2 Vías de exposición de los seres humanos a los plaguicidas

Ha sido reportado que las principales rutas de exposición humana a plaguicidas son a través de la cadena alimentaria, aire, agua, suelo, flora y fauna (Anderson y Meade, 2014). La exposición ocupacional a plaguicidas puede ocurrir bajo diferentes circunstancias tales como la fabricación de los mismos, la mezcla/carga, la fumigación, la cosecha y el acopio de granos. Mientras que la población general puede estar expuesta principalmente a través de la ingestión de alimentos, agua potable o la inhalación de aire y polvo del suelo contaminado con plaguicidas y el contacto dérmico al nadar y ducharse en agua contaminada, o tocar objetos contaminados con estos xenobióticos (Figura 4.2).

Se reconoce en la actualidad que el primer escenario de exposición a los plaguicidas es el útero materno, y que las sustancias a las que se encuentra expuesta la madre pueden ser transferidas al feto. En la etapa neonatal puede ocurrir exposición a través de la ingestión de leche materna contaminada, la respiración de aire contaminado y también por consumo materno de productos provenientes de cultivos tratados con productos químicos, entre otros. Hay consenso que tanto para la exposición ocupacional como la de la población general existen tres vías más frecuentes de ingreso de plaguicidas al cuerpo humano: la vía dérmica, la vía oral y la vía respiratoria.



Figura 4.2: Movilización en el ambiente de plaguicidas y vías de absorción.

Una vez liberado en el ambiente el plaguicida se moviliza a través de los distintos medios físicos, el aire, el suelo y el agua. Las personas pueden exponerse a los plaguicidas mediante el contacto con estos medios ambientales y también en los hogares al respirar aire, beber agua o ingerir alimentos contaminados (Anderson y Meade 2014).

4.2.1 Exposición dérmica

Las formulaciones de plaguicidas varían ampliamente en sus propiedades fisicoquímicas y en su capacidad para ser absorbidas a través de la piel (Beard et al., 2014), lo que puede verse influenciado por la concentración y duración de la exposición, la presencia de otros materiales en la piel, la temperatura y la humedad y el uso de equipo de protección personal (Macfarlane et al., 2013). Se conocen tres estudios realizados con voluntarios sobre la absorción cutánea de clorpirifos: Nolan et al., 1984; Griffin et al., 2000; Meuling et al., 2005. En el último trabajo citado, se aplicaron dos dosis dérmicas únicas de clorpirifos en dos grupos de estudio (A y B), cada uno compuesto por tres voluntarios varones aparentemente sanos que dieron su consentimiento informado por escrito. Se aplicó una dilución de aproximadamente 0,5 ml de clorpirifos en etanol a un área de 100 cm² de la cara volar del antebrazo, lo que resultó en dosis de 5 mg (A) o 15 mg (B) de clorpirifos por sujeto de estudio. La duración de la exposición dérmica fue de 4 h, después de lo cual se lavó la fracción no absorbida. Los resultados indicaron que un aumento de la dosis dérmica en un área fija no aumenta la absorción, lo que sugiere que la tasa de penetración percutánea es constante. Por otra parte, la vida media de eliminación establecida en estas condiciones fue de 41 h y la eliminación de clorpirifos no se completó hasta las 120 h que duró el estudio, lo que sugiere que clorpirifos o sus metabolitos fueron retenidos por la piel y/o acumulados en el organismo (Belsey et al., 2011).

Los datos de absorción de plaguicidas a través de la piel normalmente están disponibles para el concentrado (líquido, polvo, gránulo) y para una dilución acuosa (1:10 a 1:1000 o más), dependiendo del formulado (Belsey et al., 2011). En general, las formas sólidas de pesticidas (Ej. polvos y gránulos) no se absorben tan fácilmente a través de la piel y otros tejidos corporales como las formulaciones líquidas. Sin embargo, el peligro de la absorción cutánea aumenta cuando los trabajadores manipulan (por ejemplo, mezclan) plaguicidas concentrados, que contienen un alto porcentaje de ingredientes activos. En nuestro país, el clorpirifos se expende como producto sólido, líquido, granulado, polvo o gránulos mojables, que pueden ser aplicados por equipos aéreos o terrestres.

La exposición cutánea es una de las rutas más comunes y efectivas a través de las cuales los aplicadores de plaguicidas están expuestos a los mismos (Anderson y Meade, 2014). La absorción dérmica puede ocurrir como resultado de una salpicadura, derrame o deriva del rocío, al mezclar, cargar, desechar y/o limpiar plaguicidas (Salvatore et al., 2008). Un estudio realizado en Egipto analizó la exposición dérmica e inhalatoria a clorpirifos en aplicadores, técnicos e ingenieros agrónomos luego de la aplicación a campo con mochila, y demostró que los aplicadores fueron los que recibieron la mayor carga del organofosforado, seguidos por los técnicos y con menor exposición los ingenieros, es decir, todos estaban expuestos. Se determinó también que el aporte porcentual de la absorción dérmica es más importante que la inhalatoria, representando más de un 94% de la absorción total, mientras que la inhalatoria representó entre un 3,9 y

6% del aporte total del clorpirifos absorbido (Fenske et al., 2012). Este trabajo concluye que los aplicadores corren mayor riesgo y que la utilización de ropa de protección química para la parte inferior del cuerpo reduciría en gran medida la exposición dérmica, especialmente para los aplicadores y otras personas que ingresan al campo. La utilización de calzado y guantes resistentes a los productos químicos reducen aún más dicha exposición. Otro elemento es el mantenimiento preventivo de rutina de los atomizadores de mochila, ya que permite reducir las fugas y contribuye a minimizar la exposición del aplicador. Además, el uso de trazadores fluorescentes en tanques de aspersion para la capacitación de los operarios es recomendable para lograr la comprensión del trabajador sobre el riesgo de la exposición dérmica al pesticida al permitirle su visualización (Fenske et al., 2012). El trabajo de Berenstein et al. (2017), estudió el impacto en operadores, transeúntes y residentes de la aplicación mecanizada de clorpirifos en un pequeño huerto de duraznos. La Exposición Dérmica Potencial (PDE) media de los trabajadores (conductores de tractores) fue de 30,8 mL/h, de pesticidas en el cuerpo. La etapa de mezcla y carga se mantuvo como la operación de mayor riesgo. La deriva de plaguicidas se midió experimentalmente, encontrando valores en el rango de 2,4% a 11,2% del plaguicida total aplicado. Utilizando valores experimentales de deriva, se calcularon los indicadores de riesgo (IR) de los espectadores (para una aplicación) y residentes (para 20 aplicaciones). Para los primeros, bajo las condiciones estudiadas, se consideró como distancia segura la de 48 m, mientras que para los residentes se comprobó que la distancia de 80 m no está libre de riesgo.

Otro estudio realizado en Australia analizó la exposición dérmica de aplicadores de clorpirifos para el control de insectos en casas particulares, y determinó que el clorpirifos atravesó la ropa de trabajo, con excepción de un operario que además de guantes de algodón utilizó guantes quirúrgicos sobre los mismos (Cattani et al., 2001). Esta hipótesis fue confirmada por Fenske et al. (2012), que concluyó en su trabajo que el equipo de protección debe consistir en ropa de protección química. Asimismo, se encontró que la ropa de trabajo es una fuente de contaminación frecuente de clorpirifos en el vehículo (Cattani et al., 2001) y una vía de movilización del plaguicida hacia los hogares.

Investigadores holandeses optimizaron el equipo de protección personal a utilizar por aplicadores de clorpirifos, colocando una máscara de rostro completo ajustado (tipo A900 ST) con un nuevo filtro A2/P2 y botas de seguridad a prueba de productos químicos, para evitar la exposición de los tobillos y la parte inferior de las piernas. Las botas deben colocarse debajo del overall. Los guantes protectores largos (MSA 40 cm), evitan la exposición de muñecas y antebrazos, especialmente durante el trabajo por encima de la cabeza y una capucha de Tyvek mejora la protección de la cabeza y el cuello. Este estudio sugiere que un programa de equipo de protección personal (EPP) personalizado, es decir, un respirador ajustado, botas, guantes, capucha y un video de instrucción, constituye una herramienta eficaz para proteger a los aplicadores contra la exposición a clorpirifos u otros plaguicidas. El ajuste de los respiradores mejora sustancialmente en

comparación con la línea de base, y la exposición dérmica real se reduce claramente después de la intervención del EPP (van der Jagt et al., 2004).

Ha sido reportado que la exposición producida por vía de inhalación y vía cutánea, con una duración intermedia a una cantidad indeterminada de clorpirifos provocó un aumento no especificado del lagrimeo en un exterminador masculino de 40 años expuesto repetidamente a Dursban® durante un período de 6 meses (Kaplan et al., 1993). La exposición por inhalación de duración intermedia a cantidades indeterminadas de clorpirifos en humanos se evaluó en una encuesta de aplicadores que trabajan en una variedad de entornos (Ames et al., 1989). Se asumió que la exposición se produjo por vía de inhalación y vía cutánea. Los aplicadores informaron un aumento no especificado de la visión borrosa.

También se encuentra disponible en la bibliografía un caso reportado de un carpintero de 61 años que roció un nido de termitas con un insecticida conteniendo clorpirifos sin equipo de protección y experimentó contacto dérmico directo en manos, antebrazos, pies y pantorrillas, y contacto inhalatorio. Después de 30 minutos, manifestó náuseas abdominales, debilidad de brazos y piernas, dolor bilateral en hombros, dolor en el pecho y entumecimiento en la mano y el brazo izquierdos. Los estudios documentaron una neuropatía periférica generalizada. El operario expuesto recibió tratamiento, pero no recuperó el uso de sus manos y quedó incapacitado para trabajar como carpintero. Este trabajo indica que la exposición sin equipo de protección por vía dérmica de manos y pies al clorpirifos se asocia con atrofia y parálisis permanente de las áreas expuestas (Meggs, 2003).

El uso de EPP es muchas veces una utopía en países donde la aplicación de plaguicidas coincide con la época de altas temperaturas, y en condiciones climáticas cálidas y húmedas (Atabila et al., 2017). Además, en estas condiciones los aplicadores sudan fácilmente, lo que puede favorecer la absorción dérmica de los mismos (Blanco et al., 2005; Atabila et al., 2017). En el trabajo realizado por Ataliba et. al, 2017 se determinó que los niveles de exposición al clorpirifos entre los aplicadores en plantaciones de algodón, fueron influenciados significativamente por la cantidad de insecticida aplicado y la altura de los cultivos pulverizados. A mayor altura de los cultivos, hay mayores niveles de exposición al clorpirifos (Gao et al., 2014; Atabila et al., 2017). En este sentido, el tiempo de vuelo de los plaguicidas en el aire se correlaciona positivamente con la altura de pulverización, y las condiciones climáticas son factores que también afectan dicho tiempo de vuelo (velocidad y dirección del viento, humedad relativa y temperatura). El EPP, tipo y tamaño del cultivo también influyen en la exposición (Hughes et al., 2008; Choi et al., 2013). A medida que los manipuladores de plaguicidas caminan bajo la nube de plaguicidas, estos caerán gradualmente sobre el personal, los cultivos o el suelo. Por lo tanto, la altura de pulverización de los plaguicidas tiene una correlación positiva con la exposición ocupacional. El trabajo realizado por Li et. al, 2019, comparó el nivel de exposición de los aplicadores de clorpirifos, cuando el mismo es rociado en tres direcciones utilizando una mochila de palanca (Li et al., 2019). Se rociaron cultivos con tres alturas y direcciones: menos de 80 cm, pulverizando hacia abajo;

80-130 cm, pulverizando horizontalmente; y más de 130 cm, pulverizando hacia arriba. Mediante dosimetría de cuerpo entero y un muestreador de aire personal se determinó la exposición dérmica y por inhalación en estos aplicadores. La exposición dérmica estimada de las tres direcciones de pulverización fue de 629, 1580 y 2140 mg/kg, respectivamente, demostrando que el nivel de exposición dérmica total aumenta con la dirección de pulverización de abajo hacia arriba (Li et al., 2019).

Además de la exposición dérmica ocupacional a plaguicidas, la exposición de niños por contacto dérmico ha sido motivo de preocupación. En comparación con los adultos, los niños pequeños son más susceptibles a la exposición a plaguicidas debido a sus actividades propias y características fisiológicas. Con más frecuencia, se muerden las manos, se llevan objetos a la boca y pasan más tiempo jugando y gateando por el suelo, lo que puede conducir a una mayor exposición no alimentaria a contaminantes (Lewis et al., 1994; Goldman, 1998; Tolve et al., 2002). Fisiológicamente, son más susceptibles a los efectos adversos para la salud debido a que sus órganos se encuentran en etapa de desarrollo, sus sistemas nervioso e inmunológico son inmaduros, su peso corporal es bajo, igual que sus niveles de esfuerzo (Milsap y Jusko, 1994).

El uso residencial de plaguicidas neurotóxicos como el clorpirifos ha sido tema de debate y de estudio por un largo período de tiempo en la comunidad científica. En el trabajo realizado por Fenske y colaboradores en 1990, ya se alertaba sobre las dosis peligrosas de clorpirifos recibidas en el interior de su hogar por los niños (Fenske et al., 1990). Este trabajo y otros contribuyeron a que, en el año 2000, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA) restringiera el uso de clorpirifos para casi todos los usos residenciales y para otros usos similares donde los niños pueden entrar en contacto con residuos de clorpirifos, como escuelas, parques y guarderías (US EPA, 1997; US EPA, 2000). Los minoristas dejaron de vender formulaciones comerciales de clorpirifos para los usos anteriores a fines del 2001 (US EPA, 2000). Sin embargo, sigue existiendo riesgo para la exposición de los niños en los hogares. Los hijos de los trabajadores agrícolas pueden tener niveles más altos de plaguicidas en sus entornos residenciales en comparación con los niños de familias no agrícolas, lo que puede deberse a la deriva del aerosol o la contaminación ocupacional que se lleva a casa en la ropa, los zapatos o la piel (Simcox et al., 1995; Bradman et al., 1997, 2007; Fenske, 1997; Eskenazi et al., 1999; Fenske et al., 2000, 2002; McCauley et al., 2001; Curl et al., 2002; Lambert et al., 2005; Arcury et al., 2006; Petchuay et al., 2006). En un estudio realizado en el Valle de Salinas, California, EEUU, se determinó que las vías de exposición más importantes no-dietarias de clorpirifos en niños que viven en zonas rurales, es la vía dermal y la vía oral por ingestión no dietaria (Eskenazi et al., 1999).

4.2.2 Exposición respiratoria

Debido a la presencia de componentes volátiles en los plaguicidas, su potencial de exposición respiratoria es grande (Amaral, 2014). A la volatilidad intrínseca del clorpirifos, se suman problemáticas

asociadas a su forma de uso y aplicación, que favorecen la exposición por esta vía. En este sentido, la deriva y la volatilización de la pulverización seguidas del transporte en la fase de vapor son rutas potenciales para la dispersión de plaguicidas por el aire (Figura 4.3).

La deriva de la pulverización es el movimiento a favor del viento de las gotas de pulverización más allá del área tratada en el momento de la aplicación, o poco después (Felsot et al., 2011). La deriva se encuentra influenciada por la boquilla y la presión operativa del equipo, la altura de la barra de pulverización y las condiciones climáticas en el momento de la aplicación del plaguicida (Hofman y Solseng, 2001). Una vez que se completa una aplicación, la volatilización seguida por el transporte en la fase de vapor puede ser una vía importante para la emisión de plaguicidas desde el suelo tratado y las superficies de las plantas, representando en un extremo hasta el 90% de la dosis aplicada durante un período de unos pocos días a varias semanas (Bedos et al., 2002; Lichiheb et al., 2016). Asimismo, existen reportes indicando que el clorpirifos se degrada en el medio ambiente a clorpirifos-oxon, un derivado que puede ser 10 a 1000 veces más tóxico que el propio clorpirifos y es el responsable de los síntomas de neurotoxicidad colinérgica aguda (Flaskos, 2012; Armstrong et al., 2013). En el trabajo realizado por Mackay et al., 2014, se analizaron trabajos que habían medido concentraciones detectables de clorpirifos en el aire, lluvia, nieve y otros medios ambientales en EEUU, a distancias considerables de posibles fuentes agrícolas. Estos autores desarrollaron un modelo de balance de masa simple para cuantificar concentraciones probables en ubicaciones que van desde sitios de aplicación locales hasta ubicaciones más remotas a cientos de kilómetros de distancia. Se determinó que la distancia de viaje característica, a la que el 63% de la masa original de clorpirifos volatilizado se degrada o se deposita, es de aproximadamente 62 km (Mackay et al., 2014).

En un trabajo realizado en Nueva Zelanda se aplicó clorpirifos con brazo de pulverización montado en un camión y se determinó la presencia de clorpirifos en todas las matrices de campo cercano (hoja, suelo y aire) hasta 21 días después de la aplicación. También se detectó clorpirifos-oxon en muestras de aire de campo cercano durante los primeros tres días después de la pulverización. Este estudio concluyó que una vez aplicado a campo el clorpirifos puede alcanzar a 500 m de distancia, concentraciones que sobrepasan los niveles seguros de exposición al contaminante para la exposición humana en los días 0 a 2 (Das et al., 2020).

Un estudio realizado en la zona de la Araucanía en Chile demostró la presencia de clorpirifos en el aire. Se observaron fluctuaciones estacionales que mostraron altas concentraciones durante los períodos de siembra. El análisis de la trayectoria de las masas de aire sugiere que su retorno, principalmente proveniente de las áreas agrícolas circundantes, podría haber contribuido a los altos niveles registrados en este período (Pozo et al., 2016). En forma similar en la provincia de Guangzhou, en China, se observó variación estacional en las detecciones de clorpirifos en el aire, aumentando las concentraciones atmosféricas en primavera, alcanzando valores máximos en verano u otoño para luego disminuir en invierno (Li et al., 2014).

Otros estudios también han informado concentraciones máximas de plaguicidas en la atmósfera en verano, estación que coincide con la aplicación relativamente mayor de plaguicidas (Peck y Hornbuckle, 2005; Coscollà et al., 2010). Asimismo, existen reportes que documentan la presencia de clorpirifos atmosférico en distintas partes del mundo: en Costa Rica (Gouin et al., 2008); en Canadá (Yao et al., 2008; Hayward et al., 2010); en China (Li et al., 2014); en Iowa, EEUU (Peck y Hornbuckle, 2005); en Francia (Coscollà et al., 2010); en Japón (Kawahara et al., 2005); en California, EEUU (Rudel et al., 2010); y en Italia (Estellano et al., 2015), entre otros. Los valores de concentración de clorpirifos se muestran en la Tabla 4.1.



Figura 4.3: Esquema simplificado de la movilización del plaguicida en el ambiente

Una vez liberado al ambiente, el clorpirifos no permanece estático en el cultivo, sino que se moviliza por las matrices ambientales. En el caso del aire, el clorpirifos se volatiliza y absorbido al polvo, se moviliza a través del aire en concentraciones peligrosas para la salud humana hasta 500 m (Das S et al., 2020).

En algunos entornos especiales, como el interior de invernaderos o edificios de almacenamiento donde se mezclan y cargan los plaguicidas, la exposición por inhalación puede ser más importante debido a un mayor confinamiento en comparación con la situación al aire libre. Se reconoce que la exposición respiratoria a plaguicidas puede ser significativa si se aplica en espacios reducidos, por ejemplo, un área de almacenamiento sin ventilación como silos o invernaderos. Aprea et al. (1997), informaron que la dosis respiratoria de los trabajadores durante la formulación industrial fue varias veces mayor que la contaminación de la piel, dependiendo de sus tareas. Dowling y Seiber (2002) enfatizaron la importancia de la exposición respiratoria a plaguicidas entre las poblaciones agrícolas. Su estudio identificó algunas actividades de alto riesgo donde las exposiciones respiratorias son importantes, incluida la manipulación de plaguicidas líquidos volátiles para mezcladores y cargadores, aplicación de barreras de vía elevadas y aplicaciones de invernadero (Kim et al., 2014). Además, con el aumento de la temperatura, los niveles de

vapor de muchos plaguicidas aumentan haciendo más críticas tales exposiciones. Por tal razón, se recomienda que los plaguicidas no se apliquen a temperaturas del aire superiores a los 30°C (US EPA, 2007). Asimismo, debido a las temperaturas que existen en los invernaderos, los trabajadores están acostumbrados a operar en los días calurosos usando pantalones cortos y sin camisa, por lo que además de la vía respiratoria también participa la vía dérmica como lugar de ingreso de los plaguicidas utilizados (Caffarelli et al., 2004).

Tabla 4.1 Niveles reportados de clorpirifos en el aire de distintos países en el transcurso de 2005-2016

País	Valor	Referencia
Canadá	<LD-170.000 pg/m ³	(Yao et al., 2008)
Canadá	6,7-121 pg/m ³	(Hayward et al., 2010)
Chile	20-14.600 pg/m ³	(Pozo et al., 2016)
China	72,7-1901 pg/m ³	(Li et al., 2014)
Costa Rica	144-1.246 pg/m ³	(Gouin et al., 2008)
Estados Unidos, California	<LD-860 pg/m ³	(Rudel et al., 2010)
Estados Unidos, Iowa	<LD-2.000 pg/m ³	(Peck y Hornbuckle, 2005)
Francia	170-380 pg/m ³	(Coscollà et al., 2010)
Italia	3-580 pg/m ³	(Estellano et al., 2015)
Japón	<LD-5.000 pg/m ³	(Kawahara et al., 2005)

LD: Límite de detección de la técnica utilizada.

En los últimos años ha surgido también la preocupación sobre la calidad del aire en el interior de los hogares. Según Wang X. et al. (2019), los ambientes interiores representan una fuente importante de exposición humana a sustancias químicas orgánicas por dos razones: i) las personas suelen pasar del 70 al 90% de su tiempo en sus hogares y oficinas (Schweizer et al., 2007; Lucattini et al., 2018); y ii) hay una amplia gama de productos químicos orgánicos que son utilizados, producidos e introducidos en ambientes interiores. La presencia de clorpirifos en el ambiente interno refleja sus principales patrones de uso, por ejemplo, como ingredientes activos en productos de control de plagas que se rocían sobre el piso y las superficies inferiores de las paredes, después de lo cual por su afinidad con el polvo permanecen en el ambiente interior (Wang et al., 2019). Esta presencia de contaminantes en el ambiente interior puede resultar en una posible exposición crónica por inhalación, ingestión de polvo y/o contacto dérmico (Weschler y Nazaroff, 2008). En un estudio realizado en Australia, por Wang X. et al. (2019), se comprobó la presencia de clorpirifos en el 90% de los ambientes interiores estudiados, tanto en el polvo como en el aire interior. En

este estudio se estimó que el contacto con el polvo y la ingestión contribuyeron con un 80% de la suma de la ingesta diaria estimada (en pg/kg de peso corporal/día), tanto para adultos como para niños pequeños. En el trabajo realizado por Butler-Dawson et al. (2018), se estudiaron 278 hogares en una comunidad agrícola ubicada en el noroeste del Pacífico, Estados Unidos, entre 2008 y 2011. Se midieron concentraciones de diferentes plaguicidas organofosforados incluido clorpirifos, en el polvo de las alfombras de las viviendas, y se analizaron los factores que afectan estas concentraciones. Los resultados indicaron que las frecuencias y concentraciones de detección de los plaguicidas organofosforados fueron más altas en los hogares donde al menos un residente trabajaba en la actividad agrícola, en comparación con los hogares donde no había relación laboral. Los factores asociados con las mayores concentraciones fueron: (i) hogares con dos o más trabajadores agrícolas viviendo en el hogar; (ii) hogares ubicados en las proximidades de un campo agrícola o huerto, entre otras. Si bien el uso de clorpirifos está restringido o limitado para uso residencial en EEUU, los resultados muestran que todavía se lo encuentra presente en el ambiente interior (Butler-Dawson et al., 2018). En línea con este estudio, se encuentra el trabajo realizado por Morgan et al. (2014), quienes determinaron la exposición a múltiples plaguicidas, incluido el clorpirifos, en hogares y guarderías en el estado de Carolina del Norte, EEUU; las vías de exposición fueron a través de la ingestión dietética, la ingestión no dietética y la vía inhalatoria. En otro trabajo realizado en el estado de California, EEUU, por Gunier et al., 2011, se recolectaron muestras de alfombras en hogares que se encontraban hasta 1250 m de distancia de cultivos agrícolas, en las que se analizaron una variedad de plaguicidas. Las concentraciones de clorpirifos fueron más altas en residencias cercanas a lugares con uso de plaguicidas agrícolas. En general, el uso estimado de plaguicidas agrícolas dentro de un radio de 1250 m de las residencias se correlacionó fuertemente con las concentraciones de plaguicidas en el polvo de la alfombra (Gunier et al., 2011). Otros estudios anteriores encontraron que las concentraciones de plaguicidas en el polvo de las alfombras eran más altas en las residencias dentro de los 60 m de un huerto en comparación con las residencias más alejadas (; Simcox et al., 1995; Lu et al., 2000; Fenske et al., 2002) y en comparación entre hogares no agrícolas y agrícolas (Curwin et al., 2005; Obendorf et al., 2006). Otro análisis de muestras de polvo doméstico de Salinas, California, encontró que las concentraciones de clorpirifos fueron 83% más altas en asociación con un aumento de 1 kg en el uso informado durante los 30-180 días anteriores dentro de un área de 23 km² de la residencia (Harnly et al., 2009).

En conjunto, estos trabajos indican que el uso hogareño de clorpirifos, el ingreso a los hogares con ropa y zapatos contaminados, así como la cercanía a cultivos tratados con el mismo, influyen en los niveles domésticos de clorpirifos y por ende favorecen la exposición residencial de todo el grupo familiar.

4.2.3 Exposición oral

La exposición oral a un plaguicida puede ocurrir en distintos escenarios. La exposición oral a altas dosis puede surgir de forma accidental por descuido o por motivos intencionales (Damalas y Eleftherohorinos, 2011). Se informó que los casos más frecuentes de exposición oral accidental ocurrieron cuando los plaguicidas se transfirieron de su envase original etiquetado a una botella o recipiente de alimentos sin etiquetar (Gilden et al., 2010). Hay muchos casos en los que las personas se han intoxicado por beber pesticidas guardados en botellas de refrescos o después de beber agua almacenada en botellas contaminadas con plaguicidas (US EPA, 2007). Los trabajadores que manipulan pesticidas o equipos para su aplicación también pueden consumir plaguicidas si no se lavan las manos antes de comer o fumar (US EPA, 2007). En consecuencia, los aplicadores deben recibir instrucciones cuidadosas sobre el manejo de plaguicidas, por ejemplo, no limpiar una línea de rociado o boquilla soplándole por la boca, no rellenar envases de bebidas alimenticias con plaguicidas, y no fumar, beber o ingerir alimentos, cuando se estén manipulando estas sustancias.

Como el clorpirifos se usa comúnmente para aplicaciones agrícolas, el plaguicida persiste en forma de residuos en los productos alimenticios, ya sea como clorpirifos o en formas residuales como 3,5,6-tricloro-2-piridinol-TCP (Han et al., 2009). De esta forma, los seres humanos se pueden exponer a trazas de clorpirifos que están presentes en los alimentos integrales o aparecen en varios productos alimenticios procesados. Se cree que las fuentes dietéticas son la principal causa de exposición no ocupacional al clorpirifos en humanos. Además de las plantas, el ganado también puede servir como una fuente importante de exposición al clorpirifos para los seres humanos. La vía oral probablemente representa la fuente de más del 90% de los metabolitos de clorpirifos encontrados en la población general (Egeghy et al., 2011).

En el informe del estado de California, EEUU, sobre el riesgo asociado al consumo de agua y alimentos con residuos de clorpirifos, se identificó que los niños de 1 a 2 años de edad recibieron la exposición más alta de los alimentos en el percentil 99,9 en escenarios de exposición aguda (0,423 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) y de estado estacionario (0,242 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$). En este informe se calculó también la exposición a clorpirifos en agua potable en base a los residuos de los programas de aguas superficiales y subterráneas. Los infantes menores a 1 año fueron identificados como la subpoblación más altamente expuesta. En cuanto a los residuos de clorpirifos en alimentos, este informe determinó que se detectan con frecuencia en cultivos que carecen de tolerancia a este insecticida, probablemente como resultado de aplicaciones ilegales en estos cultivos, la deriva de las aplicaciones a los campos cercanos o los residuos del suelo que quedan de las aplicaciones a un cultivo anterior en el mismo campo. De 2008 a 2012, el programa de datos de plaguicidas de Estados Unidos (PDP) detectó residuos de clorpirifos ilegales en bagre, cilantro, tomates cherry, cebollas verdes, espinacas y otros cinco cultivos. De 2015 a 2017, el Programa de Monitoreo de Residuos de Pesticidas de California (CPRMP) del Departamento de regulación de plaguicidas de California (DPR) tuvo 280 detecciones de clorpirifos de

más de 3602 muestras analizadas, de las cuales un total de 58 detecciones fueron ilegales. La US EPA establece el límite legal (tolerancia) para la cantidad de residuos de pesticidas permitidos en los alimentos. A lo largo de los años, el programa de monitoreo de residuos del DPR ha detectado residuos de clorpirifos ilegales en varios productos, la mayoría de los cuales fueron importados. La División de Cumplimiento del DPR hace cumplir las tolerancias de la US EPA. Cuando se determina que un residuo de plaguicida es ilegal en virtud de (a) su presencia en un producto para el cual no existe una tolerancia establecida; o (b) su nivel excede la tolerancia establecida, se lleva a cabo una evaluación de exposición dietaria especial para determinar si existe un riesgo agudo para la salud por el consumo de ese lote. Los resultados luego se comunican a la Subdirección de Ejecución, que tiene la autoridad para retirar los productos afectados de los canales de comercio (California DPR, 2018).

La estimación de la exposición aguda y crónica de niños y adultos al clorpirifos en frutas y verduras según datos de estudios realizados en ocho países orientales, muestran que el TCP (metabolito de clorpirifos y clorpirifos-metilo) fue uno de los principales metabolitos encontrados, especialmente en India (72%), China (69%) y Grecia (66%). Se examinaron las diferencias en las concentraciones de plaguicidas en orina entre géneros (hombres frente a mujeres), grupos de edad (categorizados como ≤ 20 , 21-49 y ≥ 50 años) y ciudades (Guangzhou, Shanghai y Qiqihar). Sobre la base de las concentraciones medidas en la orina, se estimaron las ingestas diarias totales (ID) de plaguicidas. Se encontró que estas ingestas diarias eran mayores en Vietnam, Grecia, India, China y Corea ($\geq 9,6$ $\mu\text{g}/\text{día}$) que las estimadas para los otros países (< 5 $\mu\text{g}/\text{día}$). El trabajo de Li y Kannan (2018) fue uno de los primeros en establecer niveles de referencia de exposición a pesticidas en varios países asiáticos. Otro trabajo llevado a cabo en Polonia informa la presencia de clorpirifos en frutas y hortalizas durante los años 2007-2016. El límite máximo de residuos (LMR) se superó en el 2,9% de todas las muestras. La exposición para casos incidentales en lactantes y niños pequeños estuvo por encima del 100% de sus respectivas Dosis de Referencia Aguda (ARfD) en: col blanca (263,65% y 108,24%), brócoli (216,80% y 194,72%) y manzanas (153,20% y 167,70%) (Mojsak et al., 2018).

La Unión Europea ha establecido un marco legislativo integral para aprobar los productos químicos utilizados en cultivos y para establecer niveles de residuos de plaguicidas que sean aceptables en los alimentos. Los datos toxicológicos recientemente disponibles llevaron a la disminución de valores de referencia para clorpirifos que fueron establecidos por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA 2014), IDA 0,001 mg/kg/día y DRA de 0,005 mg/kg. Según la Comisión Europea (UE) Reglamento No. 2016/60, los valores de LMR también se redujeron a 0,01 mg/kg para muchos productos: de 0,05 a 0,01 mg/kg en manzanas, peras, moras, de 0,1 a 0,01 mg/kg en zanahorias y de 1,00 a 0,01 mg/kg en grosellas.

4.3 Proximidad a los sitios de aplicación

Existe creciente consenso y evidencia científica que indica que las familias que residen cerca de plantaciones agrícolas están más expuestas a los plaguicidas que la población en general (Lu et al., 2000; Curwin et al., 2007a; Hyland y Laribi, 2017).

La Unión Europea utiliza un modelo de evaluación de riesgo para residentes que viven a 8 m a favor del viento en los cultivos de huerta (European Food Safety Authority, 2014); considerando las siguientes rutas de exposición: (i) la deriva de la pulverización que provoca una exposición directa a través de la penetración dérmica e inhalación; (ii) la deriva de la pulverización que provoca depósitos en el suelo y otras superficies, que provocan a su vez una exposición dérmica; (iii) dispersión de vapor que conduce a la inhalación de plaguicidas en el aire, después de la volatilización de los residuos en el suelo y/o el cultivo tratado; y (iv) la entrada a cultivos tratados provocando exposición por contacto directo con residuos superficiales.

La exposición en los hogares en cercanía a los campos cultivados se explica en parte por la vía “*take-home*” o para-ocupacional, ya que muchos padres y madres trabajan en los cultivos, y además por la inhalación del aire exterior, la contaminación del polvo doméstico, las mascotas, la ingestión de agua subterránea contaminada, la recreación en el campo y la alimentación. La vía para-ocupacional ocurre cuando los padres y las madres agricultores introducen inadvertidamente plaguicidas en el hogar en su ropa y zapatos, que pueden depositarse en el polvo y en las superficies, también pueden depositar plaguicidas directamente sobre sus hijos si interactúan con los niños con la ropa de trabajo o antes de higienizarse al ingresar al hogar.

Deziel et al. (2015), realizaron una revisión de los estudios de exposición en ambientes agrícolas de Estados Unidos y encontraron que el aumento de las concentraciones de plaguicidas en el polvo doméstico se asociaba con: (i) el traslado del plaguicida a los hogares desde distancias más cercanas entre las casas y los campos tratados (vía de deriva agrícola), (ii) con el trabajo agrícola de uno o más residentes (vía para-ocupacional) y (iii) un mayor uso residencial de plaguicidas para combatir insectos y malezas en el hogar y el jardín. En un trabajo más reciente, Deziel et al. (2017) reafirman las apreciaciones anteriores y señalan que las concentraciones de plaguicidas en el polvo doméstico disminuyen rápidamente con el aumento de la distancia al campo de cultivo, son 2,3 veces más altas en hogares donde un residente tiene un trabajo que implica alto uso de plaguicidas versus bajo uso y son 1,3 veces más altas en hogares donde se aplicaron plaguicidas en el hogar, el jardín o el patio.

En un trabajo realizado en la primavera y el verano de 2001, se reclutaron 47 padres, 48 madres y 117 niños de hogares agrícolas y no agrícolas de Iowa, EEUU, para participar en un estudio que investigaba la exposición a plaguicidas. Los metabolitos urinarios del clorpirifos fueron significativamente más altos en los padres de la granja y marginalmente más altos en las madres agricultoras, en comparación con los padres

y madres no agricultores (Curwin et al., 2007b). La concentración de metabolitos urinarios se asoció positivamente con la concentración de polvo de plaguicidas en los hogares. Los miembros de familias de agricultores generalmente tenían niveles más altos en orina de los plaguicidas atrazina, metolaclor y clorpirifos que los miembros de familias de no agricultores. En otro trabajo con una cohorte de niños residentes rurales (n=66) y no residentes rurales (n=52) en el mismo estado norteamericano, se estimaron las dosis internas en hijos de agricultores y no agricultores para cuatro pesticidas: atrazina, metolaclor, clorpirifos y glifosato; estas dosis obtenidas se compararon con los valores de referencia de la US EPA para cada plaguicida (Curwin et al., 2007a). Las dosis fueron más altas para los niños de padres agricultores que para los hijos de no agricultores. Todas las estimaciones de dosis para clorpirifos fueron preocupantes y superaron la dosis de referencia crónica ajustada a niños de la US EPA. La dosis más baja estimada de clorpirifos fue de 0,24 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$, en comparación con la dosis de referencia dietaria (RfD) crónica de 0,03 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ (Curwin et al., 2007a). La RfD de la US EPA para clorpirifos en niños, de 0,03 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$, se basa en un nivel de efecto adverso no observable (NOAEL) oral de 0,03 $\text{mg}/\text{kg}/\text{día}$ para una inhibición significativa de la enzima colinesterasa en plasma y glóbulos rojos de 0,22 a 0,3 $\text{mg}/\text{kg}/\text{día}$, aplicando un factor de incertidumbre de 100 (10X para la extrapolación entre especies y 10X para la variabilidad inter especies) a los NOAEL y un factor de seguridad adicional de 10 para todos los niños y mujeres entre 13 y 50 años, ambos considerados subpoblaciones sensibles (US EPA, 2000). La dosis de referencia crónica es un valor numérico de dosis por peso y día, que indica un nivel de exposición segura para la población en este caso los niños, y es la cantidad de sustancia a la que puede estar expuesta una persona todos los días durante toda la vida sin sufrir un efecto adverso en la salud.

Otro trabajo realizado en niños por Fenske et al. (2002), estudió la presencia de clorpirifos en el hogar y en orina de niños menores de 6 años residentes en una comunidad agrícola del centro de Washington, Estados Unidos. En este estudio participaron familias rurales que tenían al menos un miembro de la familia empleado como aplicador de huerto o trabajador agrícola, y también familias no rurales o de referencia que eran aquellas en las que el trabajo de ningún miembro de la familia implicaba contacto con plaguicidas y cuyas residencias estaban ubicadas a más de 400 m de cualquier huerto tratado con plaguicidas. El clorpirifos se pudo medir en el polvo doméstico de todos los hogares, siendo las concentraciones medias de clorpirifos en el polvo doméstico más altas para las 49 casas donde vivían padres que aplicaban plaguicidas (0,4 $\mu\text{g}/\text{g}$), seguidas de las 12 casas de trabajadores agrícolas (0,3 $\mu\text{g}/\text{g}$) y las 14 casas de referencia no agrícolas (0,1 $\mu\text{g}/\text{g}$). Las casas en las proximidades (60 m) de tierras agrícolas tratadas con plaguicidas tenían concentraciones más altas de clorpirifos que las casas más alejadas, pero este efecto no se reflejó en los metabolitos urinarios (Fenske et al., 2002). En forma similar, el trabajo de Butler Dawson et al. (2016) demostró mayores niveles de clorpirifos en el polvo de hogares de trabajadores rurales en comparación con

hogares de trabajadores no rurales, aunque el plaguicida fue detectado en ambos con una frecuencia promedio del 90% para hogares rurales y del 79% para no rurales.

Para demostrar que existe una relación entre la proximidad residencial a las aplicaciones de plaguicidas con la exposición a los mismos, un trabajo recolectó muestras de polvo de alfombras, en las cuales se midieron las concentraciones de siete plaguicidas, incluido clorpirifos y se mapearon cultivos en un radio de 1.250 m de 89 residencias en California, Estados Unidos. Se estimó el uso agrícola de los plaguicidas a partir de una base de datos estatal y se la vinculó con mapas de cultivos, lo que permitió el cálculo de la densidad de uso de plaguicidas dentro de 500 y 1.250 m de las residencias (Gunier et al., 2011). Las concentraciones de clorpirifos fueron más altas en residencias cercanas a sitios con uso de pesticidas agrícolas comparadas con residencias sin uso agrícola cercano. La correlación más importante encontrada con las concentraciones de plaguicidas fue el uso de los mismos dentro de los 1.250 m de la residencia. Este trabajo concluye que el uso de plaguicidas cerca de las residencias fue un determinante significativo de las concentraciones halladas en el polvo de las alfombras para cinco de los siete pesticidas evaluados (Gunier et al., 2011).

En un estudio más completo, se analizaron en forma simultánea mediante un método de muestreo pasivo las concentraciones de aire exterior, las concentraciones de aire interior y la deposición superficial de plaguicidas organofosforados y sus análogos oxigenados en un entorno residencial. Se estudiaron 14 hogares de trabajadores agrícolas y 9 hogares no agrícolas en una región rural del centro del estado de Washington, EEUU, en el año 2011. Las concentraciones de plaguicidas en el aire exterior e interior del hogar fueron más altas para los hogares en las proximidades de los campos de árboles frutales y los hogares con trabajadores agrícolas que las concentraciones al aire libre en los hogares más lejanos a los campos cultivados y en los hogares donde no vivían trabajadores rurales (Gibbs et al., 2017).

En una revisión de trabajos publicados que evaluaron la exposición a través de la vía para-ocupacional o “take-home” de niños de 0 a 16 años residentes en ambientes rurales (Hyland y Laribi, 2017), se encontró que:

- 1) Los residuos de plaguicidas en el polvo doméstico y/o los niveles de metabolitos en la orina pueden aumentar a medida que aumenta el número de trabajadores agrícolas que viven en una casa.
- 2) Los niveles de metabolitos pueden ser más altos en los trabajadores agrícolas y sus hijos durante los meses de fumigación, en comparación con los meses sin fumigación.
- 3) Los niños pequeños pueden tener niveles de metabolitos más altos que otros grupos de edad similar de ambientes no rurales.

- 4) La participación en tareas agrícolas específicas como trabajar con frutas de pepita, puede aumentar la exposición a plaguicidas tanto para los trabajadores agrícolas como para sus hijos.

En nuestro país, la presencia de clorpirifos en el ambiente interno de los hogares fue determinada en la provincia de Córdoba, en la localidad agrícola de Las Higueras. En un trabajo realizado en 2020, se determinó la presencia de clorpirifos en concentraciones entre 2 a 6.193,7 pg/m³ en el material particulado de los hogares rurales estudiados (Tames et al., 2020). Las principales actividades económicas de esta zona son la agricultura extensiva y la ganadería, además de pocas industrias relacionadas con las actividades agrícolas.

En el país también existen estudios que evalúan la exposición de mujeres embarazadas y niños que residen en pueblos rurales con una intensiva producción frutihortícola, donde los esquemas fitosanitarios han estado caracterizados por el uso masivo de insecticidas organofosforados durante las últimas décadas (Figura 4.4). Los trabajos realizados en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén demuestran que las madres y niños que residen en zonas rurales de cultivo intensivo de frutales muestran modificaciones en la actividad de colinesterasa, que es el marcador de exposición a los organofosforados. A lo largo de distintas campañas, se analizaron muestras de mujeres residentes en distintas zonas rurales de la provincia de Río Negro. En los años 2002-2003 se trabajó con una cohorte de muestras de 200 mujeres embarazadas que ingresaron al Hospital de la ciudad rionegrina de Cinco Saltos, y se estudió la actividad del biomarcador de exposición colinesterasa plasmática, el cual se encontró disminuido en un 18% en el período de aplicación de plaguicidas (octubre-febrero) respecto de los otros meses del año en los que no se aplican masivamente organofosforados (Souza et al., 2005). También se analizó la actividad de colinesterasa eritrocitaria y plasmática, previo a y durante la época de pulverización en 97 mujeres embarazadas de Allen, provincia Río Negro, y se determinó una inhibición significativa en la actividad de este biomarcador en época de aplicación de organofosforados (Cecchi et al., 2012). En otras cohortes estudiadas entre los años 2012-2015, se determinó la inhibición significativa del biomarcador de exposición en sangre de las madres embarazadas residentes en la ciudad de Cinco Saltos respecto de mujeres residentes en la ciudad capital de Neuquén que no informaron historia de exposición a plaguicidas (Rivero Osimani et al., 2016; Quintana et al., 2017). En otro trabajo, se reclutaron 50 mujeres con hijos e hijas de 3 a 5 años, de poblaciones cercanas a chacras frutícolas de la zona de Campo Grande en la provincia de Río Negro, analizando muestras de saliva antes y después del periodo de aplicación de fitosanitarios. La actividad de promedio colinesterasa de saliva en las madres y los niños y niñas disminuyó en un 65,7% ($p < 0,001$) y un 85,8% ($p < 0,001$), respectivamente, luego de las aplicaciones, indicando la exposición a plaguicidas organofosforados (Bulgaroni et al., 2012).



Figura 4.4 Imágenes representativas de residencias y escuelas próximas a los cultivos frutícolas, en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén

En las provincias de Misiones y Buenos Aires, se realizó un estudio descriptivo transversal con adolescentes en edad escolar (aproximadamente 12 años) de ambos sexos, en dos grupos de áreas rurales. En Montecarlo, Misiones, los residentes vivían a menos de 100 m de las plantaciones, reportándose el uso de glifosato, clorpirifos, 2,4-D y paraquat, y los adolescentes presentaron menores niveles de actividad de butirilcolinesterasa (Martínez-Perafán et al., 2018).

En conjunto, estos trabajos reconocen que las familias que residen en la cercanía a las plantaciones tienen un mayor riesgo de exposición a clorpirifos y están además expuestas a mayores niveles de plaguicidas que otras familias no residentes rurales.

4.4 Subpoblaciones vulnerables

Se reconocen distintas subpoblaciones más sensibles a la toxicidad de los químicos en general y a los plaguicidas en particular. Los niños y las mujeres entre 13 y 50 años son consideradas subpoblaciones sensibles por la US EPA (2000). Las diferencias relacionadas con la edad en la susceptibilidad a las sustancias químicas y la vulnerabilidad particular de los niños muy pequeños reflejan los delicados procesos que acompañan al desarrollo de los órganos y sistemas y la falta de madurez fisiológica, y se relacionan a las diferencias en el nivel de exposición por unidad de peso corporal, ya que los mismos tienen una mayor frecuencia respiratoria y pueden inhalar más contaminantes del aire por kilo de peso corporal que los adultos (Rauh, 2018).

En los seres humanos, los organofosforados se han detectado en el líquido amniótico (Bradman et al., 2003) ya que atraviesan la placenta y llegan al feto durante un período de rápido desarrollo cerebral

(Richardson, 1995; Whyatt et al., 2005). El período prenatal es un momento sensible cuando el cerebro en desarrollo es particularmente susceptible a las interrupciones producidas por los contaminantes químicos ambientales (Pelch et al., 2019). La exposición prenatal o neonatal a concentraciones bajas de clorpirifos puede afectar las funciones y la estructura del cerebro en desarrollo. Investigaciones de epidemiología humana demostraron que el nivel de exposición gestacional a clorpirifos de las madres se asocia con un menor coeficiente intelectual de sus hijos (Furlong et al., 2017). Además, otros estudios han demostrado que las madres con una alta exposición a plaguicidas pueden tener hijos con trastorno de déficit de atención e hiperactividad, trastorno generalizado del desarrollo y trastornos del espectro autista (Rauh et al., 2006; Eskenazi et al., 2007; Marks et al., 2010). Múltiples estudios, que abarcan diversas poblaciones tanto en entornos urbanos como agrícolas, han relacionado la exposición a organofosforados durante el desarrollo fetal con un desarrollo cognitivo, conductual y social más deficiente en los niños (Koureas et al., 2012; Muñoz-Quezada et al., 2013; González-Alzaga et al., 2014).

La exposición a organofosforados de mujeres embarazadas se ha determinado utilizando metabolitos urinarios como biomarcadores de exposición, y varios estudios han informado que la exposición materna prenatal a organofosforados se asoció con reflejos neonatales anormales (Young et al., 2005; Engel et al., 2007), déficits mentales, trastorno generalizado del desarrollo a los 2 años de vida (Eskenazi et al., 2007), y problemas de atención entre los 3,5 y 5 años (Marks et al., 2010). Se ha determinado la exposición a clorpirifos a partir de su detección en el plasma del cordón umbilical, encontrando una asociación entre los niveles más altos de clorpirifos prenatal (más de 6,17 pg/g) con menor peso y una longitud corporal al nacer (Whyatt et al., 2005), disminuciones de 3,5 a 6 puntos en las Escalas Bayley de Desarrollo Infantil, un riesgo 2 veces mayor de retraso mental (<80 puntos) y un riesgo 5 veces mayor de retraso motor (<80 puntos) en las Escalas de Bayley de Desarrollo Infantil de 3 años (Rauh et al., 2006), y un mayor número de problemas relacionados con la atención.

En una revisión realizada por Muñoz-Quesada et al. (2013) sobre 27 publicaciones que abordaban los efectos neurotóxicos de la exposición a organofosforados, 26 de ellas encontraron efectos adversos de la exposición a plaguicidas organofosforados sobre el desarrollo neurológico; las asociaciones más fuertes se produjeron después de exposiciones prenatales. Estos trabajos proporcionaron evidencia de que la exposición a plaguicidas organofosforados es un factor de riesgo de desarrollo neurológico deficiente, y que los efectos más fuertes se derivan de las exposiciones prenatales. Esta revisión incluyó estudios de exposición a plaguicidas organofosforados, como malatión, diazinon y clorpirifos. Dentro de los trabajos de exposición prenatal a clorpirifos y su asociación con efectos neurocognitivos desfavorables en humanos, se pueden mencionar los realizados en la cohorte CHAMACOS en California, EEUU, (Eskenazi et al., 2004, 2007, 2010; Marks et al., 2010) y los realizados en Columbia, Nueva York, EEUU (Whyatt et al., 2003, 2004, 2005, 2009; Rauh et al., 2006, 2011, 2012).

La cohorte CHAMACOS (por su siglas en inglés *Center for the Health Assessment of Mothers and Children of Salinas* - Centro para la Evaluación de la Salud de Madres y Niños de Salinas) fue un estudio de cohorte de nacimiento longitudinal de los efectos de los plaguicidas y otras exposiciones ambientales en el salud de las mujeres embarazadas y sus hijos que viven en el Valle de Salinas, dependiente del Centro para la Investigación de la Salud Ambiental de los Niños de la Universidad de California, Berkeley. En esta cohorte se investigaron los efectos de la exposición a plaguicidas organofosforados durante el embarazo sobre el crecimiento fetal y la duración de la gestación en una cohorte de mujeres latinas de bajos ingresos que viven en una comunidad agrícola en el Valle de Salinas, California. Se midieron metabolitos inespecíficos de organofosforados (dimetil y dietil fosfatos) y metabolitos específicos de malatión (ácido malatión dicarboxílico), clorpirifos [O, O-dietil O- (3,5,6-tricloro-2-piridinil) fosforotioato] y paratión (4-nitrofenol) en la orina materna recolectada dos veces durante el embarazo. Los autores reportaron una disminución en la duración gestacional, asociada con dos medidas de exposición intrauterina a plaguicidas, los metabolitos urinarios de dimetilfosfato, que reflejan la exposición a compuestos organofosforados de dimetilo. La reducción de la duración de la gestación estuvo más claramente relacionada con el aumento de los niveles de exposición en la última parte del embarazo. Estas asociaciones con la edad gestacional pueden ser biológicamente plausibles, dado que los pesticidas organofosforados deprimen la colinesterasa y la acetilcolina estimula la contracción del útero (Eskenazi et al., 2004). En esta cohorte, también se investigó la relación de los niveles de metabolitos urinarios de organofosforados prenatales e infantiles con el neurodesarrollo de los niños. Se analizaron seis metabolitos inespecíficos de dialquifosfato (DAP) en la orina materna e infantil, así como metabolitos específicos del malatión (MDA) y clorpirifos (TCP) en la orina materna. Se estudió su asociación con el rendimiento de los niños a los 6 (n=396), 12 (n=395) y 24 (n=372) meses de edad en las Escalas de Desarrollo Infantil de Bayley [índice de Desarrollo Mental (MDI) y Desarrollo Psicomotor (PDI)] y el informe de la madre sobre la Lista de verificación de conducta infantil (CBCL) (n=356). Este trabajo determinó que los niveles de DAP durante el embarazo se asociaron negativamente con el MDI, pero las medidas de los niños se asociaron positivamente, mientras que tanto los DAP prenatales como los posnatales se asociaron con el riesgo de trastorno generalizado del desarrollo. Se puede concluir que existe una asociación adversa entre los niveles de residuos de organofosforados -DAP prenatales con el desarrollo mental y problemas de desarrollo generalizados a los 24 meses de edad.

Por su parte, el trabajo realizado en Columbia fue un estudio de cohorte de nacimiento longitudinal de madres y niños de barrios marginales (Centro de Columbia para la Salud Ambiental Infantil). En esta cohorte se informó que la exposición prenatal al clorpirifos se asoció con problemas de desarrollo neurológico a los 3 años de edad (Rauh et al., 2006). Posteriormente, los autores del estudio estimaron la relación entre la exposición prenatal a clorpirifos y el desarrollo neurológico entre los niños de la cohorte a los 7 años de edad. Los resultados indicaron que, en promedio, por cada aumento de desviación estándar en

la exposición al clorpirifos (4,61 pg/g), el coeficiente intelectual (CI) de escala completa disminuyó en un 1,4% y la memoria de trabajo disminuyó en un 2,8%. Se encontraron déficits en el índice de memoria de trabajo y el coeficiente intelectual de escala completa en función de la exposición prenatal al clorpirifos a los 7 años de edad. Estos hallazgos son importantes a la luz del uso continuo y generalizado de clorpirifos en entornos agrícolas y las posibles implicaciones educativas a largo plazo de los déficits cognitivos tempranos (Rauh et al., 2011). En esta cohorte de niños expuestos prenatalmente, se investigó también si existía asociación entre la exposición a clorpirifos y la morfología cerebral mediante resonancia magnética en 40 niños, de 5,9 a 11,2 años. Se compararon 20 niños con alta exposición (tercio superior de las concentraciones de clorpirifos en la sangre del cordón umbilical) con 20 niños con baja exposición. La exposición alta a clorpirifos se asoció con agrandamiento de las circunvoluciones temporal superior, temporal medio posterior y poscentral inferior bilateralmente, y circunvolución frontal superior agrandada, circunvolución del recto, cuneo y precuneus a lo largo de la pared mesial del hemisferio derecho (Rauh et al., 2012).

La evidencia epidemiológica en humanos también ha sido comprobada por modelos experimentales. Por ejemplo, el tratamiento con clorpirifos a ratas durante la preñez induce anomalías de la alternancia espontánea y la actividad locomotora en la descendencia durante la adolescencia y la edad adulta (Levin et al., 2001, Levin et al., 2002). También ha sido reportado en modelos murinos que la exposición prenatal o posnatal a clorpirifos en dosis sub-tóxicas aumenta los errores de memoria de trabajo y de referencia, hiperactividad locomotora comportamientos similares a la ansiedad y depresión relacionada con la serotonina en la descendencia adulta (Icenogle et al., 2004; Aldridge et al., 2005a; Braquenier et al., 2010).

En conjunto, estos trabajos indican que la exposición prenatal o neonatal a plaguicidas organofosforados como clorpirifos pueden causar deficiencias en el cerebro en desarrollo, que duran mucho tiempo incluso después de cesar el contacto con plaguicidas. La alta incidencia de los trastornos del neurodesarrollo implica un gran desafío no solo para los sistemas de salud y educación, sino también para las familias de las personas con el diagnóstico, en términos tanto económicos como emocionales, lo que a su vez conlleva a otras afecciones de la salud en los convivientes, derivadas del estrés que rodea la vida cotidiana en dichos núcleos familiares.

4.5. Toxicidad aguda

4.5.1 Exposición aguda

Los efectos del clorpirifos en la salud humana dependen de la magnitud, tiempo y frecuencia de exposición y su efecto también depende de la salud de un individuo y de factores ambientales. El envenenamiento con clorpirifos puede ser accidental o intencional, siendo los casos accidentales y los suicidios los más comunes mientras que el envenenamiento homicida es raro. En la intoxicación aguda del

individuo, la acción tóxica del clorpirifos afecta principalmente al sistema nervioso central, al sistema cardiovascular y al sistema respiratorio de la persona intoxicada.

Se han determinado los límites máximos de residuos (LMR) de clorpirifos, basados en un estudio de Coulston et al. (1972) en el que a 16 voluntarios varones adultos humanos se les administró clorpirifos en dosis 0; 0,014; 0,03 o 0,1 mg/kg una vez al día en una tableta con el desayuno por 28 días. Los grupos de dosis baja y media se dosificaron durante 28 y 21 días, respectivamente, pero en los de dosis alta el tratamiento fue interrumpido después de 9 días debido a que una persona de este grupo experimentó secreción nasal, visión borrosa y una sensación de desmayo. De cada voluntario se obtuvieron muestras de sangre dos veces por semana, para la determinación de actividad de la colinesterasa. En el grupo expuesto a dosis altas, la colinesterasa plasmática se redujo en un 66% de los niveles iniciales promedio después de 9 días de tratamiento (Risher y Navarro, 1997), informándose un NOAEL (nivel sin efectos adversos observados) de 0,03 mg/kg por día (Coulston et. al., 1972). Se conoce que después de una exposición aguda en humanos, el clorpirifos se elimina rápidamente del organismo; sólo trazas de metabolitos de clorpirifos pueden encontrarse en la sangre u orina después de 48 h de una sola exposición (Rathod y Garg, 2017). Por esta razón, en la exposición a plaguicidas organofosforados la determinación de biomarcadores de exposición, como la inhibición de enzimas b-esterasas, o los metabolitos producto de la actividad metabólica del organismo, son de gran utilidad.

La bioactivación metabólica del clorpirifos ejerce una inhibición de la colinesterasa (Figura 4.1), lo que se produce principalmente en el hígado por las enzimas del sistema citocromo P450 (CYP). El clorpirifos también inhibe la enzima Esterasa Neurotóxica o de blanco Neuropático (NTE) al unirse al sitio activo de la enzima y que resulta en la pérdida de mielina y la degeneración de las fibras axónicas del sistema nervioso central y periférico. El clorpirifos puede causar una inhibición permanente de las enzimas AChE ó NTE conociéndose este proceso como envejecimiento. NTE está relacionada con la neuropatía retardada inducida por compuestos organofosforados (OPIDN) y la enfermedad de la neurona motora, una axonopatía distal central-periférica de axones sensitivomotores en nervios periféricos y médula espinal. La degeneración axonal y la aparición de signos y síntomas de alteraciones sensoriales distales y paresia ocurren alrededor de 8 a 10 días después de una sola dosis suficientemente alta de un compuesto organofosforado neuropático, y la parálisis suele completarse alrededor de 11 a 21 días después de la administración. Los inhibidores de NTE se pueden dividir en dos amplias clases: A y B. Los de tipo A son neuropáticos y envejecen, e incluyen ciertos fosfatos, fosfonatos y fosforamidatos. Los inhibidores de tipo B no son neuropáticos y no envejecen, pero no son biológicamente inertes: pueden proteger contra OPIDN de la dosificación posterior con un inhibidor neuropático de NTE. Los inhibidores de tipo B incluyen ciertos fosfinatos, sulfonatos y carbamatos. Dentro de los inhibidores de tipo A se encuentra el clorpirifos (Richardson et al., 2013).

En la Figura 4.5 se muestra en la inactivación de NTE por un fosfonato que avanza rápidamente al envejecimiento y luego a OPIDN después de aproximadamente 8 a 21 días, mientras que en la vía inferior la inhibición de NTE por un fosfinato no envejecible no produce OPIDN.

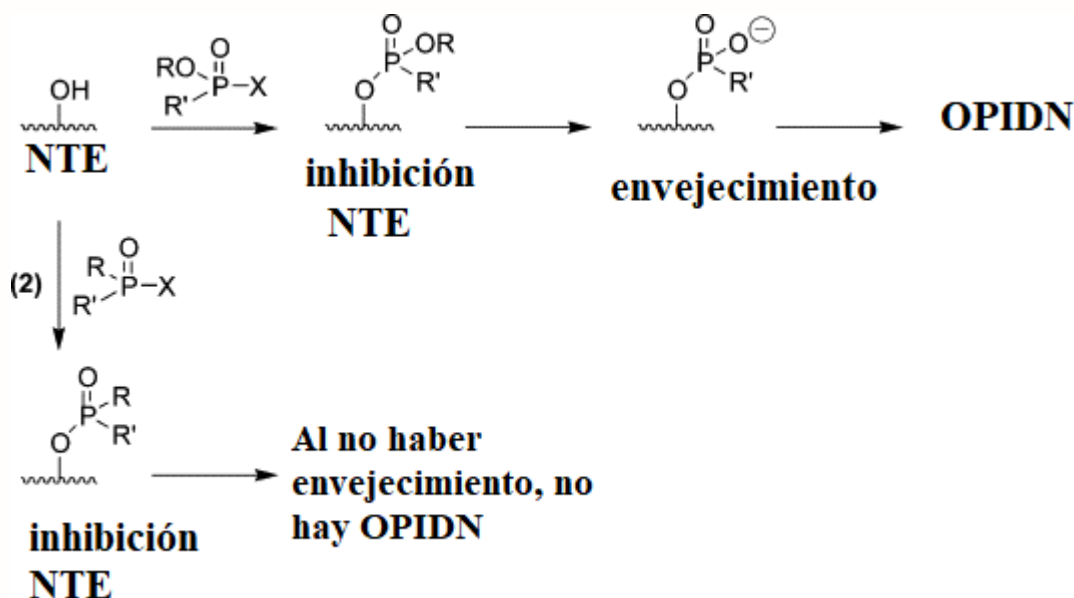


Figura 4.5 Vías de inhibición de NTE

Adaptado de Richardson et al., 2013.

Con el blanco NTE y el efecto OPIDN, el escenario es fundamentalmente diferente al de la AChE y la toxicidad colinérgica. Como se muestra en la Figura 4.5, la inhibición de NTE sola es insuficiente para producir neuropatía, también se requiere envejecimiento (inactivación permanente). La inhibición de la NTE por un inhibidor que no envejece, incluso durante un tiempo prolongado, no produce neuropatía, pero da como resultado protección contra la neuropatía de un compuesto organofosforado neuropático que pueda ser administrado posteriormente.

El clorpirifos ingerido se absorbe amplia y rápidamente en sangre, y los síntomas aparecen desde unos minutos a 2 h después de la ingestión. Si el paciente sobrevive las primeras 24 a 48 h, es posible el diagnóstico de intoxicación por clorpirifos. En adultos y niños, la exposición aguda por vía inhalatoria de clorpirifos se asocia con parestesia y aturdimiento, taquicardia y la exposición oral aguda causa cambios motores similares a una convulsión y coma. La exposición a dosis altas conduce al coma y finalmente a la muerte. Después de exposiciones de duración aguda a dosis altas, también se han producido neuropatías periféricas reversibles y polineuritis (Rathod y Garg, 2017).

La intoxicación aguda se caracteriza por cambios en el estado de conciencia, debilidad muscular y excesiva actividad secretora. El síndrome colinérgico se manifiesta con efectos muscarínicos, nicotínicos y en el sistema nervioso central, según se muestra en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2: Manifestaciones clínicas de la intoxicación aguda (Hurtado et al., 2005)

Efectos muscarínicos	Efectos nicotínicos	Efectos SNC
Miosis	taquicardia (inicial)	Cefalea
Sudoración	hipertensión (inicial)	Agitación
visión borrosa	vasoconstricción periférica	Psicosis
Lagrimo	hiperexcitabilidad miocárdica	confusión mental
secreciones bronquiales	midriasis	Convulsiones
broncoconstricción	astenia	Coma
Vómito	fasciculaciones	depresión respiratoria
cólico abdominal	debilidad muscular	
Diarrea	aumento catecolaminas	
Sialorrea	hiperglucemia	
Bradycardia	hiperkalemia	
alteración conducción A-V		

El autoenvenenamiento con insecticidas organofosforados es un importante problema de salud mundial, que mata a más de 100.000 personas al año. La intoxicación aguda por autoenvenenamiento es una manifestación compleja y multiorgánica, que implica la inhibición de colinesterasas y otras enzimas. La variabilidad entre los insecticidas organofosforados (en lipofilicidad, velocidad de activación, velocidad y potencia de inhibición de la acetilcolinesterasa y en los grupos químicos unidos al fósforo) da como resultado una velocidad variable de inicio de intoxicación, gravedad, toxicidad clínica y letalidad. El tratamiento actual es modestamente eficaz, y tiene como objetivo únicamente reactivar la acetilcolinesterasa y contrarrestar

los efectos del exceso de acetilcolina en los receptores muscarínicos. La aplicación rápida de atropina durante la reanimación salva vidas y se puede realizar en ausencia de oxígeno (Eddleston, 2019).

La intoxicación aguda varía de leve a síntomas fatales (Giordano et al., 2007) y se manifiesta como dolores de cabeza, náuseas, problemas respiratorios, vómitos, bradicardia, miosis, dermatitis y quemaduras. También se ha reportado en la bibliografía un caso de hipoacusia bilateral repentina en una mujer de 58 años poco después de la exposición inhalatoria a clorpirifos, utilizado para jardinería (Dundar et al., 2016). En la segunda semana después de la exposición a clorpirifos, la pérdida auditiva del paciente se resolvió casi por completo. Los organofosforados se utilizan mucho en la agricultura y deben tenerse en cuenta como un factor etiológico en la pérdida auditiva repentina.

4.5.2 Exposición ocupacional

Muchos estudios indican también una alta prevalencia de intoxicación ocupacional aguda por plaguicidas en países en desarrollo. Algunos de estos estudios se basan en mediciones de los síntomas de intoxicación aguda autoinformados de características bastante inespecíficas. Otros estudios han medido la actividad del biomarcador de colinesterasa plasmática, además de los síntomas, al evaluar la intoxicación aguda por plaguicidas en el trabajo. En Nepal realizaron un ensayo cruzado, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, entre 42 productores de hortalizas comerciales nepalés. Los agricultores fueron asignados al azar (proporción 1:1) a una sesión de rociado de 2 h de una mezcla de clorpirifos al 50% más cipermetrina al 5%, un piretroide moderadamente peligroso, o una sesión de rociado de placebo de 2 h; después de 7 días de lavado, los agricultores fueron asignados a la otra sesión de aplicación. Antes y después de cada sesión, se entrevistó a los agricultores sobre los síntomas agudos de intoxicación por organofosforados y se midió la actividad de la colinesterasa plasmática, no encontrándose diferencias significativas, reportándose una presencia general de síntomas agudos de organofosforados entre los agricultores, independientemente de la exposición o el envenenamiento por organofosforados (Kofod et al., 2016).

Con el fin de evaluar los niveles de exposición al clorpirifos y el riesgo para la salud entre los aplicadores (n=21) en fincas de arroz irrigadas en Ghana, se recolectaron muestras de orina antes y después de la aplicación (24 h) a los aplicadores y se analizó 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP), usando espectrometría de masa. Los niveles de dosis de clorpirifos absorbidos por los aplicadores se estimaron a partir de los niveles de TCP en orina. Según los niveles permitidos por la OMS de exposición aguda y crónica a clorpirifos, de 100 y de 10 µg/kg/día respectivamente (OMS, 2009), no encontraron riesgos de efectos agudos o crónicos en la salud. La cantidad de formulación de clorpirifos aplicada, la duración de la pulverización y el número de

tanques de pulverización aplicados se correlacionaron significativamente con los niveles de dosis absorbida de clorpirifos por exposición durante la aplicación (Atabila et al., 2018).

Para analizar la exposición en adolescentes que aplicaban clorpirifos en campos de algodón en Egipto, se midió el metabolito TCP urinario como biomarcador. Se realizó un estudio longitudinal en 43 aplicadores desde abril de 2010 hasta enero de 2011. La TCP urinaria se cuantificó antes, durante y después de la aplicación. Los aplicadores tenían niveles máximos de TCP en orina que oscilaban entre 4 y 5715 $\mu\text{g/g}$ de creatinina. La cantidad de tiempo aplicando pesticidas fue el predictor más fuerte del pico de TCP. También se observó que la utilización de ropa limpia para trabajar se asoció con niveles de TCP más bajos. Los resultados sugieren que existe una oportunidad para intervenciones específicas, particularmente relacionadas con la implementación del uso de EPP y de buenas prácticas para reducir la exposición al clorpirifos entre los trabajadores (Callahan et al., 2014). En otro trabajo también realizado en Egipto, se observó el impacto de la exposición repetida a pesticidas en el desempeño neuroconductual y los biomarcadores de exposición (metabolito urinario) y efecto (actividad de colinesterasa). El seguimiento de la cohorte durante dos temporadas consecutivas de aplicación de clorpirifos reveló que los niveles de TCP aumentaron significativamente después de la exposición y volvieron a los niveles de referencia al final de la temporada de aplicación. La actividad de la butirilcolinesterasa en sangre exhibió un patrón similar. Los resultados del desempeño neuroconductual mostraron efectos en el aprendizaje y la práctica a lo largo del tiempo con una reducción en las medidas y una posterior mejora; los déficits en el rendimiento se asociaron significativamente con un aumento de los niveles de TCP. Estos biomarcadores de exposición y efecto demostraron cambios asociados con la aplicación de pesticidas y la recuperación una vez finalizada la aplicación (Callahan et al., 2017).

En otro trabajo, se estudiaron agricultores de una aldea agrícola en China y adultos urbanos de una ciudad cercana. La exposición ocupacional al clorpirifos en un agricultor se estimó en un valor promedio de 3,70 $\mu\text{g/kg}$ de peso corporal/día, que es un nivel de exposición más alto que los niveles de referencia recomendados. También observaron un aumento de los metabolitos urinarios el primer día después de la aplicación, lo que indica un daño oxidativo potencial en los agricultores (Wang et al., 2016).

Con el fin de evaluar las características de la exposición a plaguicidas organofosforados y el estado de salud de trabajadores agrícolas chilenos en la Región del Maule, se aplicó un cuestionario de salud ocupacional a 207 trabajadores agrícolas y no agrícolas. El 56% de los trabajadores agrícolas informó síntomas consistentes con intoxicación aguda por plaguicidas organofosforados. El uso de equipo de protección personal respiratoria y una menor edad se asociaron con una menor frecuencia de estos síntomas, y el número de años de exposición a pesticidas organofosforados se asoció positivamente con la notificación de síntomas de intoxicación. De los aplicadores de plaguicidas, el 47% informó haber usado clorpirifos. Los autores de este trabajo concluyen que debería reforzarse la normativa sobre uso y aplicación de plaguicidas,

así como la formación e intervención con los trabajadores para mejorar el uso de EPP (Muñoz-Quezada et al., 2017).

En nuestro país, se comparó la exposición dérmica potencial a clorpirifos encontrada en aplicadores mecanizados (conductores de tractores) en huertos de duraznos versus aplicadores manuales (uso de mochilas) en invernaderos y campos abiertos de maíz, brócoli y tomates, encontrando que la misma fue menor en los primeros, si bien no se halló un patrón de distribución prevalente en el cuerpo de los operadores (Berenstein et al., 2017).

Por otra parte, se ha sugerido que la alta exposición e intoxicación a plaguicidas que experimentan los trabajadores agrícolas y los residentes rurales puede resultar en un riesgo elevado de trastornos psiquiátricos y comportamiento suicida. Los datos epidemiológicos que apoyan esta hipótesis son muy limitados. Se realizó una revisión sistemática actualizada en la literatura epidemiológica sobre la relación de la exposición a plaguicidas con la depresión y el suicidio publicada durante los últimos 15 años utilizando la base de datos MEDLINE. Un total de 11 estudios sobre depresión y 14 estudios sobre suicidio cumplieron los criterios de inclusión. La depresión u otros trastornos psiquiátricos han mostrado mayores riesgos asociados con intoxicaciones previas por pesticidas en 5 estudios, con proporciones de incremento estadísticamente significativas que oscilan entre 2,08 y 5,95. Se han encontrado estimaciones de menor riesgo para la exposición crónica a plaguicidas. Entre los estudios sobre suicidio, 4 informes encontraron un aumento en las tasas de suicidio en áreas con uso intensivo de pesticidas (proporciones de incremento entre 1,60 y 2,61) en comparación con las áreas con menor uso de pesticidas. La ocupación en la agricultura ha mostrado una asociación significativa con un mayor riesgo de suicidio que otros grupos ocupacionales en 4 estudios (proporciones de incremento entre 1,30 y 4,13). Con respecto a plaguicidas específicos, el uso de clorpirifos durante toda la vida se relacionó con una mayor mortalidad por suicidio (proporción de incremento = 2,37) en un estudio. La evidencia científica de la asociación entre la exposición a plaguicidas y la depresión o el suicidio se ha demostrado en algunas poblaciones, en estudios que utilizan diferentes enfoques epidemiológicos, pero aún es muy limitada y no concluyente (Freire y Koifman, 2013).

También es de preocupación el riesgo genotóxico que puede presentar la exposición ocupacional a plaguicidas. Este riesgo se discute más adelante en este Capítulo. En un estudio en 1656 sujetos de la población holandesa llevado a cabo entre los años 2006-2011 para evaluar la exposición ocupacional a plaguicidas, se determinó la metilación del ADN en sangre y se demostró que los niveles de plaguicidas aplicados alteran los niveles de expresión génica y desempeñan un papel muy importante en el desarrollo de enfermedades en las vías respiratorias entre otras (van der Plaet et al., 2018). En una revisión por metaanálisis realizado en Brasil se evaluó el posible daño genético resultante de la exposición ocupacional en trabajadores agrícolas y trabajadores empleados en la producción de plaguicidas, ambos comparados con personas no expuestas, utilizando ensayo cometa, prueba de micronúcleos y longitud de telómeros en una

muestra de 145 trabajadores. Los resultados mostraron que los trabajadores expuestos ocupacionalmente presentaban más daños en el ADN que los trabajadores no expuestos. En esta revisión también determinaron que el plaguicida más frecuente era clorpirifos y que existen evidencias que indican que puede provocar genotoxicidad, observándose rotura o aductos del ADN, micronúcleos, reducción de la longitud de los telómeros o aberraciones cromosómicas, que a largo plazo podrían derivar en un riesgo mayor de cáncer de recto y pulmón (Silva Pinto et al., 2020). En las provincias de Bari y Taranto (Italia), se evaluó el daño oxidativo del ADN de linfocitos periféricos por plaguicidas en trabajadores expuestos y no expuestos, demostrando una asociación significativa entre exposición a clorpirifos y el índice de daño evaluado por ensayo de cometa (Ferri et al., 2018).

La determinación de los efectos adversos sobre la salud por la deriva de la aplicación de plaguicidas, que afectan la salud de trabajadores, residentes temporarios y permanentes, ha impulsado la discusión sobre el establecimiento de zonas buffer protectoras. En la Comunidad Europea, el Parlamento Europeo ha establecido la directiva 2009/128/EC conocida como la directiva de uso sustentable (SUD), donde establece que los países Miembro deben implementar zonas buffer con vegetación de tamaño adecuado teniendo en cuenta las técnicas de aplicación y la deriva que se produce (Gil et al., 2015). En este sentido, también se ha propuesto que es necesario desarrollar enfoques para reducir la cantidad de plaguicidas utilizados y promover una agricultura sustentable y la alfabetización sanitaria, protegiendo así a los agricultores, consumidores, y el medio ambiente. (Pobhirun y Pinitsoontorn, 2019).

4.6 Toxicidad crónica

4.6.1 Disrupción endócrina

El clorpirifos fue seleccionado para el Programa de detección de disruptores endocrinos de la US-EPA en función de su uso generalizado y su amplia exposición humana y ambiental. El propósito del programa fue examinar las sustancias químicas por su potencial para interactuar con las vías de estrógeno, andrógeno o tiroideas. La conclusión fue que clorpirifos no demuestra potencial para interactuar en estas vías a dosis por debajo de los niveles de las dosis que inhiben la actividad de colinesterasa. Por lo tanto, los límites de exposición regulatorios para clorpirifos, que se basan en la inhibición de la colinesterasa, serían suficientes para proteger contra posibles alteraciones endocrinas (Juberg, 2012).

Sin embargo, existe abundante literatura que reporta distintas alteraciones clasificadas como disrupción endócrina, tanto en exposición humana como en modelos experimentales. La endometriosis es una enfermedad ginecológica que responde a hormonas, lo que posee connotaciones importantes a lo largo de la vida de una mujer. En un estudio realizado en California determinaron las concentraciones de 11 pesticidas, metabolitos de insecticidas organofosforados y piretroides, y herbicidas, en orina recolectada de

619 mujeres en edad reproductiva, examinando la asociación de las concentraciones urinarias de pesticidas con un aumento en las probabilidades de diagnóstico de endometriosis en 594 mujeres que se sometieron a laparoscopia o laparotomía. Los resultados sugieren que la exposición a concentraciones elevadas de diazinón y clorpirifos puede estar asociada con la endometriosis. (Li et al., 2020). En otro estudio se evaluó también la asociación entre la exposición ambiental a insecticidas y la calidad del semen (concentración, motilidad, morfología y daño del ADN espermático), identificando que la concentración urinaria de TCP como metabolito de clorpirifos se asocia con una disminución de la motilidad espermática y un aumento de la fragmentación del ADN (Dziewirska et al., 2018). Las especies reactivas de oxígeno generadas por clorpirifos son contribuyentes de diversas anomalías en los espermatozoides, degradación de espermatogonias y en última instancia infertilidad (Babazadeh y Najafi, 2017).

La posible relación entre la exposición perinatal a clorpirifos y la aparición de trastornos del espectro autista (TEA) y déficit de atención e hiperactividad (TDAH) podría incluir efectos del insecticida como disruptor endocrino afectando funciones de la hormona tiroidea y mecanismos GABAérgicos (de Cock et al., 2012). El deterioro de la función de la hormona tiroidea se asociaría a la disminución en el peso al nacer y en consecuencia a un menor desarrollo del cerebro fetal (Watts, 2012). Se ha demostrado que el clorpirifos induce alteraciones en el peso y la morfología, al contribuir al engrosamiento del epitelio superficial y del miometrio (Cocca et al., 2015; Ventura et al., 2016). A su vez el mecanismo de acción ovotóxico y embriotóxico de clorpirifos implica la alteración de procesos como la eclosión embrionaria, la proliferación celular y la apoptosis mediante la limitación de estrógeno. El clorpirifos también se ha relacionado con la reducción de las hormonas sexuales séricas, incluida LH, progesterona y estrógeno (Nandi et al., 2011; Kara y Öztaş, 2020).

Los glucocorticoides son el tratamiento de consenso que se administra en el trabajo de parto prematuro y también aumentan por el estrés materno. Las exposiciones a organofosforados son prácticamente ubicuas, por lo que las co-exposiciones del desarrollo humano a estos dos agentes son comunes. En un estudio realizado en ratas se exploró cómo la exposición prenatal a la dexametasona modifica la teratología neuroconductual del clorpirifos. La exposición combinada a la dexametasona y el clorpirifos da como resultado un peor resultado neuroconductual, lo que proporciona una prueba de principio de que los glucocorticoides prenatales pueden crear una subpoblación con mayor vulnerabilidad a los tóxicos ambientales (Levin et al., 2014). En un estudio sobre los efectos neuroconductuales de la exposición a clorpirifos en el desarrollo de ratones expuestos en el útero y durante el desarrollo temprano, se observa que las respuestas sociales y emocionales se ven afectadas de manera diferente en los dos sexos, en dependencia con la interferencia en las vías neuroendocrinas hipotalámicas que regulan los comportamientos sociales (vasopresina, oxitocina y sistemas regulados por esteroides). Por tanto, este plaguicida organofosforado ampliamente difundido podría considerarse como un disruptor neuroendocrino

que posiblemente representa un factor de riesgo de trastornos del desarrollo neurológico sesgados por el sexo en los niños. (Venerosi et al., 2012).

En síntesis, los efectos de disrupción endocrina por clorpirifos podrían llevarse a cabo a través de varias vías:

1. La unión a receptores, regulando hacia abajo los receptores estrogénicos y desencadenando el deterioro de la actividad estrogénica (Canesi et al., 2011).
2. La alteración de respuestas dependientes de andrógenos, causando disfunciones sexuales masculinas (Diamanti-Kandarakis et al., 2009).
3. Las modificaciones en los factores responsables de la regulación de la expresión génica, por ejemplo, metilación del ADN y acetilación de histonas (Diamanti-Kandarakis et al., 2009).
4. La inhibición de AChE y la concentración de ACh en la hendidura sináptica, lo que produciría alteraciones de la regulación hormonal y, en consecuencia, el deterioro de homeostasis endocrina en el cuerpo (US EPA, 1992).

4.6.2 Neurotoxicidad

Entre las consecuencias de la exposición crónica a clorpirifos, los trastornos del neurodesarrollo y enfermedades neurodegenerativas merecen especial consideración, debido a la magnitud de las consecuencias socioeconómicas derivadas de la probable discapacidad inherente a varios de los diagnósticos en estas dos categorías.

Con respecto a los trastornos del desarrollo en particular, estas repercusiones no solo se deben al costo asociado a la salud y educación de los niños diagnosticados, sino también a la disminución de la productividad de los padres o tutores legales abocados a su cuidado, además de la perspectiva futura de no contribución y prolongación en la demanda de recursos socioeconómicos, del propio individuo afectado (Buescher et al., 2014; Leigh y Du, 2015; Sayal et al., 2018; Roddy y O'Neill 2019; Rogge y Janssen 2019). Se ha observado un alarmante aumento de la incidencia de distintas patologías en las últimas dos décadas, que se asocian a una mayor exposición ambiental a neurotóxicos durante el período de gestación y la primera infancia, entre los que se encuentran los plaguicidas (Mostafalou y Abdollahi, 2018). Se demostró hace tiempo la presencia de metabolitos de clorpirifos y otras toxinas en fluido amniótico, sangre de cordón umbilical y meconio, con consecuencias para el neonato (Bradman et al., 2003; Whyatt et al., 2004, 2009; Rauh et al., 2012; Silver et al. 2018; Onchoi et al., 2020). Se estima que los trastornos del neurodesarrollo podrían afectar entre el 10 y el 15% de los nacimientos e incluyen tanto TDAH, TEA y dislexia como los más frecuentes, entre otras discapacidades cognitivas e intelectuales (Grandjean y Landrigan, 2014). En este

sentido, un estudio reciente en EEUU informó que el 17,8% de la población de 3 a 17 años de edad (aproximadamente 1 de cada 6) sufre de algún tipo de trastorno del neurodesarrollo según el relevamiento realizado de 2015 a 2017, y que esa cifra representa un aumento con respecto al relevamiento anterior realizado entre 2009 y 2011, que arrojó un resultado del 16,2% (Zablotsky et al., 2019). Una de las patologías de las que se ha registrado fehacientemente el aumento de la incidencia es el TEA, que abarca un grupo heterogéneo de alteraciones del desarrollo y afecta actualmente al menos al 2% de la población mundial (Kogan et al., 2018; Maenner et al., 2020). Se sabe que la manifestación del TEA es altamente dependiente del entorno y de los factores ambientales a los que esté expuesto el individuo a lo largo de su desarrollo, incluso desde la vida intrauterina (Hallmayer, 2011). Para un altísimo porcentaje de la población general, resulta inevitable la exposición a la contaminación química tanto del ambiente como de los alimentos, con una sobrecarga para los sistemas antioxidantes y vías de detoxificación de xenobióticos, y consecuencias para la salud (Jaureguiberry y Venturino, 2020). Se ha demostrado la asociación de la exposición a clorpirifos de niños y embarazadas con el posterior diagnóstico de TEA y otros trastornos del desarrollo en diversos estudios de cohorte. El estudio CHARGE (por sus siglas en inglés *Childhood Autism Risk from Genes and Environment*) (n=486 TEA y 316 control) llevado a cabo en regiones agrícolas de California, demostró que la residencia durante el embarazo en zonas dentro de un radio de 1,5 km del sitio de aplicación de organofosforados se correlaciona positivamente con el posterior diagnóstico de autismo y que por cada 45,5 kg (100 lb) de aumento en la aplicación de clorpirifos en ese mismo radio, la prevalencia de TEA aumenta un 14%, siendo la probabilidad de presentar autismo un 60% mayor para los niños diagnosticados cuyas madres residen dentro del radio cercano al punto de aplicación de plaguicidas durante el embarazo (Shelton et al., 2014). Otro análisis poblacional posterior (n=2961 TEA y 35370 control) en la misma región agrícola de California confirma los efectos adversos de la exposición a clorpirifos durante el embarazo, amplía el radio de residencia a 2 km con respecto a la zona de aplicación como factor de riesgo ambiental, y asocia la continuidad de la exposición a clorpirifos durante el primer año de vida con un mayor riesgo de presentar discapacidad intelectual como comorbilidad del autismo (von Ehrenstein et al., 2019). Otro análisis longitudinal entre 2008 y 2011 realizado por la Universidad de Oregon en una comunidad frutihortícola al noroeste del Pacífico, abordó el perfil neuroconductual de niños en edad escolar (5 a 12 años), en relación a la exposición a plaguicidas organofosforados en el ámbito domiciliario. El estudio incluyó 215 familias de las cuales 60 no se relacionaron ocupacionalmente con la actividad frutihortícola, pero residían en la zona productiva, mientras que en las 155 restantes había exposición laboral de al menos un miembro entre los individuos convivientes con el niño estudiado. Si bien se hallaron residuos de los plaguicidas en todos los hogares relevados, siendo malatión y clorpirifos los mayoritarios, la concentración fue considerablemente superior en aquellos en los que había un vínculo ocupacional de los residentes con la actividad frutihortícola; la mayor exposición domiciliar de los niños convivientes con trabajadores rurales se asoció con una menor

capacidad de aprendizaje y un peor desempeño en los test de evaluación neuroconductual (Butler-Dawson et al., 2016).

En relación al TDAH, se estima que es el trastorno del desarrollo más frecuente con una incidencia global promedio del 5,29%, aunque los valores pueden variar ampliamente en ciertas regiones y rangos etarios (Polanczyk et al., 2007; Sayal et al. 2018), y se ha estimado que en el 75% de los niños diagnosticados con TDAH, la condición persiste aún en la vida adulta (Nilsen y Tolve, 2020). En este sentido, un análisis en EEUU realizado con datos obtenidos entre los años 2000 y 2004 en niños de 8 a 15 años de todo el país (n=1139) de la base de datos NHANES (por sus siglas en inglés *National Health and Nutrition Examination Survey*), evaluó la relación de la concentración de metabolitos de plaguicidas organofosforados en orina con la probabilidad de ser diagnosticado con TDAH. Los autores del análisis determinaron una prevalencia del 12,1% en la población analizada y hallaron que cuando la concentración de dichos metabolitos aumenta 10 veces en orina, la probabilidad de padecer TDAH aumenta al menos un 55% para la exposición a organofosforados en general, mientras que el aumento de metabolitos de clorpirifos en particular, se asoció con una mayor probabilidad de ser diagnosticado con TDAH del subtipo hiperactivo/impulsivo (Bouchard et al., 2010). Otro estudio longitudinal realizado en Egipto analizó una población de adolescentes (12 a 21 años de edad) que trabajan como aplicadores estacionales de plaguicidas (n=59) comparados con un grupo del mismo rango etario e iguales condiciones socioeconómicas, pero que no trabajan en la agricultura (n=39). Durante un período de 10 meses, se analizó la presencia de metabolitos de clorpirifos en orina y la actividad de AChE y BChE en plasma de estos jóvenes en 5 ocasiones. Finalmente, se realizaron tests estandarizados para diagnóstico de TDAH y los aplicadores demostraron puntajes 18 veces por encima del umbral para el diagnóstico con respecto a los no aplicadores. Además, la mayor concentración de metabolitos en orina se asoció con un mayor número de síntomas ligados al diagnóstico de TDAH (Rohlman et al., 2019).

En la cohorte CHAMACOS mencionada anteriormente, se demostró una correlación entre la exposición ambiental materna durante el embarazo a plaguicidas organofosforados (incluyendo clorpirifos) en la región agrícola del Valle de Salinas en California con una disminución de la comprensión del lenguaje verbal y el cociente intelectual de los hijos a los 7 años de edad (Bouchard et al., 2011; Gunier et al., 2017). Resultados similares se observaron en otro análisis longitudinal realizado en zonas urbanas que incluyó pares madre-hijo (n=296 niños y 311 niñas, con sus madres) en las diez ciudades principales de Canadá, donde hallaron una disminución del cociente intelectual verbal en varones de 4 años en función del aumento de la concentración de metabolitos urinarios maternos de organofosforados registrados durante el embarazo, pero no en el grupo de niñas (Ntantu Nkinsa et al., 2020). Estos resultados se relacionan con las observaciones en autismo, donde la incidencia es mucho mayor en varones, siendo de 4 a 1 respecto a niñas (Christensen et al., 2018). Otro estudio en China que enroló 249 embarazadas y siguió la evolución de sus hijos, halló una correlación inversa entre la concentración de metabolitos de organofosforados en orina durante el embarazo

y el desarrollo neuroconductual de los neonatos (Zhang et al., 2014). En relación a la exposición a clorpirifos en áreas urbanas, un trabajo de cohorte prospectivo demostró la disminución inversamente proporcional del peso y talla de los neonatos expuestos en relación al contenido de clorpirifos en la sangre de cordón umbilical (Whyatt et al., 2004), que a su vez estaba relacionado con la presencia de este insecticida en muestras de aire ambiental del entorno doméstico en barrios de Nueva York (Whyatt et al., 2003). Esta correlación fue corroborada al cambiar el marco regulatorio en EEUU en 2001 con respecto a la comercialización y uso domiciliario de insecticidas para el control de plagas domésticas (Whyatt et al., 2005). Un análisis posterior sobre los niños de esta misma cohorte demostró también que la exposición prenatal a clorpirifos provoca la disminución no solo del coeficiente intelectual, sino también de la memoria de trabajo a los 7 años de edad (Rauh et al., 2011).

En relación a las enfermedades neurodegenerativas, se ha reportado que la exposición laboral o ambiental a clorpirifos se asocia con un mayor riesgo de padecer enfermedad de Parkinson y de Alzheimer (Dhillon et al., 2008; Sánchez-Santed et al., 2016; Gunnarsson y Bodin 2017; Jokanović 2018; Mostafalou y Abdollahi 2018). Un estudio poblacional (n=375 Parkinson y 807 control) realizado en el valle de California asoció el uso domiciliario de clorpirifos como insecticida con la duplicación de la tasa de riesgo de padecer la enfermedad de Parkinson (Narayan et al., 2013). También se halló que el consumo de agua de pozo contaminada con clorpirifos aumenta significativamente la probabilidad de padecer enfermedad de Parkinson (Gatto et al., 2009). Al igual que para los trastornos del desarrollo, se propone que el origen de estas enfermedades degenerativas sería epigenético y multifactorial, involucrando la inducción de estrés oxidativo, y variantes o polimorfismos de diversas enzimas que participan en la detoxificación de xenobióticos como por ejemplo la paraoxonasa 1 (*PON1 L55M rs854560*), enzima responsable de hidrolizar el oxón resultante del metabolismo de clorpirifos por enzimas de Fase I, o para el citocromo P450 (CYP2D6B), que aumentan el riesgo de padecer la enfermedad en portadores por exposición al tóxico (Agúndez et al., 1995; Manthripragada et al., 2010; Freire y Koifman, 2012; Paul et al., 2017). El Alzheimer constituye la cuarta causa de muerte en adultos mayores, y se ha observado una disminución de las enzimas relacionadas con el metabolismo de acetilcolina en el cerebro de estos pacientes incluyendo a la AChE, blanco de acción primario del clorpirifos (Mostafalou y Abdollahi, 2018). Un estudio en el que se invitó a participar a los miembros mayores de 65 años de la comunidad agrícola del condado de Cache en el Estado de Utah, EEUU, enroló 5092 voluntarios sin enfermedades neurológicas previas, cuyo estado de salud y exposición a diversos plaguicidas se siguió durante 10 años (1995 a 2005). Transcurrido el período de observación, un total de 3084 participantes aportaron toda la información requerida para el análisis de los datos y los resultados indicaron que la exposición a plaguicidas organofosforados aumentó significativamente el riesgo de padecer Alzheimer (Hayden et al., 2010). Un trabajo *in vitro* analizó imágenes de la polimerización de la tubulina en tejido nervioso en presencia de clorpirifos oxón, y sus autores proponen la interferencia del oxón con este proceso

fundamental para el transporte axonal de las vesículas con neurotransmisores, como posible mecanismo de acción, dado que las alteraciones del sistema de microtúbulos es característica en el Alzheimer (Grigoryan y Lockridge, 2009).

Los distintos estudios de cohortes que involucran la exposición al clorpirifos con alteraciones del neurodesarrollo y enfermedades neurodegenerativas se resumen en la Tabla 4.3. En la Figura 4.6 se resumen las posibles relaciones de la exposición materna a clorpirifos con diferentes trastornos del desarrollo neurológico.

Tabla 4.3 Exposición a clorpirifos y trastornos del neurodesarrollo

Patología	Referencia	Estado/País	N, participantes	Principales hallazgos
TEA	Shelton et al. 2014 (estudio <i>CHARGE</i>)	California, Estados Unidos.	Cohorte, prospectivo. n = 486 TEA y 316 control	Mayor riesgo de TEA por residencia en radio de 1,5 km desde el sitio de aplicación de plaguicida, durante el embarazo.
TEA / Retraso mental	Von Erenstein et al., 2019	California, Estados Unidos.	Cohorte, retrospectivo. n = 2961 TEA y 35370 control	Mayor riesgo de TEA por residencia en radio de 2 km desde el sitio de aplicación de plaguicida, durante el embarazo. Mayor riesgo de retraso mental como comorbilidad al autismo, por residencia dentro del mismo radio durante el primer año de vida.
TDAH	Bouchard et al. 2010 (base de datos <i>NHANES</i>)	Estados Unidos, multiregional	Cohorte, retrospectivo. n = 1139 niños de 8 a 15 años	Mayor riesgo de TDAH por presencia de metabolitos de OP. Mayor riesgo de TDAH subtipo impulsivo por presencia de metabolitos DEAP en orina.
TDAH	Rohlman et al. 2019	Egipto.	Cohorte, prospectivo. n = 98 adolescentes de 12 a 21 años (59 aplicadores de clorpirifos y 39 no aplicadores).	Mayor riesgo de TDAH en aplicadores de clorpirifos. A mayor concentración de metabolitos de clorpirifos en orina, mayor número de síntomas de TDAH y mayor puntaje en los test diagnósticos.

TD	Gunier et al., 2017 (estudio CHAMACOS)	California, Estados Unidos.	Cohorte, prospectivo. n = 283 pares madre+hijo.	Disminución del coeficiente intelectual y de la comprensión verbal en niños de 7 años, por residencia materna durante el embarazo en radio de 1 km desde el sitio de aplicación de plaguicidas OPs. Aumento de metabolitos DAP en orina durante el embarazo.
TD	Ntantu Nkinsa et al. 2020	10 grandes ciudades de Canadá.	Cohorte, prospectivo. n = 296 niños, 311 niñas y sus madres	Disminución del coeficiente intelectual verbal en varones de 4 años, por aumento de metabolitos DAP urinarios maternos, pero no en niñas.
TD	Zahng et al. 2014	Shenyang, China	Cohorte prospectivo. n = 249 pares madre+hijo.	Alteraciones neuroconductuales asociadas al nivel de metabolitos de clorpirifos y otros OP en orina durante el embarazo.
TD	Rauh et al. 2011	New York, Estados Unidos.	Cohorte retrospectivo. n = 265 niños de 7 años.	Disminución del coeficiente intelectual y de la memoria de trabajo asociada a concentración de metabolitos de clorpirifos en sangre de cordón umbilical. Exposición domiciliaria urbana materna durante el embarazo.
Parkinson	Dhillon et al. 2008	Texas, Estados Unidos.	Cohorte, retrospectivo. n = 100 EP y 84 control.	El uso domiciliario para jardinería de clorpirifos se asoció con un mayor riesgo de padecer enfermedad de Parkinson.
Parkinson	Narayan et al. 2013	California, Estados Unidos.	Cohorte, retrospectivo. n = 375 EP y 807 control.	El uso domiciliario de clorpirifos como insecticida aumentó (OR 2.73) el riesgo de padecer enfermedad de Parkinson. El riesgo fue mayor en portadores de la variante <i>PON1 L55M rs854560</i> para la praoxonasa 1.

Alzheimer	Hayden et al. 2010	Cache County, Utah, Estados Unidos.	Cohorte, prospectivo. n = 3084 > 65 años (572 expuestos y 2512 no expuestos a plaguicidas).	La exposición laboral a plaguicidas OP (u organoclorados) se asoció con un mayor riesgo de padecer enfermedad de Alzheimer o demencia, en personas mayores de 65 años.
------------------	--------------------	-------------------------------------	---	--

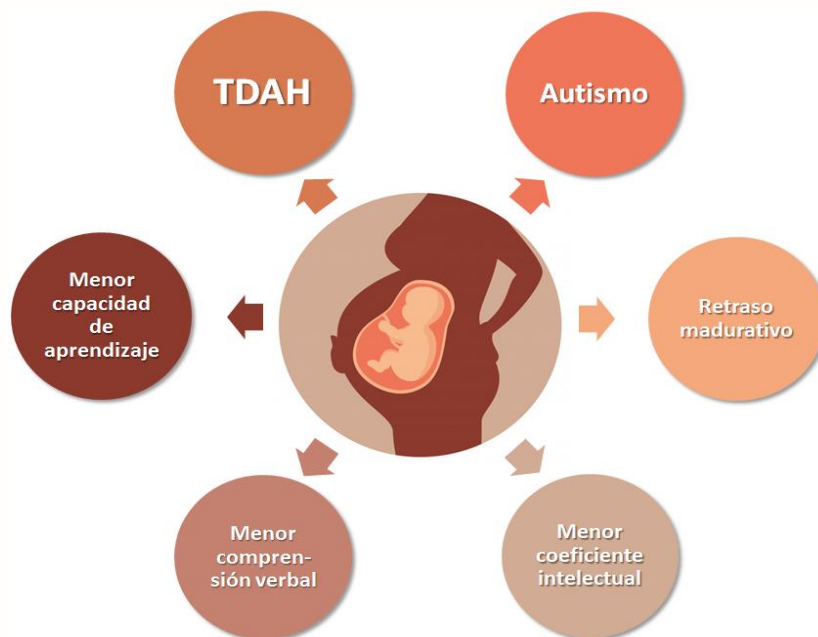
TEA = Trastorno del Espectro Autista. TDHA = Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad. TD = Trastorno del Desarrollo. OP = organofosforado. DAP = dialquilfosfatos.

4.6.2.1 Estudios de efectos neurodegenerativos de clorpirifos en modelos animales

Si bien los estudios poblacionales y las evidencias epidemiológicas para enfermedades neurodegenerativas de largo desarrollo son escasos, se han realizado numerosas investigaciones en modelos animales, donde se ha observado neurodegeneración en forma de neuropatía retardada inducida por organofosforados (OPIDN), enfermedades de Parkinson y Alzheimer, luego de la exposición aguda a altas dosis de clorpirifos, con la consecuente inhibición significativa de la AChE cerebral. El clorpirifos también produce un plegamiento incorrecto de proteínas durante su síntesis, interrupción del transporte axonal y disfunción mitocondrial. En 1986, Iqbal et al. reportaron que la proteína *tau* que estimula el ensamblaje de microtúbulos, era fosforilada en forma anormal en el cerebro de pacientes con Alzheimer.

Samsam et al. (2005) examinaron la capacidad de aprendizaje y la capacidad de atención de ratas alimentadas con alimento conteniendo clorpirifos en bajas dosis durante un año, con o sin dosis agudas intermitentes de clorpirifos por sonda oral cada 2 meses. Las dosis bajas crónicas facilitaron el aprendizaje basado en la respuesta al presionar la palanca para recibir alimento como recompensa, pero las altas dosis agudas intermitentes redujeron significativamente el aprendizaje. Con estos hallazgos los autores concluyeron que el deterioro cognitivo permanente ocurre solo en presencia de inhibición de AChE cerebral, que se alcanza con dosis agudas de clorpirifos lo suficientemente altas como para provocar signos de toxicidad (Samsam et al., 2005).

Figura 4.6: Exposición materna a clorpirifos y neurodesarrollo fetal



La exposición prenatal a clorpirifos puede inducir diversos trastornos del desarrollo. TDAH = Trastorno de déficit de atención e hiperactividad.

El efecto de distintas dosis de clorpirifos sobre la estructura de los microtúbulos neuronales fue analizado por Jiang et al. (2010) en cerebro de ratones, quienes sugirieron que la exposición al oxón también puede desencadenar la fosforilación de proteínas por parte de la enzima Calmodulina-quinasa II, contribuyendo a la disociación de los microtúbulos. Un tercio de las proteínas implicadas en el transporte axonal no fueron detectadas en ratones macho tratados con una única dosis de clorpirifos-oxón. Estas proteínas están relacionadas con el ensamblaje, la estructura, la estabilidad y la función de los microtúbulos. Los microtúbulos de los ratones tratados con clorpirifos-oxón eran más cortos y estrechos que en los ratones control (Jiang et al., 2010). Los resultados de este trabajo coinciden con observaciones previas *in vitro* mencionadas anteriormente (Grigoryan y Lockridge, 2009).

Por otra parte, Salazar et al. (2011) examinaron los efectos de una única dosis aguda alta de clorpirifos en ratones transgénicos portadores de la mutación de la proteína precursora β amiloide, sobre la actividad neuroconductual y el aprendizaje. Ocho meses después del tratamiento, los niveles de β amiloide fueron significativamente mayores en los cerebros de los ratones que recibieron la dosis aguda de clorpirifos, en comparación con los ratones controles, sugiriendo la inhibición de la enzima acil péptido hidrolasa por clorpirifos. En síntesis, las enfermedades de Parkinson y Alzheimer podrían ocurrir a través de mecanismos compartidos, como el incorrecto plegamiento de proteínas, la interrupción del transporte axonal y la disfunción mitocondrial. Basado en estudios en animales, la enfermedad de Alzheimer podría ocurrir por exposiciones repetidas a clorpirifos (0,3 mg/kg/día) a través de la hiperfosforilación de *tau* y otras proteínas

involucradas en el transporte axonal (Iqbal et al., 1986). Es importante observar que también se produciría una inhibición significativa de la actividad de AChE de los eritrocitos y la AChE cerebral a estas mismas dosis.

Con respecto a la enfermedad de Parkinson, se han observado ocasionalmente síntomas similares al parkinsonismo después de una intoxicación aguda por organofosforados. En un 20% de las intoxicaciones también ocurre un síndrome intermedio (Karalliedde et al., 2006) que se diferencia de la crisis colinérgica ya que no se observan síntomas muscarínicos (Panda et al., 2014). En este sentido, Hsieh et al. (2001) propusieron que existe un nivel crítico de AChE en los ganglios, necesario para regular el sistema dopaminérgico, y este nivel puede ser inferior al necesario para hidrolizar la acetilcolina (Hsieh et al., 2001). Se observaron reducciones significativas en los niveles de dopamina en el hipocampo, pero no en el cuerpo estriado de crías de rata que recibieron clorpirifos durante 17-20 días en concentraciones cercanas al umbral para inhibición de AChE (Aldridge et al., 2005b).

En crías de rata recién nacidas, la administración de clorpirifos en dosis crecientes causó un aumento de los niveles de dopamina en el día 50 (Eells y Brown, 2009). Por otra parte, otro grupo observó una reducción significativa de las neuronas dopaminérgicas en las crías de rata que recibieron clorpirifos entre los días 11-14 (Zhang et al., 2015). Pallotta et. al. (2017) también encontraron que la exposición a clorpirifos a bajas dosis y a largo plazo en crías de ratones durante la gestación y hasta los 8 meses de edad, afectó la expresión de genes relacionados con la aparición de la enfermedad de Parkinson, sin observar una inhibición significativa de la colinesterasa cerebral. Asimismo, se han registrado cambios en los niveles de dopamina en animales adultos expuestos a clorpirifos (Moreno et al., 2008). Otros trabajos han informado cambios en la expresión génica relacionados con el sistema dopaminérgico en animales adultos, como el aumento en la expresión génica de *Nptx2* en el hipocampo de ratas adultas cuando se inyecta clorpirifos en dosis de 3 o 10 mg/kg/día durante 21 días (Kou et al., 2006). *Nptx2* codifica el neuropéptido NPTX2, que participa en la plasticidad a largo plazo, y los cambios en su expresión se han asociado con la enfermedad de Parkinson.

Es interesante destacar que se ha propuesto la creación de un modelo murino de enfermedad de Parkinson inducida por clorpirifos, inyectando ratones con 80 mg/kg de este tóxico en solución salina por vía subcutánea, tres veces en un período de dos semanas. El examen histopatológico de la *substantia nigra* reveló neurodegeneración y depósitos que describieron como cuerpos de Lewy (Deveci y Karapehliyan, 2018).

4.6.3 Relación del clorpirifos con la aparición de cáncer

El estudio sobre la salud relacionado con las prácticas agrícolas (AHS, por sus siglas en inglés *Agricultural Health Study*) realizado en EEUU, es uno de los más importantes estudios epidemiológicos de riesgo de cáncer y otras patologías frente a la exposición a plaguicidas y otros productos utilizados en

agricultura (Alavanja et al., 1996). Este estudio busca relacionar la incidencia de los distintos tipos de cáncer con los hábitos alimenticios, la actividad física, consumo de cigarrillos y alcohol, etc. El AHS considera el riesgo de exposición a 50 plaguicidas distintos, incluido el clorpirifos, relacionado con el trabajo agrícola (exposición ocupacional) y, en general, no tiene en cuenta la exposición no ocupacional. La población de estudio del AHS comprende granjeros aplicadores de plaguicidas y sus familias, pertenecientes a los estados de Iowa y Carolina del Norte, cuyo contacto con el uso de estos tóxicos es directo. La recolección de información en el AHS se llevó a cabo a través de cuestionarios autocompletados por los mencionados trabajadores rurales y sus familias durante el período de enrolamiento (1993-1997). La evaluación del grado de exposición se basó en cálculos realizados a partir del número de días y años de exposición, el método de aplicación de los plaguicidas y el uso de equipo de protección personal, entre otras variables. Asimismo, muchas de las esposas de los granjeros también indicaron haber realizado tareas de aplicación de plaguicidas, incrementando su exposición directa. Los principales resultados del AHS en relación al uso de clorpirifos están descriptos en las siguientes secciones e incluye la evaluación de incidencia de cáncer de mama, colorrectal y de pulmón, entre otros.

En Córdoba, Argentina, se evaluó la relación entre la mortalidad debida a distintos tipos de cáncer en comparación con índices de exposición a distintos plaguicidas comúnmente utilizados en las prácticas de agricultura regional (Butinof et al., 2017). El estudio epidemiológico se basó en 2 sub-estudios: (i) uno ecológico, para generar índices de exposición a plaguicidas de las distintas áreas del territorio argentino y poder comparar dichos índices con la mortalidad regional asociada a los principales tipos de cáncer; (ii) otro transversal, en una población de agroaplicadores de Córdoba para asociar la exposición a plaguicidas con el daño a la salud e identificar biomarcadores. En este estudio se evaluaron 12 plaguicidas, incluido el clorpirifos. Con respecto a la detección de plaguicidas, los resultados indicaron que el producto de mayor volumen de uso es el Glifosato, y a nivel regional el uso de clorpirifos ocupa el segundo lugar al evaluar el índice de impacto ambiental total de cada plaguicida. Por otro lado, la región pampeana y la región noreste del país mostraron los índices de impacto ambiental más altos entre las diferentes regiones del territorio argentino. Al evaluar las tasas de mortalidad, las tasas crudas de muertes por cáncer de mama en mujeres, cáncer total en mujeres y cáncer total en varones se correlacionaron de manera espacial. Con respecto a los índices de impacto ambiental, la tasa ajustada de mortalidad total en varones tuvo asociación significativa con el uso de clorpirifos y otros plaguicidas. No se encontró correlación entre el daño genotóxico y el grado de exposición, en cambio se detectó una correlación negativa entre la actividad de la enzima butirilcolinesterasa (BChE) plasmática y la exposición a plaguicidas. Los estudios realizados hasta el momento coinciden en que son necesarios otros estudios adicionales para confirmar el efecto de la exposición a clorpirifos en relación al mayor riesgo de desarrollar algún tipo de cáncer. En la Tabla 4.4 se resumen los estudios de distintos tipos de cáncer en relación a la exposición a clorpirifos.

Tabla 4.4 Resumen de los estudios epidemiológicos que asocian la exposición a clorpirifos y el riesgo de desarrollar distintos tipos de cáncer

Referencia	Tipo de cáncer	País	Población y Características	Resultados
Engel et al. 2005	mama	Estados Unidos	Mujeres con exposición ocupacional y/o esposas de granjeros (AHS) exposición auto-reportada	El uso de clorpirifos estuvo marginalmente asociado al riesgo de cáncer de mama en mujeres premenopáusicas
Lerro et al. 2015		Estados Unidos	Mujeres con exposición ocupacional y/o esposas de granjeros (AHS) exposición auto-reportada	La exposición a clorpirifos no se asoció con un mayor riesgo de cáncer de mama
Engel et al. 2017		Estados Unidos	Mujeres con exposición ocupacional y/o esposas de granjeros (AHS) exposición auto-reportada	Se encontró una mayor incidencia de cáncer de mama entre las mujeres que alguna vez habían usado clorpirifos
Tayour et al. 2019		Estados Unidos	Mujeres expuestas por residencia (zonas de alta exposición) y ocupacional estudio caso-control	La exposición a clorpirifos tuvo mayor relación con el desarrollo de cáncer de mama
Alavanja et al. 2003	próstata	Estados Unidos	Granjeros con exposición ocupacional (AHS) exposición auto-reportada	El mayor riesgo de desarrollar cáncer de próstata estuvo asociado a la historia familiar
Lee et al. 2007, 2004	colorrectal	Estados Unidos	Granjeros con exposición ocupacional (AHS) exposición auto-reportada	la exposición a clorpirifos mostró una tendencia a estar asociada a una mayor incidencia de cáncer rectal
Alavanja et al. 2004b	pulmón	Estados Unidos	Granjeros con exposición ocupacional (AHS) exposición auto-reportada	clorpirifos mostró cierta relación entre la exposición y la incidencia de cáncer de pulmón
Karunanayake et al. 2012	Linfoma de Hodgkin	Canadá	Hombres residentes en 6 regiones de Canadá Estudio caso-control	La exposición a clorpirifos junto con la historia familiar previa de cáncer o diagnóstico previo de acné o Herpes zóster se identificaron como factores asociados a un mayor riesgo

4.6.3.1 Cáncer de mama

Como se describe más arriba, el clorpirifos puede actuar como un disruptor endócrino (ver apartado 4.6.1. Disrupción endócrina). La glándula mamaria es un órgano hormono-dependiente y, por lo tanto, es susceptible a la disrupción endocrina resultante de la exposición a clorpirifos y otros plaguicidas (Cocca et al., 2015). Particularmente, como los estrógenos estimulan la proliferación de las células del tejido mamario y de las células cancerosas, los compuestos con efecto estrogénico pueden afectar tanto el desarrollo mamario como la incidencia de cáncer de mama.

En el AHS se estudió la incidencia de cáncer de mama en una población de 30.454 mujeres desde el periodo de enrolamiento (1993-1997) hasta el año 2000 (Engel et al., 2005). Durante este tiempo, 306 casos de cáncer fueron detectados dentro de la población en estudio. El uso de clorpirifos estuvo marginalmente asociado al riesgo de cáncer de mama en mujeres premenopáusicas al momento del diagnóstico. En otro trabajo asociado al AHS, publicado en 2017, se estudió la incidencia de cáncer de mama en una población de 22.271 esposas de aplicadores de plaguicidas sin previa historia en cáncer de mama (Engel et al., 2017). Durante un período de seguimiento de 14,7 años en promedio desde el enrolamiento, 39% de las esposas reportó haber utilizado plaguicidas y 1081 fueron diagnosticadas con cáncer de mama. Aunque el uso de insecticidas en general no se asoció con una mayor incidencia de cáncer de mama, este nuevo trabajo sí mostró una mayor incidencia entre las mujeres que alguna vez habían usado clorpirifos [cociente de riesgo (HR, *hazard ratios*) = 1:4 (intervalo de confianza -IC- del 95%: 1.0, 2.0)]. Esta mayor incidencia se asoció principalmente con el cáncer de mama premenopáusico y no se encontró evidencia de riesgo diferencial según los niveles del receptor de estrógeno de los tumores (Engel et al., 2017).

En otro estudio del AHS se evaluó la incidencia de distintos tipos de cáncer en mujeres esposas de granjeros expuestas a diferentes plaguicidas (Lerro et al., 2015). Se estudiaron 30.003 mujeres, de las cuales el 25,9% reportó haber utilizado algún insecticida organofosforado y 718 mujeres expuestas a ellos fueron diagnosticadas con algún tipo de cáncer. La exposición a clorpirifos se asoció a un aumento no significativo en la incidencia de cáncer de mama. El uso de clorpirifos estuvo asociado con un aumento significativo de la incidencia de cáncer de mama del subtipo receptor de Estrógenos y receptor de Progesterona negativo. Otro estudio de caso-control publicado en 2019 donde se evaluó el riesgo de cáncer de mama postmenopáusico en relación a la exposición a distintos plaguicidas en el valle central de California (Estados Unidos) ofreció nuevas evidencias (Tayour et al., 2019). Esta zona es considerada una región con alta tasa de agricultura, y por lo tanto una fuente de exposición de plaguicidas hacia poblaciones no relacionadas con la actividad agrícola. En este estudio, donde se evaluó la exposición tanto residencial como ocupacional, se encontró que las mujeres expuestas a clorpirifos (tanto residencial como ocupacionalmente) presentaban 3 veces más incidencia de cáncer de mama que aquellas mujeres sin exposición a clorpirifos.

Además de los estudios epidemiológicos, un grupo de investigadores argentinos se focalizó en estudiar los efectos del clorpirifos en relación al desarrollo del cáncer de mama en distintos modelos experimentales en el laboratorio (Ventura et al., 2012, 2015, 2016, 2019; Cocca et al., 2015). Se describieron los mecanismos de acción y el efecto del clorpirifos en líneas celulares derivadas de tejidos mamarios utilizadas para el estudio *in vitro* del cáncer de mama y en ratas como modelo experimental para el estudio *in vivo*. En estos estudios se utilizaron concentraciones de clorpirifos compatibles con las concentraciones a las que los humanos podrían estar normalmente expuestos (entre 0 y 50 μM). Se encontró que distintas dosis ejercían un efecto específico sobre las vías de señalización de las células y que dicho efecto, muchas veces, dependía de las características particulares del tipo celular en estudio, como la presencia o ausencia del receptor de estrógenos alfa (Cocca et al., 2015). También se evidenció que el clorpirifos actúa sobre el sistema redox y conduce al incremento de especies reactivas del oxígeno, lo cual también contribuye a la activación de distintas vías de señalización (Cocca et al., 2015). En ratas, se observó que la exposición crónica a bajas dosis de clorpirifos altera el balance hormonal modulando la acción de los estrógenos (función como disruptor endocrino), altera el desarrollo de la glándula mamaria (mayor número de ductos y estructuras alveolares) y aumenta la incidencia de lesiones benignas en la glándula mamaria (Ventura et al., 2016). Este estudio, publicado en 2016, no asocia la exposición a clorpirifos con el desarrollo de cáncer de mama; sin embargo, otro estudio de los mismos autores publicado en 2019 muestra que el efecto de la exposición crónica de ratas a clorpirifos en presencia de N-Nitroso-N-Metilurea, un agente tumorigénico para cáncer de mama, aumenta la incidencia de tumores y disminuye el período de latencia de la aparición de los mismo comparado con ratas tratadas solo con NMU (Ventura et al., 2019). Asimismo, los tumores provenientes de ratas expuestas a clorpirifos y N-Nitroso-N-Metilurea mostraron una tendencia a reducir la cantidad de células que expresan el receptor a estrógenos alfa y los receptores de progesterona, pero no una mayor tasa de crecimiento. Estos resultados indicarían que los efectos del clorpirifos estarían relacionados con la fase de iniciación del cáncer de mama y que dichos efectos dependerían de la existencia de otros factores que contribuyen al desarrollo del cáncer de mama. Este resultado es de mucho interés porque indicaría que el clorpirifos puede afectar diferencialmente a personas con distintas condiciones previas o en contacto con otros compuestos tóxicos, lo cual amplía el abanico de efectos negativos sobre el desarrollo de cáncer en humanos.

4.6.3.2 Cáncer de próstata y colorrectal

Respecto al cáncer de próstata, se analizó la incidencia entre granjeros de los estados de Iowa y Carolina del Norte (Alavanja et al., 2003). En este estudio se detectó que la exposición de 55.332 granjeros a clorpirifos no tuvo una mayor incidencia entre quienes no tenían historia familiar de cáncer de próstata, pero sí tuvo una mayor incidencia entre granjeros con historia familiar (OR= 1,65; 95% IC: 1,02; 2,66). Este

resultado también refuerza el mayor efecto negativo de la exposición a clorpirifos cuando otras variables intervienen en las causas.

Por otro lado, en otros trabajos se analizó la incidencia del uso de distintos plaguicidas en el desarrollo del cáncer colorrectal (estudio AHS) (Lee et al., 2007, 2004), se seleccionó una subpoblación de granjeros sin historia previa relacionada al cáncer colorrectal. Dentro de la población más expuesta, el uso de clorpirifos mostró una tendencia ($p=0,008$) para la mayor incidencia de cáncer rectal (incremento de 2,7 veces) (Lee et al., 2007). La edad y el consumo de cigarrillos fueron dos factores que contribuyeron a una mayor incidencia de cáncer colorrectal entre los agroaplicadores estudiados en este subestudio del AHS.

4.6.3.3 Cáncer de pulmón

Se evaluó la incidencia de cáncer de pulmón entre 57.284 aplicadores de plaguicidas y 32.333 esposas de aplicadores sin previa relación con cáncer de pulmón al momento del enrolamiento (Alavanja et al., 2004a), entre el periodo de enrolamiento (1993-1997) y diciembre de 2001, teniendo en consideración el consumo de cigarrillos y la edad de la población en estudio. La evaluación mostró que los agroaplicadores, en su mayoría granjeros, tuvieron menor riesgo de desarrollar cáncer de pulmón comparado con la población en general. Este resultado puede deberse al menor consumo de cigarrillos por parte de los agroaplicadores. En relación a los plaguicidas, el clorpirifos mostró cierta relación entre la exposición y la incidencia de cáncer de pulmón que no puede ser explicada por factores de riesgo previamente identificados en la población de estudio. Otro estudio del mismo año y también parte del AHS mostró la incidencia de distintos tipos de cáncer, entre ellos el de pulmón, frente a la exposición de clorpirifos (Lee et al., 2004). En este estudio se evaluaron dos variables de exposición, una contemplando la cantidad de años y la cantidad de días de aplicación por año y otra contemplando la cantidad de años, la cantidad de días de aplicación por año y la intensidad de la exposición. La mayor incidencia de cáncer de pulmón de personas expuestas a clorpirifos fue significativa para estas dos variables de exposición ($p=0,002$; $p=0,036$). Además, luego de ajustar los valores en relación al uso de otros plaguicidas y a factores demográficos, los individuos con más de 56 días de exposición a clorpirifos (cuartil de mayor exposición) mostraron un riesgo a desarrollar cáncer de pulmón 2,18 veces mayor comparado con aquellos que no estuvieron expuestos a clorpirifos. Hay que tener en cuenta que, si bien este estudio evaluó 54.383 agroaplicadores, el número de casos de cáncer de pulmón fue de 126 casos para agroaplicadores no expuestos a clorpirifos y 75 casos para agroaplicadores expuestos a clorpirifos. Por lo tanto, los autores de este estudio indican la necesidad de estudiar en mayor profundidad la relación entre la exposición a clorpirifos y el desarrollo de este tipo de cáncer.

4.6.3.4 Linfoma de Hodgkin

En un estudio realizado en Canadá, se compararon 316 casos de Linfoma de Hodgkin con 1506 casos controles (Karunanayake et al., 2012). La exposición a clorpirifos junto con la historia familiar previa de cáncer y diagnóstico previo de acné o herpes zóster se identificaron como factores asociados a un mayor riesgo. Los autores consideran que la asociación del riesgo de Linfoma de Hodgkin entre granjeros debe ser tomada con precaución y que son necesarios más estudios para llegar a una conclusión robusta.

4.7 Inmunotoxicidad

La inmunotoxicidad está relacionada con la capacidad de un compuesto para alterar la respuesta inmune de un organismo. Dicha alteración implica un efecto adverso en el sistema inmune o en alguna de sus partes, lo cual puede afectar o no la resistencia inmunológica del organismo expuesto al compuesto. Se pueden considerar alteraciones que supriman el sistema inmune exponiendo al individuo a un mayor riesgo frente a los agentes patógenos, o alteraciones que sobreactiven el sistema inmune, aumentando el riesgo de enfermedades autoinmunes del individuo (Galloway y Handy, 2003).

Los efectos sobre el sistema inmune se pueden dividir en 3 tipos:

- Inmunosupresión: cuando se afectan o dañan de manera directa las funciones, tejidos o células inmunes, esto implica una respuesta inmune reducida.
- Hipersensibilidad: cuando se genera una respuesta inmune exacerbada frente a un antígeno inocuo.
- Autoinmunidad: cuando el sistema inmune destruye células y tejidos propios del individuo por una disminución en la autotolerancia.

Los compuestos organofosforados, además de inhibir a la enzima AChE, pueden inhibir otras enzimas serina-hidrolasas como se ha mencionado previamente, y las esterasas, ambas de relevancia para el sistema inmune. Asimismo, el rol potencial de los organofosforados y del clorpirifos en particular sobre las cascadas de señalización intracelulares involucradas en la proliferación y diferenciación celular, o su efecto sobre el daño oxidativo a células o tejidos del sistema inmunológico, o indirectamente a través de su efecto sobre las funciones del sistema nervioso, resultan de interés también por su capacidad de afectar el desarrollo y la función del sistema inmunológico (Galloway y Handy, 2003).

No hay muchos estudios epidemiológicos en los cuales se pueda asociar de manera inequívoca el efecto negativo sobre el sistema inmune y la exposición crónica a compuestos organofosforados (Galloway y Handy, 2003; Corsini et al., 2013, 2008). Según estos autores, la mayoría de los estudios epidemiológicos evaluaron la exposición a compuestos organofosforados de los aplicadores de plaguicidas como población de estudio, hallando alteraciones de la actividad inmune en aquellos trabajadores constantemente expuestos y, además, algunos estudios asociaron la exposición con un aumento en las reacciones alérgicas como urticaria y asma. Sin embargo, se considera que los estudios epidemiológicos son inadecuados para concluir

que el riesgo inmunotóxico observado está asociado indiscutiblemente con la exposición a plaguicidas (Corsini et al., 2013).

Respecto a los estudios en el laboratorio, en la mayoría de los modelos experimentales para el estudio de la inmunotoxicidad de organofosforados y clorpirifos en mamíferos se ha detectado una disminución en las funciones del sistema inmune cuando los organismos se exponen de manera aguda a altas concentraciones de tóxicos (concentraciones equiparables a la necesaria para inducir síntomas neurotóxicos y/o para inhibir a la enzima acetilcolinesterasa). Por otro lado, el aumento de la actividad inmune se asocia a la exposición crónica a concentraciones más bajas de dichos tóxicos (concentraciones testeadas equivalentes a dosis no-colinérgicas) (Galloway y Handy, 2003). Algunos estudios han abordado la evaluación de los efectos inmunotóxicos de los compuestos organofosforados y del clorpirifos mediante estudios *in vivo* con roedores o *in vitro* con cultivos celulares. Un estudio publicado en 1999 mostró que la administración de clorpirifos 5 mg/kg 2 veces por semana durante un período de 28 días en ratas, afectó la proliferación dependiente de mitógenos de células T y alteró las proporciones de las subpoblaciones de células T (aumento de las subpoblaciones de células T CD5 y CD8). En este trabajo no se detectaron diferencias en otras funciones del sistema inmune entre ratas tratadas con clorpirifos y ratas control (Galloway y Handy, 2003).

Otro grupo de investigadores administraron 1 mg/kg/día de clorpirifos durante 4 días a ratas recién nacidas y no observaron cambios en la proliferación dependiente de mitógenos de linfocitos T en cultivos de esplenocitos aislados al quinto día de vida (Navarro et al., 2001). Sin embargo, estos investigadores sí encontraron diferencias en la proliferación dependiente de mitógenos de linfocitos T una vez que las ratas tratadas con clorpirifos alcanzaron la edad adulta (cultivos de esplenocitos aislados a los 60 días de vida). Estos autores sugieren que la exposición temprana a clorpirifos puede afectar el desarrollo del sistema inmune a largo plazo, posiblemente mediante el efecto sobre el desarrollo del sistema nervioso (Navarro et al., 2001). Conclusiones similares respecto a la exposición temprana a clorpirifos y su asociación a fallas inmunológicas fueron descriptas también en ratones (Singh et al., 2013). En este trabajo se trataron ratones con 0; 0,3 o 3 mg/kg/día de clorpirifos desde el día gestacional 12 hasta el día 47 posnatal. Una semana luego de finalizado el tratamiento se analizó el efecto inmunotóxico de la exposición a clorpirifos y se observaron diferencias en los porcentajes de linfocitos T en respuesta al tratamiento con clorpirifos (aumento de linfocitos T totales, linfocitos T CD8+ y linfocitos T regulatorios); a su vez, dicha diferencia fue más marcada en hembras. Asimismo, se observó una disminución en la proliferación de linfocitos T estimulada por mitógenos, en la producción de citoquinas (INF γ , TNF- α , IL-6) en esplenocitos estimulados con lipopolisacárido y en la producción de anticuerpos IgM contra glóbulos rojos de oveja. Este trabajo refuerza el efecto inmunotóxico del clorpirifos cuando la exposición se da durante el periodo de desarrollo del sistema inmune (Singh et al., 2013).

Estudios *in vitro* de cultivo celular, comparando los efectos sobre el sistema inmune de dos insecticidas organofosforados, clorpirifos y diazinón, mostraron diferencias en el efecto cuando se compararon las mismas concentraciones de uno y otro compuesto (Oostingh et al., 2009). El modelo experimental utilizado fueron células de linfoma de células T (células Jurkat, linfocitos T humanos inmortalizados), las cuales fueron tratadas con clorpirifos y Diazinón en presencia o ausencia de agentes estresores (TNF- α humano recombinante o fitohemaglutinina, PHA) para imitar la estimulación del sistema inmune. En este estudio, la concentración de clorpirifos que resultó inmunotóxica (menor producción de citoquinas) fue de 250 μ M, bastante mayor al rango al que suelen estar expuestos los humanos de manera crónica, los cuales varían entre 0 y 50 μ M. Un punto importante que se describe en este estudio es que el modelo *in vitro* en donde se imita un sistema inmune estimulado, los efectos inmunotóxicos fueron mayores. Además, pone en evidencia que los estudios sobre el efecto de los insecticidas organofosforados, cuando no son específicos para clorpirifos, pueden no ser representativos.

4.8 Genotoxicidad

Se entiende por genotoxicidad a la capacidad de un agente de dañar el material genético, originando efectos biológicos adversos. La capacidad genotóxica de los agentes se puede estudiar por distintos ensayos toxicológicos, que permiten determinar la aparición de mutaciones genéticas, aberraciones cromosómicas, síntesis de ADN no programada, etc. Existen distintos test que permiten medir en el laboratorio el potencial genotóxico y/o las alteraciones genotóxicas producidas por la exposición a un agente, como el test de AMES, intercambio de cromátides hermanas, mutación en células de mamífero *in vitro*, electroforesis en gel de células individuales (ensayo Cometa), aberraciones cromosómicas, test del micronúcleo.

En julio de 2019, la Comisión Europea solicitó a la European Food Safety Authority (EFSA) que proporcionara una declaración sobre los resultados disponibles de la evaluación de la salud humana en el contexto de la revisión por pares de plaguicidas para la renovación de la aprobación de la sustancia activa clorpirifos. El informe presentó las siguientes consideraciones sobre la posible genotoxicidad del clorpirifos (European Food Safety Authority, 2019):

- Mutación genética: los expertos consideraron que los resultados de los seis ensayos de mutaciones génicas bacterianas y tres de mamíferos mostraron en general que el clorpirifos no induce mutaciones genéticas *in vitro*.
- Aberración cromosómica: el clorpirifos tampoco se consideró capaz de inducir aberración cromosómica *in vitro*. Se presentaron cuatro estudios: aunque tres de ellos tenían algunas limitaciones metodológicas y, por lo tanto, se consideraron aceptables con reservas (uno de estos tres estudios arrojó resultados positivos), el cuarto se consideró totalmente aceptable y arrojó resultados negativos.
- Síntesis de ADN no programada: se presentaron seis estudios *in vitro* de los cuales dos dieron resultados positivos; los dos estudios positivos se consideraron aceptables como información adicional y se obtuvieron de una publicación bien documentada (Cui et al., 2011).

- Estudios *in vivo* en células somáticas (test de micronúcleos de médula ósea de ratón): los cinco estudios disponibles en los expedientes y evaluados, mostraron consistentemente resultados negativos.

No obstante, hay publicaciones disponibles para clorpirifos que informan sobre aberraciones cromosómicas *in vivo* (Abdelaziz et al., 2010) y daño al ADN en ensayos Cometa tanto *in vitro* como *in vivo* (Cui et al., 2011; Sandhu et al., 2013; Kopjar et al., 2018; Mehta et al., 2008). Tanto la exposición aguda como crónica a clorpirifos, metil paratión y malatión causaron daños significativamente marcados en el ADN de los tejidos de ratas, a saber, hígado, cerebro, riñón y bazo, cuando se miden 24 horas después del tratamiento (Ojha et al., 2013).

Todos los expertos de la EFSA coincidieron en que no se pueden ignorar las preocupaciones observadas en los estudios de la literatura pública y que no se puede descartar un potencial genotóxico para el clorpirifos. La EFSA señala que se ha informado que otros organofosforados causan daños en el ADN; el clorpirifos y el fentión inducen estrés oxidativo que da como resultado daño tisular y nuclear. Se ha demostrado que el diazinón provoca acciones inhibitoras inmediatas y directas sobre la síntesis de ADN (Ojha y Srivastava, 2014). Se ha informado que clorpirifos, metil paratión y malatión inducen estrés oxidativo que, a su vez, causa daño a todas las macromoléculas vitales, incluidos lípidos, proteínas y ADN. El daño oxidativo del ADN puede ir seguido de roturas de cadena simple y doble del ADN. Además, las especies oxidativas también pueden interactuar con moléculas biológicas para interrumpir la síntesis y reparación normales del ADN. Distintos trabajos han vinculado las alteraciones genotóxicas inducidas por la exposición a plaguicidas con el mecanismo inespecífico de toxicidad, estrés oxidativo y en algunos de los modelos estudiados sería el mecanismo subyacente al daño genotóxico. Algunos autores sugieren que el efecto genotóxico estaría mediado por la generación de estrés oxidativo determinado por la disminución de las actividades de AChE y glutatión peroxidasa y la modificación de las actividades de enzimas de la defensa antioxidante como superóxido dismutasa y catalasa. Esta información se halla en consonancia con distintos estudios en modelos experimentales, como el estudio de Ojha y Srivastava (2014), en el que encontraron un daño oxidativo significativo en el ADN y probaron que las lesiones del ADN fueron causadas por estrés oxidativo, utilizando las enzimas reparadoras de ADN formamidoaminopirimidinaglicosilasa y endonucleasa III, que convierten los daños de las bases en roturas de hebras. Se observaron aumentos significativos en las roturas de hebras y en los niveles del anión superóxido, de especies reactivas del oxígeno y el peróxido de hidrógeno en los linfocitos tratados con clorpirifos (Ojha y Srivastava, 2014). El daño al ADN y la formación de micronúcleos fueron significativos en los linfocitos de rata después de una exposición oral de 7 y 14 días a una dosis de 12 mg/kg de peso corporal, y fue más pronunciado en las ratas macho que en las hembras (Sandhu et al., 2013). En otro estudio realizado en ratas Wistar, se evaluaron los efectos del clorpirifos administrado por vía oral a ratas Wistar en dosis de 0,160; 0,015 y 0,010 mg/kg por peso por día, encontrando aumentos significativos de la actividad de la glutatión peroxidasa y de la superóxido dismutasa en sangre y una genotoxicidad leve según el ensayo de Cometa, encontrando clorpirifos y su metabolito TCP en plasma y cerebro (Kopjar et al.,

2018). La aplicación subcutánea durante una semana de clorpirifos a dosis de 10 mg/kg de peso indujo daño al ADN en ratas (Muller et al., 2014). En otro trabajo se demostró la dependencia de la capacidad genotóxica *in vivo* de clorpirifos con la dosis, en leucocitos de ratones albinos suizos expuestos a dosis desde 0,28 a 8,96 mg/kg de peso corporal (Rahman et al., 2002). La administración de clorpirifos por intubación oral a ratas Wistar machos y hembras en dosis diarias de 3 y 12 mg/kg de peso corporal causó efectos genotóxicos en la población de linfocitos sanguíneos, con un aumento de células binucleadas y multinucleadas, y daño de ADN según el ensayo de Cometa, con mayor frecuencia en machos (Sandhu et al., 2013).

En otro estudio realizado en ratones macho que recibieron dosis orales de clorpirifos (0,5; 1 y 2 mg/kg de peso corporal) durante tres meses, se determinó un aumento significativo en la frecuencia de aberraciones cromosómicas totales tanto en células somáticas como en células germinales y una disminución significativa en el recuento de espermatozoides en relación con los grupos de control, con un aumento significativo en las anomalías de la cabeza y la cola de los espermatozoides (Abdelaziz et al., 2010). En otro estudio en ratas expuestas en forma oral aguda o crónica a clorpirifos se determinó que ambos tipos de exposición provoca un aumento dependiente de la dosis en el daño del ADN del hígado y cerebro de las ratas (Mehta et al., 2008). También se encuentran disponibles estudios en modelos animales utilizando formulados comerciales de clorpirifos, en los cuales se analizó el daño genotóxico. La exposición subaguda de ratas macho al formulado comercial Supreme® 480 g/l por vía oral, con 3,1 mg/kg de peso corporal o 6,2 mg/kg de peso corporal durante 4 semanas, causó un aumento del porcentaje de micronúcleos y de daño de ADN (Ezzi et al., 2016). La exposición de ratones albinos suizos al formulado comercial Radar 20% concentrado emulsificable en forma oral durante 60 días causó una generación significativamente alta de especies reactivas de oxígeno, con aumentos significativos de las aberraciones cromosómicas (Chauhan et al., 2016). Estos resultados corroboran que la generación de ROS puede ser la principal causa de genotoxicidad, perturbaciones del ciclo celular y apoptosis.

Existen también trabajos que desarrollaron modelos de exposición a clorpirifos en cultivos celulares *in vitro* que avalan los resultados en modelos experimentales *in vivo*. Se demostró que el clorpirifos aumenta la frecuencia de cometas y disminuye el porcentaje de metilación del DNA en los hepatocitos de ratón ICR (Cui et al., 2011). En linfocitos humanos expuestos *in vitro*, el clorpirifos indujo un daño significativo en el ADN de una manera dependiente de la dosis (Vindas et al., 2004). La capacidad de inducción por clorpirifos de daño primario al ADN también se demostró en células de espermatozoides humanos, encontrando que clorpirifos-oxón tiene más capacidad genotóxica (Salazar-Arredondo et al., 2008). En otro trabajo se analizaron comparativamente mezclas de plaguicidas incluyendo clorpirifos, exponiendo linfocitos de sangre periférica humana en cultivos, observando daño del ADN y aberraciones cromosómicas en forma sinérgica para la combinación con el organoclorado endosulfán (Sultana Shaik et al., 2016).

Es importante reconocer que tanto en la exposición ambiental como en la ocupacional nos encontramos expuestos a mezclas de distintos plaguicidas, por lo que los estudios en el contexto de co-exposición probablemente representen un escenario más realista. En un trabajo sobre la exposición ocupacional a agroquímicos en Córdoba, Argentina, se analizó la aparición de marcadores de genotoxicidad en sangre de aplicadores de plaguicidas, encontrando un aumento de aberraciones cromosómicas, micronúcleos y daño en el ADN, asociándolo a la exposición de 2 a 8 meses por año principalmente a glifosato, cipermetrina y clorpirifos (Aiassa et al., 2019). Otros estudios internacionales han vinculado la exposición ocupacional a plaguicidas y mezclas de plaguicidas que incluyen formulaciones de clorpirifos con la aparición de alteraciones genotóxicas como la inducción de micronúcleos. Un estudio sobre trabajadores ocupacionalmente expuestos a una mezcla de plaguicidas comúnmente usados, pirimifos metil, clorpirifos, temefos y malatión, demostró un incremento significativo de daños al ADN respecto a controles, encontrándose también signos de hepatotoxicidad y nefrotoxicidad (Singh et al., 2011). En un estudio realizado en Brasil sobre la presencia de daño genotóxico en trabajadores rurales de la producción de soja en el período de 2008 a 2015, se encontraron efectos significativos en este grupo respecto a controles durante el periodo de uso intensivo de plaguicidas que comprendió: herbicidas en 25,9%, fungicidas en un 22,4% e insecticidas en un 51,7% incluido el clorpirifos. Se observó en sangre y muestras bucales de los trabajadores rurales un aumento significativo de daño oxidativo sobre el ADN, la eliminación de material nuclear por gemación, citocinesis defectuosa y células muertas, e hipermetilación genómica del ADN que se correlacionó con la frecuencia de aparición de micronúcleos. Estos datos indican que la inestabilidad genética persistente asociada con la hipermetilación del ADN en los trabajadores de la soja después de una exposición prolongada a un nivel bajo de mezclas de plaguicidas puede ser clave para el desarrollo de efectos adversos para la salud como el cáncer (Benedetti et al., 2018).

En síntesis, existe evidencia de modelos experimentales en ratas y ratones, de exposiciones en modelos *in vitro* y en escenarios de exposiciones humana a mezclas complejas, que sugieren que clorpirifos poseería capacidad genotóxica.

4.9 Conclusiones

Estudios nacionales e internacionales demuestran que la exposición humana a clorpirifos puede ocurrir en distintos escenarios (ambiental, residencial, ocupacional) y por distintas vías. En una persona, todas estas exposiciones hacen a la carga total de clorpirifos en el cuerpo. Una vez en el organismo el clorpirifos puede causar una multiplicidad de efectos tóxicos dependiendo de los escenarios de exposición en forma aguda o crónica. Dentro de los efectos crónicos, la neurotoxicidad y el déficit neurocognitivo son algunos de los efectos evidenciados. En este sentido, la exposición de poblaciones vulnerables, incluida la que ocurre en el periodo prenatal, y los efectos en los niños es una gran preocupación para toda la comunidad científica.

4.10 Referencias

- Abdelaziz, K. B., El Makawy, A. I., Elsalam, A. Z. E.-A. A., & Darwish, A. M. 2010. Genotoxicity of Chlorpyrifos and the Antimutagenic Role of Lettuce Leaves in Male Mice. *Comunicata Scientiae*, 1(2), 137. <https://doi.org/10.14295/cs.v1i2.51>
- Agúndez, J.A.G., Jiménez-Jiménez, F.J., Luengo, A., Bernal, M.L., Molina, J.A., Ayuso, L., Vázquez, A., Parra, J., Duarte, J., Coria, F., Ladero, J.M., Alvarez, J.C., Benítez, J., 1995. Association between the oxidative polymorphism and early onset of Parkinson's disease. *Clin. Pharmacol. Ther.* 57, 291-298.
- Aiassa, D.E., Mañas, F.J., Gentile, N.E., Bosch, B., Salinero, M.C., Gorla, N.B.M., 2019. Evaluation of genetic damage in pesticides applicators from the province of Córdoba, Argentina. *Environmental science and pollution research international* 26, 20981-20988. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05344-2>
- Alavanja, M.C.R., Dosemeci, M., Samanic, C., Lubin, J., Lynch, C.F., Knott, C., Barker, J., Hoppin, J.A., Sandler, D.P., Coble, J., Thomas, K., Blair, A., 2004a. Pesticides and lung cancer risk in the agricultural health study cohort. *Am. J. Epidemiol.* 160, 876-885. <https://doi.org/10.1093/aje/kwh290>
- Alavanja, M.C.R., Hoppin, J.A., Kamel, F., 2004b. Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annual review of public health* 25, 155-197. <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.25.101802.123020>
- Alavanja, M.C.R., Samanic, C., Dosemeci, M., Lubin, J., Tarone, R., Lynch, C.F., Knott, C., Thomas, K., Hoppin, J.A., Barker, J., Coble, J., Sandler, D.P., Blair, A., 2003. Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the agricultural health study cohort. *Am. J. Epidemiol.* 157, 800-814. <https://doi.org/10.1093/aje/kwg040>
- Alavanja, M.C.R., Sandler, D.P., McMaster, S.B., Hoar Zahm, S., McDonnell, C.J., Lynch, C.F., Pennybacker, M., Rothman, N., Dosemeci, M., Bond, A.E., Blair, A., 1996. The agricultural health study. *Environ. Health Perspect.* 104, 362-369. <https://doi.org/10.1289/ehp.96104362>
- Albasher, G., Almeer, R., Al-Otibi, F.O., Al-Kubaisi, N., Mahmoud, A.M., 2019. Ameliorative effect of Beta vulgaris root extract on chlorpyrifos-induced oxidative stress, inflammation and liver injury in rats. *Biomolecules* 9. <https://doi.org/10.3390/biom9070261>
- Aldridge, J.E., Levin, E.D., Seidler, F.J., Slotkin, T.A., 2005a. Developmental exposure of rats to chlorpyrifos leads to behavioral alterations in adulthood, involving serotonergic mechanisms and resembling animal models of depression. *Environmental health perspectives* 113, 527-531. <https://doi.org/10.1289/ehp.7867>
- Aldridge, J.E., Meyer, A., Seidler, F.J., Slotkin, T.A., 2005b. Alterations in central nervous system serotonergic and dopaminergic synaptic activity in adulthood after prenatal or neonatal chlorpyrifos exposure. *Environ. Health Perspect.* 113, 1027-1031.
- Alvarez, M., du Mortier, C., Jaureguiberry, S., Venturino, A., 2019. Joint probabilistic analysis of risk for aquatic species and exceedence frequency for the agricultural use of chlorpyrifos in the Pampean Region, Argentina. *Environmental toxicology and chemistry* 38, 1748-1755. <https://doi.org/10.1002/etc.4441>
- Amaral, A.F.S., 2014. Pesticides and asthma: challenges for epidemiology. *Frontiers in public health* 2, 6. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00006>
- Ames, R.G., Brown, S.K., Mengle, D.C., Kahn, E., Stratton, J.W., Jackson, R.J., 1989. Cholinesterase activity depression among California agricultural pesticide applicators. *American journal of industrial medicine* 15, 143-150. <https://doi.org/10.1002/ajim.4700150203>
- Anderson, S.E., Meade, B.J., 2014. Potential health effects associated with dermal exposure to occupational chemicals. *Environmental health insights* 8, 51-62. <https://doi.org/10.4137/EHI.S15258>
- Aprea, C., Sciarra, G., Sartorelli, P., Sartorelli, E., Strambi, F., Farina, G.A., Fattorini, A., 1997. Biological monitoring of exposure to chlorpyrifos-methyl by assay of urinary alkylphosphates and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol. *Journal of toxicology and environmental health* 50, 581-594. <https://doi.org/10.1080/15287399709532056>
- Arcury, T.A., Grzywacz, J.G., Davis, S.W., Barr, D.B., Quandt, S.A., 2006. Organophosphorus pesticide urinary metabolite levels of children in farmworker households in eastern North Carolina. *American journal of industrial medicine* 49, 751-760. <https://doi.org/10.1002/ajim.20354>
- Armstrong, J.L., Fenske, R.A., Yost, M.G., Galvin, K., Tchong-French, M., Yu, J., 2013. Presence of organophosphorus pesticide oxygen analogs in air samples. *Atmospheric environment (Oxford, England: 1994)* 66, 145-150. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.06.087>
- Atabila, A., Phung, D.T., Hogarh, J.N., Osei-Fosu, P., Sadler, R., Connell, D., Chu, C., 2017. Dermal exposure of applicators to chlorpyrifos on rice farms in Ghana. *Chemosphere* 178, 350-358. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.062>

- Atabila, A., Sadler, R., Phung, D. T., Hogarh, J. N., Carswell, S., Turner, S., ... Chu, C. 2018. Biomonitoring of chlorpyrifos exposure and health risk assessment among applicators on rice farms in Ghana. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(21), 20854–20867. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2259-9>
- Babazadeh, M., Najafi, G. 2017. Effect of chlorpyrifos on sperm characteristics and testicular tissue changes in adult male rats. *Veterinary Research Forum*, 8(4), 319. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
- Bayrami, M., Hashemi, T., Malekiran, A.A., Ashayeri, H., Faraji, F., Abdollahi, M., 2012. Electroencephalogram, cognitive state, psychological disorders, clinical symptom, and oxidative stress in horticulture farmers exposed to organophosphate pesticides. *Toxicology and industrial health* 28, 90–96. <https://doi.org/10.1177/0748233711407243>
- Beard, J.D., Umbach, D.M., Hoppin, J.A., Richards, M., Alavanja, M.C.R., Blair, A., Sandler, D.P., Kamel, F., 2014. Pesticide exposure and depression among male private pesticide applicators in the agricultural health study. *Environmental health perspectives* 122, 984–991. <https://doi.org/10.1289/ehp.1307450>
- Bedos, C., Cellier, P., Calvet, R., Barriuso, E., Gabrielle, B., 2002. Mass transfer of pesticides into the atmosphere by volatilization from soils and plants: overview. *Agronomie* 22, 21–33.
- Belsey, N.A., Cordery, S.F., Bunge, A.L., Guy, R.H., 2011. Assessment of dermal exposure to pesticide residues during re-entry. *Environmental science & technology* 45, 4609–4615. <https://doi.org/10.1021/es200172q>
- Benedetti, D., Lopes Alderete, B., de Souza, C.T., Ferraz Dias, J., Niekraszewicz, L., Cappetta, M., Martínez-López, W., da Silva, J., 2018. DNA damage and epigenetic alteration in soybean farmers exposed to complex mixture of pesticides. *Mutagenesis* 33, 87–95. <https://doi.org/10.1093/mutage/gex035>
- Berenstein, G., Nasello, S., Beiguel, É., Flores, P., di Schiena, J., Basack, S., Hughes, E.A., Zalts, A., Montserrat, J.M., 2017. Human and soil exposure during mechanical chlorpyrifos, myclobutanil and copper oxychloride application in a peach orchard in Argentina. *The Science of the total environment* 586, 1254–1262. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.129>
- Berkowitz, G.S., Wetmur, J.G., Birman-Deych, E., Obel, J., Lapinski, R.H., Godbold, J.H., Holzman, I.R., Wolff, M.S., 2004. In utero pesticide exposure, maternal paraoxonase activity, and head circumference. *Environmental health perspectives* 112, 388–391. <https://doi.org/10.1289/ehp.6414>
- Blanco, L.E., Aragón, A., Lundberg, I., Lidén, C., Wesseling, C., Nise, G., 2005. Determinants of dermal exposure among Nicaraguan subsistence farmers during pesticide applications with backpack sprayers. *The Annals of occupational hygiene* 49, 17–24. <https://doi.org/10.1093/annhyg/meh084>
- Bonner, M.R., Coble, J., Blair, A., Beane Freeman, L.E., Hoppin, J.A., Sandler, D.P., Alavanja, M.C.R., 2007. Malathion exposure and the incidence of cancer in the agricultural health study. *American journal of epidemiology* 166, 1023–1034. <https://doi.org/10.1093/aje/kwm182>
- Bouchard, M.F., Bellinger, D.C., Wright, R.O., Weisskopf, M.G., 2010. Attention-deficit/hyperactivity disorder and urinary metabolites of organophosphate pesticides. *Pediatrics* 125, e1270–e1277.
- Bouchard, M.F., Chevrier, J., Harley, K.G., Kogut, K., Vedar, M., Calderon, N., Trujillo, C., Johnson, C., Bradman, A., Barr, D.B., Eskenazi, B., 2011. Prenatal exposure to organophosphate pesticides and IQ in 7-year-old children. *Environ. Health Perspect.* 119, 1189–1195.
- Bouvier, G., Blanchard, O., Momas, I., Seta, N., 2006. Pesticide exposure of non-occupationally exposed subjects compared to some occupational exposure: a French pilot study. *The Science of the total environment* 366, 74–91. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.08.016>
- Bradman, A., Barr, D.B., Claus Henn, B.G., Drumheller, T., Curry, C., Eskenazi, B., 2003. Measurement of pesticides and other toxicants in amniotic fluid as a potential biomarker of prenatal exposure: a validation study. *Environmental health perspectives* 111, 1779–1782. <https://doi.org/10.1289/ehp.6259>
- Bradman, A., Whitaker, D., Quirós, L., Castorina, R., Claus Henn, B., Nishioka, M., Morgan, J., Barr, D.B., Harnly, M., Brisbin, J.A., Sheldon, L.S., McKone, T.E., Eskenazi, B., 2007. Pesticides and their metabolites in the homes and urine of farmworker children living in the Salinas Valley, CA. *Journal of exposure science & environmental epidemiology* 17, 331–349. <https://doi.org/10.1038/sj.jes.7500507>
- Bradman, M.A., Harnly, M.E., Draper, W., Seidel, S., Teran, S., Wakeham, D., Neutra, R., 1997. Pesticide exposures to children from California's Central Valley: results of a pilot study. *Journal of exposure analysis and environmental epidemiology* 7, 217–234.
- Brahmand, M.B., Yunesian, M., Nabizadeh, R., Nasser, S., Alimohammadi, M., Rastkari, N., 2019. Evaluation of chlorpyrifos residue in breast milk and its metabolite in urine of mothers and their infants feeding

- exclusively by breast milk in north of Iran. *Journal of environmental health science & engineering* 17, 817–825. <https://doi.org/10.1007/s40201-019-00398-3>
- Braquenier, J.-B., Quertemont, E., Tirelli, E., Plumier, J.-C., 2010. Anxiety in adult female mice following perinatal exposure to chlorpyrifos. *Neurotoxicology and teratology* 32, 234–239. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2009.08.008>
- Buescher, A.V.S., Cidav, Z., Knapp, M., Mandell, D.S., 2014. Costs of Autism Spectrum Disorders in the United Kingdom and the United States. *JAMA Pediatr.* 168, 721.
- Bulgaroni, V., Rovedatti, M.G., Sabino, G., Magnarelli, G., 2012. Organophosphate pesticide environmental exposure: Analysis of salivary cholinesterase and carboxylesterase activities in preschool children and their mothers. *Environmental Monitoring and Assessment* 184, 3307–3314. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2190-8>
- Burke, R.D., Todd, S.W., Lumsden, E., Mullins, R.J., Mamczarz, J., Fawcett, W.P., Gullapalli, R.P., Randall, W.R., Pereira, E.F.R., Albuquerque, E.X., 2017. Developmental neurotoxicity of the organophosphorus insecticide chlorpyrifos: from clinical findings to preclinical models and potential mechanisms. *Journal of neurochemistry* 142 Suppl, 162–177. <https://doi.org/10.1111/jnc.14077>
- Butinof, M., Fernández, R., Muñoz, S., Lerda, D., Blanco, M., Lantieri, M.J., Antolini, L., Gieco, M., Ortiz, P., Filippi, I., Franchini, G., Eandi, M., Montedoro, F., Díaz, M. del P., 2017. Valoración de la exposición a plaguicidas en cultivos extensivos de Argentina y su potencial impacto sobre la salud. *Rev. Argentina Salud Pública* 8, 8-15.
- Butler-Dawson, J., Galvin, K., Thorne, P.S., Rohlman, D.S., 2016. Organophosphorus pesticide exposure and neurobehavioral performance in Latino children living in an orchard community. *Neurotoxicology* 53, 165–172. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2016.01.009>
- Butler-Dawson, J., Galvin, K., Thorne, P.S., Rohlman, D.S., 2018. Organophosphorus pesticide residue levels in homes located near orchards. *Journal of occupational and environmental hygiene* 15, 847–856. <https://doi.org/10.1080/15459624.2018.1515489>
- Caffarelli, V., Conte, E., Correnti, A., Gatti, R., Musmeci, F., Morali, G., Spagnoli, G., Tranfo, G., Triolo, L., Vita, M., Zappa, G., 2004. Pesticides re-entry dermal exposure of workers in greenhouses. *Communications in agricultural and applied biological sciences* 69, 733–742.
- Callahan, C. L., Hamad, L. A., Olson, J. R., Ismail, A. A., Abdel-Rasoul, G., Hendy, O., ... Bonner, M. R. 2017. Longitudinal assessment of occupational determinants of chlorpyrifos exposure in adolescent pesticide workers in Egypt. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 220(8), 1356–1362. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2017.09.006>
- Callahan, C.L., Al-Batanony, M., Ismail, A.A., Abdel-Rasoul, G., Hendy, O., Olson, J.R., Rohlman, D.S., Bonner, M.R. 2014. Chlorpyrifos exposure and respiratory health among adolescent agricultural workers. *Int J Environ Res Public Health* 16; 11(12):13117-29. <https://doi.org/10.3390/ijerph111213117>
- Canesi, L., Negri, A., Barmo, C., Banni, M., Gallo, G., Viarengo, A., & Dondero, F. 2011. The organophosphate Chlorpyrifos interferes with the responses to 17 β -estradiol in the digestive gland of the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. *PLoS One*, 6(5), e19803.
- Carrano, A.V., Natarajan, A.T., 1988. International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens. ICPEMC publication no. 14. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutation research* 204, 379–406. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(88\)90036-5](https://doi.org/10.1016/0165-1218(88)90036-5)
- Casida, J.E., Quistad, G.B., 2005. Serine hydrolase targets of organophosphorus toxicants. *Chem. Biol. Interact.* 157–158, 277–283.
- Cattani, M., Cena, K., Edwards, J., Pisaniello, D., 2001. Potential dermal and inhalation exposure to chlorpyrifos in Australian pesticide workers. *The Annals of occupational hygiene* 45, 299–308.
- Cecchi, A., Rovedatti, M.G., Sabino, G., Magnarelli, G.G., 2012. Environmental exposure to organophosphate pesticides: Assessment of endocrine disruption and hepatotoxicity in pregnant women. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 80, 280–287. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.03.008>
- California DPR, 2018. Final toxic air contaminant evaluation of chlorpyrifos. https://www.cdpr.ca.gov/docs/whs/pdf/chlorpyrifos_final_tac.pdf
- Chauhan, L.K.S., Varshney, M., Pandey, V., Sharma, P., Verma, V.K., Kumar, P., Goel, S.K., 2016. ROS-dependent genotoxicity, cell cycle perturbations and apoptosis in mouse bone marrow cells exposed to formulated mixture of cypermethrin and chlorpyrifos. *Mutagenesis* 31, 635–642. <https://doi.org/10.1093/mutage/gew031>

- Choi, H., Moon, J.-K., Kim, J.-H., 2013. Assessment of the exposure of workers to the insecticide imidacloprid during application on various field crops by a hand-held power sprayer. *Journal of agricultural and food chemistry* 61, 10642–10648. <https://doi.org/10.1021/jf403169t>
- Christensen, D.L., Braun, K.V.N., Baio, J., Bilder, D., Charles, J., Constantino, J.N., Daniels, J., Durkin, M.S., Fitzgerald, R.T., Kurzius-Spencer, M., Lee, L.-C., Pettygrove, S., Robinson, C., Schulz, E., Wells, C., Wingate, M.S., Zahorodny, W., Yeargin-Allsopp, M., 2018. Prevalence and characteristics of Autism Spectrum Disorder among children aged 8 years — Autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2012. *MMWR. Surveill. Summ.* 65, 1–23.
- Clavijo, H., Mauricio C., Gutierrez de Salazar M., 2005. Enfoque del paciente con intoxicación aguda por plaguicidas organofosforados. *Revista de la Facultad de Medicina*, 53(4), 244-258.
- Cocca, C., Ventura, C., Nunez, M., Randi, A., Venturino, A., 2015. El organofosforado clorpirifos como disruptor estrogénico y factor de riesgo para el cáncer de mama. *Acta Toxicol. Argent.* 23, 142-152.
- Colović, M.B., Krstić, D.Z., Lazarević-Pašti, T.D., Bondžić, A.M., Vasić, V.M., 2013. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Current neuropharmacology* 11, 315–335. <https://doi.org/10.2174/1570159X11311030006>
- Corsini, E., Liesivuori, J., Vergieva, T., Van Loveren, H., Colosio, C., 2008. Effects of pesticide exposure on the human immune system. *Hum. Exp. Toxicol.* 27, 671-680. <https://doi.org/10.1177/0960327108094509>
- Corsini, E., Sokooti, M., Galli, C.L., Moretto, A., Colosio, C., 2013. Pesticide induced immunotoxicity in humans: A comprehensive review of the existing evidence. *Toxicology* 307, 123-135. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.10.009>
- Coscollà, C., Colin, P., Yahyaoui, A., Petrique, O., Yusà, V., Mellouki, A., Pastor, A., 2010. Occurrence of currently used pesticides in ambient air of Centre Region (France). *Atmospheric Environment* 44, 3915–3925.
- Costa, L.G., 2006. Current issues in organophosphate toxicology. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 366, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.10.008>
- Coulston F, Golberg L, Abraham R, et al. 1972. final report on safety evaluation and metabolic studies on Dow co. 179(IN151). *Inst Exp Pathol Toxicol*, Albany Medical College.
- Cui, Y., Guo, J., Xu, B., Chen, Z., 2011. Genotoxicity of chlorpyrifos and cypermethrin to ICR mouse hepatocytes. *Toxicology mechanisms and methods* 21, 70–74. <https://doi.org/10.3109/15376516.2010.529192>
- Curl, C.L., Fenske, R.A., Kissel, J.C., Shirai, J.H., Moate, T.F., Griffith, W., Coronado, G., Thompson, B., 2002. Evaluation of take-home organophosphorus pesticide exposure among agricultural workers and their children. *Environmental health perspectives* 110, A787–92. <https://doi.org/10.1289/ehp.021100787>
- Curwin, B.D., Hein, M.J., Sanderson, W.T., Nishioka, M.G., Reynolds, S.J., Ward, E.M., Alavanja, M.C., 2005. Pesticide contamination inside farm and nonfarm homes. *Journal of occupational and environmental hygiene* 2, 357–367. <https://doi.org/10.1080/15459620591001606>
- Curwin, B.D., Hein, M.J., Sanderson, W.T., Striley, C., Heederik, D., Kromhout, H., Reynolds, S.J., Alavanja, M.C., 2007a. Pesticide dose estimates for children of Iowa farmers and non-farmers. *Environmental research* 105, 307–315. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2007.06.001>
- Curwin, B.D., Hein, M.J., Sanderson, W.T., Striley, C., Heederik, D., Kromhout, H., Reynolds, S.J., Alavanja, M.C., 2007b. Urinary pesticide concentrations among children, mothers and fathers living in farm and non-farm households in Iowa. *The Annals of occupational hygiene* 51, 53–65. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mel062>
- Dallegrave, A., Pizzolato, T.M., Barreto, F., Bica, V.C., Eljarrat, E., Barceló, D., 2018. Residue of insecticides in foodstuff and dietary exposure assessment of Brazilian citizens. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 115, 329–335. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.03.028>
- Damalas, C.A., Eleftherohorinos, I.G., 2011. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International journal of environmental research and public health* 8, 1402–1419. <https://doi.org/10.3390/ijerph8051402>
- Das, S., Hageman, K.J., Taylor, M., Michelsen-Heath, S., Stewart, I., 2020. Fate of the organophosphate insecticide, chlorpyrifos, in leaves, soil, and air following application. *Chemosphere* 243, 125194. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125194>

- de Cock, M., Maas, Y. G. H., & van de Bor, M. 2012. Does perinatal exposure to endocrine disruptors induce autism spectrum and attention deficit hyperactivity disorders? Review. *Acta Paediatrica*, 101(8), 811–818. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2012.02693.x>
- de Felice, A., Greco, A., Calamandrei, G., Minghetti, L., 2016. Prenatal exposure to the organophosphate insecticide chlorpyrifos enhances brain oxidative stress and prostaglandin E2 synthesis in a mouse model of idiopathic autism. *Journal of neuroinflammation* 13, 149. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0617-4>
- Deveci, H.A., Karapehliyan, M. 2018. Chlorpyrifos-induced parkinsonian model in mice: Behavior, histopathology and biochemistry. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 144, 36–41. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.11.002>
- Deziel, N.C., Freeman, L.E.B., Graubard, B.I., Jones, R.R., Hoppin, J.A., Thomas, K., Hines, C.J., Blair, A., Sandler, D.P., Chen, H., Lubin, J.H., Andreotti, G., Alavanja, M.C.R., Friesen, M.C., 2017. Relative contributions of agricultural drift, para-occupational, and residential use exposure pathways to house dust pesticide concentrations: Meta-regression of published data. *Environmental health perspectives* 125, 296–305. <https://doi.org/10.1289/EHP426>
- Deziel, N.C., Friesen, M.C., Hoppin, J.A., Hines, C.J., Thomas, K., Freeman, L.E.B., 2015. A review of nonoccupational pathways for pesticide exposure in women living in agricultural areas. *Environmental health perspectives* 123, 515–524. <https://doi.org/10.1289/ehp.1408273>
- Dhillon, A.S., Tarbutton, G.L., Levin, J.L., Plotkin, G.M., Lowry, L.K., Nalbone, J.T., Shepherd, S., 2008. Pesticide/environmental exposures and Parkinson's disease in East Texas. *J. Agromedicine* 13, 37–48.
- Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J.-P., Giudice, L. C., Hauser, R., Prins, G. S., Soto, A. M., ... Gore, A. C. 2009. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocrine Reviews*, 30(4), 293–342.
- Dowling, K.C., Seiber, J.N., 2002. Importance of respiratory exposure to pesticides among agricultural populations. *International journal of toxicology* 21, 371–381. <https://doi.org/10.1080/10915810290096612>
- Dundar, M. A., Derin, S., Aricigil, M., & Eryilmaz, M. A. (2016). Sudden bilateral hearing loss after organophosphate inhalation. *Turkish Journal of Emergency Medicine*, 16(4), 171–172. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tjem.2016.04.003>
- Dziewirska, E., Radwan, M., Wielgomas, B., Klimowska, A., Radwan, P., Kałużny, P., ... Jurewicz, J. 2018. Human semen quality, sperm DNA damage, and the level of urinary concentrations of 1N and TCPY, the biomarkers of nonpersistent insecticides. *American Journal of Men's Health*, 13(1), 1557988318816598. <https://doi.org/10.1177/1557988318816598>
- Eaton, D.L., Daroff, R.B., Autrup, H., Bridges, J., Buffler, P., Costa, L.G., Coyle, J., McKhann, G., Mobley, W.C., Nadel, L., Neubert, D., Schulte-Hermann, R., Spencer, P.S., 2008. Review of the toxicology of chlorpyrifos with an emphasis on human exposure and neurodevelopment. *Critical reviews in toxicology* 38 Suppl 2, 1–125. <https://doi.org/10.1080/10408440802272158>
- Eddleston, M. 2019. Novel clinical toxicology and pharmacology of organophosphorus insecticide self-poisoning. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 59(1), 341–360. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010818-021842>
- Eells, J.B., Brown, T. 2009. Repeated developmental exposure to chlorpyrifos and methyl parathion causes persistent alterations in nicotinic acetylcholine subunit mRNA expression with chlorpyrifos altering dopamine metabolite levels. *Neurotoxicology and Teratology*, 31(2), 98–103. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ntt.2008.10.002>
- Egeghy, P.P., Cohen Hubal, E.A., Tolve, N.S., Melnyk, L.J., Morgan, M.K., Fortmann, R.C., Sheldon, L.S., 2011. Review of pesticide urinary biomarker measurements from selected US EPA children's observational exposure studies. *International journal of environmental research and public health* 8, 1727–1754. <https://doi.org/10.3390/ijerph8051727>
- Engel, L.S., Hill, D.A., Hoppin, J.A., Lubin, J.H., Lynch, C.F., Pierce, J., Samanic, C., Sandler, D.P., Blair, A., Alavanja, M.C., 2005. Pesticide use and breast cancer risk among farmers' wives in the agricultural health study. *Am. J. Epidemiol.* 161, 121-135. <https://doi.org/10.1093/aje/kwi022>
- Engel, L.S., Werder, E., Satagopan, J., Blair, A., Hoppin, J.A., Koutros, S., Lerro, C.C., Sandler, D.P., Alavanja, M.C., Beane Freeman, L.E., 2017. Insecticide use and breast cancer risk among farmers' wives in the agricultural health study. *Environ. Health Perspect.* 125, 1-10. <https://doi.org/10.1289/EHP1295>
- Engel, S.M., Berkowitz, G.S., Barr, D.B., Teitelbaum, S.L., Siskind, J., Meisel, S.J., Wetmur, J.G., Wolff, M.S., 2007. Prenatal organophosphate metabolite and organochlorine levels and performance on the Brazelton Neonatal Behavioral Assessment Scale in a multiethnic pregnancy cohort. *American journal of epidemiology* 165, 1397–1404. <https://doi.org/10.1093/aje/kwm029>

- Eskenazi, B., Bradman, A., Castorina, R., 1999. Exposures of children to organophosphate pesticides and their potential adverse health effects. *Environmental health perspectives* 107 Suppl, 409–419. <https://doi.org/10.1289/ehp.99107s3409>
- Eskenazi, B., Harley, K., Bradman, A., Weltzien, E., Jewell, N.P., Barr, D.B., Furlong, C.E., Holland, N.T., 2004. Association of in utero organophosphate pesticide exposure and fetal growth and length of gestation in an agricultural population. *Environmental health perspectives* 112, 1116–1124. <https://doi.org/10.1289/ehp.6789>
- Eskenazi, B., Huen, K., Marks, A., Harley, K.G., Bradman, A., Barr, D.B., Holland, N., 2010. PON1 and neurodevelopment in children from the CHAMACOS study exposed to organophosphate pesticides in utero. *Environmental health perspectives* 118, 1775–1781. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002234>
- Eskenazi, B., Marks, A.R., Bradman, A., Harley, K., Barr, D.B., Johnson, C., Morga, N., Jewell, N.P., 2007. Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young Mexican-American children. *Environmental health perspectives* 115, 792–798. <https://doi.org/10.1289/ehp.9828>
- Estellano, V.H., Pozo, Karla, Efstathiou, C., Pozo, Katherine, Corsolini, S., Focardi, S., 2015. Assessing levels and seasonal variations of current-use pesticides (CUPs) in the Tuscan atmosphere, Italy, using polyurethane foam disks (PUF) passive air samplers. *Environmental pollution (Barking, Essex: 1987)* 205, 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.05.002>
- European Food Safety Authority, 2014. Guidance on the assessment of exposure of operators, workers, residents and bystanders in risk assessment for plant protection products. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3874>
- European Food Safety Authority, 2019. Statement on the available outcomes of the human health assessment in the context of the pesticides peer review of the active substance chlorpyrifos., 2019. *EFSA journal*. European Food Safety Authority 17, e05809. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5809>
- Ezzi, L., Belhadj Salah, I., Haouas, Z., Sakly, A., Grissa, I., Chakroun, S., Kerkeni, E., Hassine, M., Mehdi, M., ben Cheikh, H., 2016. Histopathological and genotoxic effects of chlorpyrifos in rats. *Environmental science and pollution research international* 23, 4859–4867. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5722-x>
- Felsot, A.S., Unsworth, J.B., Linders, J.B.H.J., Roberts, G., Rautman, D., Harris, C., Carazo, E., 2011. Agrochemical spray drift; assessment and mitigation—a review. *Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes* 46, 1–23. <https://doi.org/10.1080/03601234.2010.515161>
- Fenske, R.A., 1997. Pesticide exposure assessment of workers and their families. *Occupational medicine (Philadelphia, Pa.)* 12, 221–237.
- Fenske, R.A., Black, K.G., Elkner, K.P., Lee, C.L., Methner, M.M., Soto, R., 1990. Potential exposure and health risks of infants following indoor residential pesticide applications. *American journal of public health* 80, 689–693. <https://doi.org/10.2105/ajph.80.6.689>
- Fenske, R.A., Farahat, F.M., Galvin, K., Fenske, E.K., Olson, J.R., 2012. Contributions of inhalation and dermal exposure to chlorpyrifos dose in Egyptian cotton field workers. *International journal of occupational and environmental health* 18, 198–209. <https://doi.org/10.1179/1077352512Z.00000000030>
- Fenske, R.A., Lu, C., Barr, D., Needham, L., 2002. Children's exposure to chlorpyrifos and parathion in an agricultural community in central Washington State. *Environmental health perspectives* 110, 549–553. <https://doi.org/10.1289/ehp.02110549>
- Fenske, R.A., Lu, C., Simcox, N.J., Loewenherz, C., Touchstone, J., Moate, T.F., Allen, E.H., Kissel, J.C., 2000. Strategies for assessing children's organophosphorus pesticide exposures in agricultural communities. *Journal of exposure analysis and environmental epidemiology* 10, 662–671. <https://doi.org/10.1038/sj.jea.7500116>
- Ferri, G., Cavone, D., Dambrosio, M., Intranuovo, G., Schiavulli, N., Birtolo, F., ... Vimercati, L. 2018. Lymphocytes DNA damages and exposure to chlorpyrifos, deltamethrin, penconazole, copper oxichloride. *Biomarkers*, 24, 1–32. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2018.1539766>
- Flaskos, J., 2012. The developmental neurotoxicity of organophosphorus insecticides: a direct role for the oxon metabolites. *Toxicology letters* 209, 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.11.026>
- Freire, C., Koifman, S. 2013. Pesticides, depression and suicide: A systematic review of the epidemiological evidence. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 216(4), 445–460. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2012.12.003>
- Freire, C., Koifman, S., 2012. Pesticide exposure and Parkinson's disease: Epidemiological evidence of association. *Neurotoxicology*.

- Furlong, M.A., Herring, A., Buckley, J.P., Goldman, B.D., Daniels, J.L., Engel, L.S., Wolff, M.S., Chen, J., Wetmur, J., Barr, D.B., Engel, S.M., 2017. Prenatal exposure to organophosphorus pesticides and childhood neurodevelopmental phenotypes. *Environmental research* 158, 737–747. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.07.023>
- G Salazar, J., Ribes, D., Cabre, M., L Domingo, J., Sanchez-Santed, F., Colomina, MT. 2011. Amyloid β peptide levels increase in brain of A β PP Swedish mice after exposure to chlorpyrifos. *Current Alzheimer Research*, 8(7), 732–740.
- Galloway, T., Handy, R., 2003. Immunotoxicity of organophosphorous pesticides. *Ecotoxicology* 12, 345-363. <https://doi.org/10.1023/A:1022579416322>
- Gao, B., Tao, C., Ye, J., Ning, J., Mei, X., Jiang, Z., Chen, S., She, D., 2014. Measurement of operator exposure to chlorpyrifos. *Pest management science* 70, 636–641. <https://doi.org/10.1002/ps.3601>
- Gatto, N.M., Cockburn, M., Bronstein, J., Manthripragada, A.D., Ritz, B., 2009. Well-water consumption and Parkinson's disease in rural California. *Environ. Health Perspect.* 117, 1912–1918.
- Gibbs, J.L., Yost, M.G., Negrete, M., Fenske, R.A., 2017. Passive sampling for indoor and outdoor exposures to chlorpyrifos, azinphos-methyl, and oxygen analogs in a rural agricultural community. *Environmental health perspectives* 125, 333–341. <https://doi.org/10.1289/EHP425>
- Gil, E., Gallart, M., Balsari, P., Marucco, P., Almajano, M. P., Llop, J. 2015. Influence of wind velocity and wind direction on measurements of spray drift potential of boom sprayers using drift test bench. *Agricultural and Forest Meteorology*, 202, 94–101. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2014.12.002>
- Gilden, R.C., Huffling, K., Sattler, B., 2010. Pesticides and health risks. *Journal of obstetric, gynecologic, and neonatal nursing: JOGNN* 39, 103–110. <https://doi.org/10.1111/j.1552-6909.2009.01092.x>
- Giordano, G., Afsharinejad, Z., Guizzetti, M., Vitalone, A., Kavanagh, T. J., & Costa, L. G. 2007. Organophosphorus insecticides chlorpyrifos and diazinon and oxidative stress in neuronal cells in a genetic model of glutathione deficiency. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 219(2–3), 181–189. <https://doi.org/10.1016/J.TAAP.2006.09.016>
- Goldman, L.R., 1998. Linking research and policy to ensure children's environmental health. *Environmental health perspectives* 106 Suppl, 857–862. <https://doi.org/10.1289/ehp.98106857>
- González-Alzaga, B., Lacasaña, M., Aguilar-Garduño, C., Rodríguez-Barranco, M., Ballester, F., Rebagliato, M., Hernández, A.F., 2014. A systematic review of neurodevelopmental effects of prenatal and postnatal organophosphate pesticide exposure. *Toxicology letters* 230, 104–121. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2013.11.019>
- Gouin, T., Wania, F., Ruepert, C., Castillo, L.E., 2008. Field testing passive air samplers for current use pesticides in a tropical environment. *Environmental science & technology* 42, 6625–6630. <https://doi.org/10.1021/es8008425>
- Grandjean, P., Landrigan, P.J., 2014. Neurobehavioural effects of developmental toxicity. *Lancet Neurol* 13(3):330-8. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70278-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70278-3)
- Griffin, P., Payne, M., Mason, H., Freedlander, E., Curran, A.D., Cocker, J., 2000. The in vitro percutaneous penetration of chlorpyrifos. *Human & experimental toxicology* 19, 104–107. <https://doi.org/10.1191/096032700678815684>
- Grigoryan, H., Lockridge, O., 2009. Nanoimages show disruption of tubulin polymerization by chlorpyrifos oxon: Implications for neurotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 240, 143–148.
- Gunier, R.B., Bradman, A., Harley, K.G., Kogut, K., Eskenazi, B., 2017. Prenatal residential proximity to agricultural pesticide use and IQ in 7-year-old children. *Environ. Health Perspect.* 125, 057002.
- Gunier, R.B., Ward, M.H., Airola, M., Bell, E.M., Colt, J., Nishioka, M., Buffler, P.A., Reynolds, P., Rull, R.P., Hertz, A., Metayer, C., Nuckols, J.R., 2011. Determinants of agricultural pesticide concentrations in carpet dust. *Environmental health perspectives* 119, 970–976. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002532>
- Gunnarsson, L.G., Bodin, L., 2017. Parkinson's disease and occupational exposures: A systematic literature review and meta-analyses. *Scand. J. Work. Environ. Heal.*
- Hallmayer, J., 2011. Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. *Arch. Gen. Psychiatry* 68, 1095.
- Han, C., Zhu, L.S., Wang, J., Wang, J.H., Xie, H., Su, J., 2009. residue analysis of chlorpyrifos and its toxic metabolite TCP in water by HPLC. *Journal of Agro-Environment Science* 7.
- Harnly, M.E., Bradman, A., Nishioka, M., McKone, T.E., Smith, D., McLaughlin, R., Kavanagh-Baird, G., Castorina, R., Eskenazi, B., 2009. Pesticides in dust from homes in an agricultural area. *Environmental science & technology* 43, 8767–8774. <https://doi.org/10.1021/es9020958>

- Hartle, J.C., Cohen, R.S., Sakamoto, P., Barr, D.B., Carmichael, S.L., 2018. Chemical contaminants in raw and pasteurized human milk. *Journal of human lactation: official journal of International Lactation Consultant Association* 34, 340–349. <https://doi.org/10.1177/0890334418759308>
- Hayden, K.M., Norton, M.C., Darcey, D., Østbye, T., Zandi, P.P., Breitner, J.C.S., Welsh-Bohmer, K.A., 2010. Occupational exposure to pesticides increases the risk of incident AD: The Cache County Study. *Neurology* 74, 1524–1530.
- Hayward, S.J., Gouin, T., Wania, F., 2010. Levels and seasonal variability of pesticides in the rural atmosphere of Southern Ontario. *Journal of agricultural and food chemistry* 58, 1077–1084. <https://doi.org/10.1021/jf902898f>
- Hofman, V., Solseng, E., 2001. Reducing spray drift. North Dakota State University Extension Service. <https://www.ag.ndsu.edu/publications/crops/reducing-spray-drift/ae1210.pdf>
- Hsieh, B.H., Deng, J.F., Ger, J., Tsai, W.J., 2001. Acetylcholinesterase inhibition and the extrapyramidal syndrome: A review of the neurotoxicity of organophosphate. *Neurotoxicology*.
- Hughes, E.A., Flores, A.P., Ramos, L.M., Zalts, A., Richard Glass, C., Montserrat, J.M., 2008. Potential dermal exposure to deltamethrin and risk assessment for manual sprayers: influence of crop type. *The Science of the total environment* 391, 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.09.034>
- Hurtado Clavijo, Carlos Mauricio, & Gutiérrez de Salazar, Myriam. (2005). Enfoque del paciente con intoxicación aguda por plaguicidas organofosforados. *Revista de la Facultad de Medicina*, 53(4), 244-258. Retrieved October 31, 2020, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112005000400006&lng=en&tlng=es
- Hyland, C., Laribi, O., 2017. Review of take-home pesticide exposure pathway in children living in agricultural areas. *Environmental research* 156, 559–570. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.04.017>
- Icenogle, L.M., Christopher, N.C., Blackwelder, W.P., Caldwell, D.P., Qiao, D., Seidler, F.J., Slotkin, T.A., Levin, E.D., 2004. Behavioral alterations in adolescent and adult rats caused by a brief subtoxic exposure to chlorpyrifos during neurulation. *Neurotoxicology and teratology* 26, 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2003.09.001>
- Iqbal, K., Zaidi, T., Wen, G., Grundke-Iqbal, I., Merz, P., Shaikh, S., ... Winblad, B. 1986. Defective brain microtubule assembly in Alzheimer's disease. *The Lancet* 328(8504), 421–426. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(86\)92134-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736(86)92134-3)
- Jaureguiberry, M.S., Venturino, A., 2020. Nutritional and environmental contributions to Autism Spectrum Disorders: Focus on nutrigenomics as complementary therapy. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 1–19.
- Jiang, W., Duysen, E. G., Hansen, H., Shlyakhtenko, L., Schopfer, L. M., & Lockridge, O. 2010. Mice treated with chlorpyrifos or chlorpyrifos oxon have organophosphorylated tubulin in the brain and disrupted microtubule structures, suggesting a role for tubulin in neurotoxicity associated with exposure to organophosphorus agents. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 115(1), 183–193. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq032>
- Jokanović, M., 2018. Neurotoxic effects of organophosphorus pesticides and possible association with neurodegenerative diseases in man: A review. *Toxicology* 410, 125–131.
- Joshaghani, H.R., Ahmadi, A.R., Mansourian, A.R., 2007. Effects of occupational exposure in pesticide plant on workers' serum and erythrocyte cholinesterase activity. *International journal of occupational medicine and environmental health* 20, 381–385. <https://doi.org/10.2478/v10001-007-0039-8>
- Juberg, D. R. 2012. Differentiating experimental animal doses from human exposures to chlorpyrifos. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(33), E2195–E2196. <https://doi.org/10.1073/pnas.1208081109>
- Kaplan, J.G., Kessler, J., Rosenberg, N., Pack, D., Schaumburg, H.H., 1993. Sensory neuropathy associated with Dursban (chlorpyrifos) exposure. *Neurology* 43, 2193–2196. <https://doi.org/10.1212/wnl.43.11.2193>
- Kara, M., & Öztaş, E. 2020. Reproductive toxicity of insecticides. In *Animal Reproduction in Veterinary Medicine*. IntechOpen.
- Karalliedde, L., Baker, D., & Marrs, T. C. 2006. Organophosphate-induced intermediate syndrome. *Toxicological Reviews*, 25(1), 1–14.
- Karunanayake, C.P., Spinelli, J.J., McLaughlin, J.R., Dosman, J.A., Pahwa, P., McDuffie, H.H., 2012. Hodgkin lymphoma and pesticides exposure in men: A Canadian case-control study. *J. Agromedicine* 17, 30–39. <https://doi.org/10.1080/1059924X.2012.632726>

- Kawahara, J., Horikoshi, R., Yamaguchi, T., Kumagai, K., Yanagisawa, Y., 2005. Air pollution and young children's inhalation exposure to organophosphorus pesticide in an agricultural community in Japan. *Environment international* 31, 1123–1132. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.04.001>
- Kim, S.W., Lee, E.G., Lee, T., Lee, L.A., Harper, M., 2014. Exposure to chlorpyrifos in gaseous and particulate form in greenhouses: a pilot study. *Journal of occupational and environmental hygiene* 11, 547–555. <https://doi.org/10.1080/15459624.2014.880444>
- Kofod, D. H., Jørs, E., Varma, A., Bhatta, S., Thomsen, J. F. 2016. The use of self-reported symptoms as a proxy for acute organophosphate poisoning after exposure to chlorpyrifos 50% plus cypermethrin 5% among Nepali farmers: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 15(1), 122. <https://doi.org/10.1186/s12940-016-0205-1>
- Kogan, M.D., Vladutiu, C.J., Schieve, L.A., Ghandour, R.M., Blumberg, S.J., Zablotsky, B., Perrin, J.M., Shattuck, P., Kuhlthau, K.A., Harwood, R.L., Lu, M.C., 2018. The prevalence of parent-reported autism spectrum disorder among US children. *Pediatrics* 142(6):e20174161. <https://doi.org/10.1542/peds.2017-4161>.
- Kopjar, N., Žunec, S., Mendaš, G., Micek, V., Kašuba, V., Mikolić, A., Lovaković, B.T., Milić, M., Pavičić, I., Čermak, A.M.M., Pizent, A., Lucić Vrdoljak, A., Želježić, D., 2018. Evaluation of chlorpyrifos toxicity through a 28-day study: Cholinesterase activity, oxidative stress responses, parent compound/metabolite levels, and primary DNA damage in blood and brain tissue of adult male Wistar rats. *Chemico-biological interactions* 279, 51–63. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.10.029>
- Kou, J., Gillette, J.S., Bloomquist, J.R., 2006. Neurotoxicity in murine striatal dopaminergic pathways following co-application of permethrin, chlorpyrifos, and MPTP. *Pestic. Biochem. Physiol.* 85, 68–75.
- Koureas, M., Tsakalof, A., Tsatsakis, A., Hadjichristodoulou, C., 2012. Systematic review of biomonitoring studies to determine the association between exposure to organophosphorus and pyrethroid insecticides and human health outcomes. *Toxicology letters* 210, 155–168. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.10.007>
- Lambert, W.E., Lasarev, M., Muniz, J., Scherer, J., Rothlein, J., Santana, J., McCauley, L., 2005. Variation in organophosphate pesticide metabolites in urine of children living in agricultural communities. *Environmental health perspectives* 113, 504–508. <https://doi.org/10.1289/ehp.6890>
- Lee, W.J., Blair, A., Hoppin, J.A., Lubin, J.H., Rusiecki, J.A., Sandler, D.P., Dosemeci, M., Alavanja, M.C.R., 2004. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to chlorpyrifos in the Agricultural Health Study. *Journal of the National Cancer Institute* 96, 1781–1789. <https://doi.org/10.1093/jnci/djh324>
- Lee, W.J., Sandler, D.P., Blair, A., Samanic, C., Cross, A.J., Alavanja, M.C.R., 2007. Pesticide use and colorectal cancer risk in the Agricultural Health Study. *Int J Cancer*. 121, 339-346. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>
- Leigh, J.P., Du, J., 2015. Brief Report: Forecasting the economic burden of autism in 2015 and 2025 in the United States. *J. Autism Dev. Disord.* 45, 4135–4139.
- Lerro, C.C., Koutros, S., Andreotti, G., Friesen, M.C., Alavanja, M.C., Blair, A., Hoppin, J.A., Sandler, D.P., Lubin, J.H., Ma, X., Zhang, Y., Beane Freeman, L.E., 2015. Organophosphate insecticide use and cancer incidence among spouses of pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Occup Env. Med.* 72, 736-744. <https://doi.org/10.1136/oemed-2014-102798>
- Levin, E.D.; Addy, N.; Nakajima, A.; Christopher, N.C.; Seidler, F.J.; Slotkin, T.A. 2001 Persistent behavioral consequences of neonatal chlorpyrifos exposure in rats. *Dev. Brain Res* 130(1), 83–89.
- Levin, E.D.; Addy, N.; Baruah, A.; Elias, A.; Christopher, N.C.; Seidler, F.J.; Slotkin, T.A. 2002. Prenatal chlorpyrifos exposure in rats causes persistent behavioral alterations. *Neurotoxicol. Teratol* 24(6), 733–741.
- Levin, E. D., Cauley, M., Johnson, J. E., Cooper, E. M., Stapleton, H. M., Ferguson, P. L., ... Slotkin, T. A. 2014. Prenatal dexamethasone augments the neurobehavioral teratology of chlorpyrifos: Significance for maternal stress and preterm labor. *Neurotoxicology and Teratology*, 41, 35–42. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ntt.2013.10.004>
- Lewis, R.G., Fortmann, R.C., Camann, D.E., 1994. Evaluation of methods for monitoring the potential exposure of small children to pesticides in the residential environment. *Archives of environmental contamination and toxicology* 26, 37–46. <https://doi.org/10.1007/BF00212792>
- Li, A. J., Chen, Z., Lin, T.-C., Buck Louis, G. M., & Kannan, K. 2020. Association of urinary metabolites of organophosphate and pyrethroid insecticides, and phenoxy herbicides with endometriosis. *Environment International*, 136, 105456. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105456>

- Li, A.J., Kannan, K., 2018. Urinary concentrations and profiles of organophosphate and pyrethroid pesticide metabolites and phenoxyacid herbicides in populations in eight countries. *Environment international* 121, 1148–1154. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.10.033>
- Li, H., Ma, H., Lydy, M.J., You, J., 2014. Occurrence, seasonal variation and inhalation exposure of atmospheric organophosphate and pyrethroid pesticides in an urban community in South China. *Chemosphere* 95, 363–369. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.09.046>
- Li, H., Ma, H., Lydy, M.J., You, J., 2014. Occurrence, seasonal variation and inhalation exposure of atmospheric organophosphate and pyrethroid pesticides in an urban community in South China. *Chemosphere* 95, 363–369. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.09.046>
- Li, Z., Liu, W., Wu, C., She, D., 2019. Effect of spraying direction on the exposure to handlers with hand-pumped knapsack sprayer in maize field. *Ecotoxicology and environmental safety* 170, 107–111. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.121>
- Liang, Y., Zhan, J., Liu, D., Luo, M., Han, J., Liu, X., Liu, C., Cheng, Z., Zhou, Z., Wang, P., 2019. Organophosphorus pesticide chlorpyrifos intake promotes obesity and insulin resistance through impacting gut and gut microbiota. *Microbiome* 7, 19. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0635-4>
- Lichiheb, N., Personne, E., Bedos, C., van den Berg, F., Barriuso, E., 2016. Implementation of the effects of physicochemical properties on the foliar penetration of pesticides and its potential for estimating pesticide volatilization from plants. *Science of the Total Environment* 550, 1022–1031.
- Liu, P., Wu, C., Chang, X., Qi, X., Zheng, M., Zhou, Z., 2014. Assessment of chlorpyrifos exposure and absorbed daily doses among infants living in an agricultural area of the Province of Jiangsu, China. *International archives of occupational and environmental health* 87, 753–762. <https://doi.org/10.1007/s00420-013-0918-1>
- Lu, C., Fenske, R.A., Simcox, N.J., Kalman, D., 2000. Pesticide exposure of children in an agricultural community: evidence of household proximity to farmland and take home exposure pathways. *Environmental research* 84, 290–302. <https://doi.org/10.1006/enrs.2000.4076>
- Lucattini, L., Poma, G., Covaci, A., de Boer, J., Lamoree, M.H., Leonards, P.E.G., 2018. A review of semi-volatile organic compounds (SVOCs) in the indoor environment: occurrence in consumer products, indoor air and dust. *Chemosphere* 201, 466–482. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.02.161>
- Macfarlane, E., Carey, R., Keegel, T., El-Zaemay, S., Fritschi, L., 2013. Dermal exposure associated with occupational end use of pesticides and the role of protective measures. *Safety and health at work* 4, 136–141. <https://doi.org/10.1016/j.shaw.2013.07.004>
- Mackay, D., Giesy, J.P., Solomon, K.R., 2014. Fate in the environment and long-range atmospheric transport of the organophosphorus insecticide, chlorpyrifos and its oxon., in: Solomon, K.R., Giesy, J.P. (Eds.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Heidelberg, Springer Open.
- Maenner, M.J., Shaw, K.A., Baio, J., Washington, A., Patrick, M., DiRienzo, M., Christensen, D.L., Wiggins, L.D., Pettygrove, S., Andrews, J.G., Lopez, M., Hudson, A., Baroud, T., Schwenk, Y., White, T., Rosenberg, C.R., Lee, L.C., Harrington, R.A., Huston, M., Hewitt, A., Esler, A., Hall-Lande, J., Poynter, J.N., Hallas-Muchow, L., Constantino, J.N., Fitzgerald, R.T., Zahorodny, W., Shenouda, J., Daniels, J.L., Warren, Z., Vehorn, A., Salinas, A., Durkin, M.S., Dietz, P.M., 2020. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years-Autism and developmental disabilities monitoring network, 11 Sites, United States, 2016. *MMWR Surveill. Summ.* 69, 1–12.
- Malekirad, A.A., Faghih, M., Mirabdollahi, M., Kiani, M., Fathi, A., Abdollahi, M., 2013. Neurocognitive, mental health, and glucose disorders in farmers exposed to organophosphorus pesticides. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* 64, 1–8. <https://doi.org/10.2478/10004-1254-64-2013-2296>
- Manthripragada, A.D., Costello, S., Cockburn, M.G., Bronstein, J.M., Ritz, B., 2010. Paraoxonase 1, agricultural organophosphate exposure, and Parkinson disease. *Epidemiology* 21, 87–94.
- Marks, A.R., Harley, K., Bradman, A., Kogut, K., Barr, D.B., Johnson, C., Calderon, N., Eskenazi, B., 2010. Organophosphate pesticide exposure and attention in young Mexican-American children: the CHAMACOS study. *Environmental health perspectives* 118, 1768–1774. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002056>
- Martínez-Perafán, F., Santoli, M.F., López-Nigro, M., Carballo, M.A., 2018. Assessment of the health status and risk of genotoxic and cytotoxic damage in Argentinian adolescents living near horticultural crops. *Environmental science and pollution research international* 25, 5950–5959. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0969-z>
- McCauley, L.A., Lasarev, M.R., Higgins, G., Rothlein, J., Muniz, J., Ebbert, C., Phillips, J., 2001. Work characteristics and pesticide exposures among migrant agricultural families: a community-based research approach. *Environmental health perspectives* 109, 533–538. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109533>

- Meggs, W.J., 2003. Permanent paralysis at sites of dermal exposure to chlorpyrifos. *Journal of toxicology. Clinical toxicology* 41, 883–886. <https://doi.org/10.1081/CLT-120025357>
- Mehta, A., Verma, R.S., Srivastava, N., 2008. Chlorpyrifos-induced DNA damage in rat liver and brain. *Environmental and molecular mutagenesis* 49, 426–433. <https://doi.org/10.1002/em.20397>
- Meuling, W.J.A., Ravensberg, L.C., Roza, L., van Hemmen, J.J., 2005. Dermal absorption of chlorpyrifos in human volunteers. *International archives of occupational and environmental health* 78, 44–50. <https://doi.org/10.1007/s00420-004-0558-6>
- Milsap, R.L., Jusko, W.J., 1994. Pharmacokinetics in the infant. *Environmental health perspectives* 102 Suppl, 107–110. <https://doi.org/10.1289/ehp.94102s11107>
- Mojsak, P., Łozowicka, B., Kaczyński, P., 2018. Estimating acute and chronic exposure of children and adults to chlorpyrifos in fruit and vegetables based on the new, lower toxicology data. *Ecotoxicology and environmental safety* 159, 182–189. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.05.006>
- Moreno, M., Cañadas, F., Cardona, D., Suñol, C., Campa, L., Sánchez-Amate, M. C., ... Sanchez-Santed, F., 2008. Long-term monoamine changes in the striatum and nucleus accumbens after acute chlorpyrifos exposure. *Toxicology Letters*, 176(2), 162–167. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.11.003>
- Morgan, M.K., Wilson, N.K., Chuang, J.C., 2014. Exposures of 129 preschool children to organochlorines, organophosphates, pyrethroids, and acid herbicides at their homes and daycares in North Carolina. *International journal of environmental research and public health* 11, 3743–3764. <https://doi.org/10.3390/ijerph110403743>
- Mostafalou, S., Abdollahi, M., 2018. The link of organophosphorus pesticides with neurodegenerative and neurodevelopmental diseases based on evidence and mechanisms. *Toxicology* 409, 44–52.
- Muller, M., Hess, L., Tardivo, A., Lajmanovich, R., Attademo, A., Poletta, G., Simoniello, M.F., Yodice, A., Lavarello, S., Chialvo, D., Scremin, O., 2014. Neurologic dysfunction and genotoxicity induced by low levels of chlorpyrifos. *Neurotoxicology* 45, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2014.08.012>
- Muñoz-Quezada, M.T., Lucero, B., Iglesias, V., Levy, K., Muñoz, M.P., Achú, E., Cornejo, C., Concha, C., Brito, A.M., Villalobos, M., 2017. Exposure to organophosphate (OP) pesticides and health conditions in agricultural and non-agricultural workers from Maule, Chile. *International journal of environmental health research* 27, 82–93. <https://doi.org/10.1080/09603123.2016.1268679>
- Muñoz-Quezada, M.T., Lucero, B.A., Barr, D.B., Steenland, K., Levy, K., Ryan, P.B., Iglesias, V., Alvarado, S., Concha, C., Rojas, E., Vega, C., 2013. Neurodevelopmental effects in children associated with exposure to organophosphate pesticides: a systematic review. *Neurotoxicology* 39, 158–168. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2013.09.003>
- Nandi, S., Gupta, P. S. P., Roy, S. C., Selvaraju, S., Ravindra, J. P. 2011. Chlorpyrifos and endosulfan affect buffalo oocyte maturation, fertilization, and embryo development in vitro directly and through cumulus cells. *Environmental Toxicology*, 26(1), 57–67.
- Narayan, S., Liew, Z., Paul, K., Lee, P.C., Sinsheimer, J.S., Bronstein, J.M., Ritz, B., 2013. Household organophosphorus pesticide use and parkinson's disease. *Int. J. Epidemiol.* 42, 1476–1485.
- National Center for Biotechnology Information 2020. PubChem Compound Summary for CID 2730, Chlorpyrifos. Retrieved October 4, 2020 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorpyrifos>.
- Navarro, H.A., Basta, P. V., Seidler, F.J., Slotkin, T.A., 2001. Neonatal chlorpyrifos administration elicits deficits in immune function in adulthood: A neural effect? *Dev. Brain Res.* 130, 249-252. [https://doi.org/10.1016/S0165-3806\(01\)00254-1](https://doi.org/10.1016/S0165-3806(01)00254-1)
- Needham, L.L., 2005. Assessing exposure to organophosphorus pesticides by biomonitoring in epidemiologic studies of birth outcomes. *Environmental health perspectives* 113, 494–498. <https://doi.org/10.1289/ehp.7490>
- Nilsen, F.M., Tulve, N.S., 2020. A systematic review and meta-analysis examining the interrelationships between chemical and non-chemical stressors and inherent characteristics in children with ADHD. *Environ. Res.* 180.
- Nolan, R.J., Rick, D.L., Freshour, N.L., Saunders, J.H., 1984. Chlorpyrifos: pharmacokinetics in human volunteers. *Toxicology and applied pharmacology* 73, 8–15. [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(84\)90046-2](https://doi.org/10.1016/0041-008x(84)90046-2)
- Ntantu Nkinsa, P., Muckle, G., Ayotte, P., Lanphear, B.P., Arbuckle, T.E., Fraser, W.D., Bouchard, M.F., 2020. Organophosphate pesticides exposure during fetal development and IQ scores in 3 and 4-year old Canadian children. *Environ. Res.* 190, 110023.

- Obendorf, S.K., Lemley, A.T., Hedge, A., Kline, A.A., Tan, K., Dokuchayeva, T., 2006. Distribution of pesticide residues within homes in central New York State. *Archives of environmental contamination and toxicology* 50, 31–44. <https://doi.org/10.1007/s00244-004-0185-y>
- Ojha, A., Srivastava, N., 2014. In vitro studies on organophosphate pesticides induced oxidative DNA damage in rat lymphocytes. *Mutation research. Genetic toxicology and environmental mutagenesis* 761, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.01.007>
- Ojha, A., Yaduvanshi, S.K., Pant, S.C., Lomash, V., Srivastava, N., 2013. Evaluation of DNA damage and cytotoxicity induced by three commonly used organophosphate pesticides individually and in mixture, in rat tissues. *Environmental toxicology* 28, 543–552. <https://doi.org/10.1002/tox.20748>
- OMS, Organización Mundial para la Salud (2009) WHO specifications and evaluations for public health pesticides — chlorpyrifos. World Health Organization, Geneva
- Onchoi, C., Kongtip, P., Nankongnab, N., Chantanakul, S., Sujirarat, D., Woskie, S., 2020. Organophosphates in meconium of newborn babies whose mothers resided in agricultural areas of thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 51, 77–87.
- Oostingh, G.J., Wichmann, G., Schmittner, M., Lehmann, I., Duschl, A., 2009. The cytotoxic effects of the organophosphates chlorpyrifos and diazinon differ from their immunomodulating effects. *J. Immunotoxicol.* 6, 136-145. <https://doi.org/10.1080/15476910902977407>
- Pallotta, M. M., Ronca, R., Carotenuto, R., Porreca, I., Turano, M., Ambrosino, C., Capriglione, T. 2017. Specific Effects of Chronic Dietary Exposure to Chlorpyrifos on Brain Gene Expression-A Mouse Study. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(11), 2467. <https://doi.org/10.3390/ijms18112467>
- Panda, A. K., Bala, K., & Bhirud, L. 2014. Extrapyrmidal syndrome. *Case Reports*, 2014, bcr2013009752.
- Paul, K.C., Sinsheimer, J.S., Cockburn, M., Bronstein, J.M., Bordelon, Y., Ritz, B., 2017. Organophosphate pesticides and PON1 L55M in Parkinson's disease progression. *Environ. Int.* 107, 75–81.
- Peck, A.M., Hornbuckle, K.C., 2005. Gas-phase concentrations of current-use pesticides in Iowa. *Environmental science & technology* 39, 2952–2959. <https://doi.org/10.1021/es0486418>
- Pelch, K.E., Bolden, A.L., Kwiatkowski, C.F., 2019. environmental chemicals and autism: A Scoping review of the human and animal research. *Environmental health perspectives* 127, 46001. <https://doi.org/10.1289/EHP4386>
- Petchuay, C., Visuthismajarn, P., Vitayavirasak, B., Hore, P., Robson, M.G., 2006. Biological monitoring of organophosphate pesticides in preschool children in an agricultural community in Thailand. *International journal of occupational and environmental health* 12, 134–141. <https://doi.org/10.1179/oeht.2006.12.2.134>
- Pobhirun, T., & Pinitsoontorn, S. 2019. The association between health literacy and pesticide use behaviors among sweet corn farmers in the Pak Chong district of Thailand: a cross-sectional study. *F1000Research*, 8, 448. <https://doi.org/10.12688/f1000research.18398.2>
- Polanczyk, G., De Lima, M.S., Horta, B.L., Biederman, J., Rohde, L.A., 2007. The worldwide prevalence of ADHD: A systematic review and metaregression analysis. *Am. J. Psychiatry* 164, 942–948.
- Pozo, K., Llanos, Y., Estellano, V.H., Cortés, S., Jorquera, H., Gerli, L., Pozo, K., Encina, F., Palma, R., Focardi, S., 2016. Occurrence of chlorpyrifos in the atmosphere of the Araucanía Region in Chile using polyurethane foam-based passive air samplers. *Atmospheric Pollution Research* 7, 706–710.
- Quintana, M.M., Vera, B., Magnarelli, G., Guñazú, N., Rovedatti, M.G., 2017. Neonatal, placental, and umbilical cord blood parameters in pregnant women residing in areas with intensive pesticide application. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9642-9>
- Rahman, M.F., Mahboob, M., Danadevi, K., Saleha Banu, B., Grover, P., 2002. Assessment of genotoxic effects of chlorpyrifos and acephate by the comet assay in mice leucocytes. *Mutation research* 516, 139–147. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(02\)00033-5](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(02)00033-5)
- Rathod, A.L., Garg, R.K. 2017. Chlorpyrifos poisoning and its implications in human fatal cases: A forensic perspective with reference to Indian scenario. *Journal of forensic and legal medicine*, 47, 29–34. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jflm.2017.02.003>
- Rauh, V., Arunajadai, S., Horton, M., Perera, F., Hoepner, L., Barr, D.B., Whyatt, R., 2011. Seven-year neurodevelopmental scores and prenatal exposure to chlorpyrifos, a common agricultural pesticide. *Environmental health perspectives* 119, 1196–1201. <https://doi.org/10.1289/ehp.1003160>
- Rauh, V.A., 2018. Polluting developing brains - EPA failure on chlorpyrifos. *The New England journal of medicine* 378, 1171–1174. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1716809>

- Rauh, V.A., Garfinkel, R., Perera, F.P., Andrews, H.F., Hoepner, L., Barr, D.B., Whitehead, R., Tang, D., Whyatt, R.W., 2006. Impact of prenatal chlorpyrifos exposure on neurodevelopment in the first 3 years of life among inner-city children. *Pediatrics* 118, e1845–59. <https://doi.org/10.1542/peds.2006-0338>
- Rauh, V.A., Perera, F.P., Horton, M.K., Whyatt, R.M., Bansal, R., Hao, X., Liu, J., Barr, D.B., Slotkin, T.A., Peterson, B.S., 2012. Brain anomalies in children exposed prenatally to a common organophosphate pesticide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109, 7871–7876. <https://doi.org/10.1073/pnas.1203396109>
- Richardson, R.J., 1995. Assessment of the neurotoxic potential of chlorpyrifos relative to other organophosphorus compounds: a critical review of the literature. *Journal of toxicology and environmental health* 44, 135–165. <https://doi.org/10.1080/15287399509531952>
- Richardson, R.J., Hein, N.D., Wijeyesakere, S.J., Fink, J.K., Makhaeva, G.F., 2013. Neuropathy target esterase (NTE): overview and future. *Chemico-biological interactions* 203, 238–244. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2012.10.024>
- Risher, J.F., 1997. Toxicological profile of chlorpyrifos. US department of health and human services Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Rivero Osimani, V.L., Valdez, S.R., Guiñazú, N., Magnarelli, G., 2016. Alteration of syncytiotrophoblast mitochondria function and endothelial nitric oxide synthase expression in the placenta of rural residents. *Reproductive Toxicology* 61. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.02.018>
- Roddy, A., O'Neill, C., 2019. The economic costs and its predictors for childhood autism spectrum disorders in Ireland: How is the burden distributed? *Autism* 23, 1106–1118.
- Rogge, N., Janssen, J., 2019. The economic costs of Autism Spectrum Disorder: A literature review. *J. Autism Dev. Disord.* 49, 2873–2900.
- Rohlman, D.S., Ismail, A., Bonner, M.R., Abdel Rasoul, G., Hendy, O., Ortega Dickey, L., Wang, K., Olson, J.R., 2019. Occupational pesticide exposure and symptoms of attention deficit hyperactivity disorder in adolescent pesticide applicators in Egypt. *Neurotoxicology* 74, 1–6.
- Roldán-Tapia, L., Parrón, T., Sánchez-Santed, F., 2005. Neuropsychological effects of long-term exposure to organophosphate pesticides. *Neurotoxicology and teratology* 27, 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2004.12.002>
- Rosas, L.G., Eskenazi, B., 2008. Pesticides and child neurodevelopment. *Current opinion in pediatrics* 20, 191–197. <https://doi.org/10.1097/MOP.0b013e3282f60a7d>
- Ross, J.H., Ginevan, M.E., 2014. Biomonitoring of exposure to organophosphate pesticides in New York City. *Environmental Health Perspectives*. 122(7):A178. <https://doi.org/10.1289/ehp.1408444>
- Rudel, R.A., Dodson, R.E., Perovich, L.J., Morello-Frosch, R., Camann, D.E., Zuniga, M.M., Yau, A.Y., Just, A.C., Brody, J.G., 2010. Semivolatile endocrine-disrupting compounds in paired indoor and outdoor air in two northern California communities. *Environmental Science & Technology* 44, 6583–6590. <https://doi.org/10.1021/es100159c>
- Salazar-Arredondo, E., de Jesús Solís-Heredia, M., Rojas-García, E., Hernández-Ochoa, I., Quintanilla-Vega, B., 2008. Sperm chromatin alteration and DNA damage by methyl-parathion, chlorpyrifos and diazinon and their oxon metabolites in human spermatozoa. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)* 25, 455–460. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2008.05.055>
- Salvatore, A.L., Bradman, A., Castorina, R., Camacho, J., López, J., Barr, D.B., Snyder, J., Jewell, N.P., Eskenazi, B., 2008. Occupational behaviors and farmworkers' pesticide exposure: findings from a study in Monterey County, California. *American Journal of Industrial Medicine* 51, 782–794. <https://doi.org/10.1002/ajim.20622>
- Samsam, T. E., Hunter, D. L., & Bushnell, P. J. 2005. Effects of chronic dietary and repeated acute exposure to chlorpyrifos on learning and sustained attention in rats. *Toxicological Sciences*, 87(2), 460–468. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfi264>
- Sánchez-Santed, F., Colomina, M.T., Herrero Hernández, E., 2016. Organophosphate pesticide exposure and neurodegeneration. *Cortex*, 74, 417-426.
- Sandhu, M.A., Saeed, A.A., Khilji, M.S., Ahmed, A., Latif, M.S.Z., Khalid, N., 2013. Genotoxicity evaluation of chlorpyrifos: a gender related approach in regular toxicity testing. *The Journal of Toxicological Sciences* 38, 237–244. <https://doi.org/10.2131/jts.38.237>
- Sayal, K., Prasad, V., Daley, D., Ford, T., Coghill, D., 2018. ADHD in children and young people: prevalence, care pathways, and service provision. *The Lancet Psychiatry*, 5(2), 175-186.

- Schweizer, C., Edwards, R.D., Bayer-Oglesby, L., Gauderman, W.J., Ilacqua, V., Jantunen, M.J., Lai, H.K., Nieuwenhuijsen, M., Künzli, N., 2007. Indoor time-microenvironment-activity patterns in seven regions of Europe. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology* 17, 170–181. <https://doi.org/10.1038/sj.jes.7500490>
- Shelton, J.F., Geraghty, E.M., Tancredi, D.J., Delwiche, L.D., Schmidt, R.J., Ritz, B., Hansen, R.L., Hertz-Picciotto, I., 2014. Neurodevelopmental disorders and prenatal residential proximity to agricultural pesticides: The CHARGE Study. *Environ. Health Perspect.* 122, 1103–1109.
- Silva Pinto, B. G., Marques Soares, T. K., Azevedo Linhares, M., & Castilhos Ghisi, N. 2020. Occupational exposure to pesticides: Genetic danger to farmworkers and manufacturing workers – A meta-analytical review. *Science of The Total Environment*, 748, 141382. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141382>
- Silver, M.K., Shao, J., Ji, C., Zhu, B., Xu, L., Li, M., Chen, M., Xia, Y., Kaciroti, N., Lozoff, B., Meeker, J.D., 2018. Prenatal organophosphate insecticide exposure and infant sensory function. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 221, 469–478.
- Simcox, N.J., Fenske, R.A., Wolz, S.A., Lee, I.C., Kalman, D.A., 1995. Pesticides in household dust and soil: exposure pathways for children of agricultural families. *Environmental Health Perspectives* 103, 1126–1134. <https://doi.org/10.1289/ehp.951031126>
- Singh, A.K., Parashar, A., Singh, A.K., Singh, R., 2013. Pre-natal/juvenile chlorpyrifos exposure associated with immunotoxicity in adulthood in Swiss albino mice. *J. Immunotoxicol.* 10, 141-149. <https://doi.org/10.3109/1547691X.2012.700653>
- Singh, S., Kumar, V., Thakur, S., Banerjee, B.D., Chandna, S., Rautela, R.S., Grover, S.S., Rawat, D.S., Pasha, S.T., Jain, S.K., Ichhpujani, R.L., Rai, A., 2011. DNA damage and cholinesterase activity in occupational workers exposed to pesticides. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 31, 278–285. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2010.11.005>
- Souza, M.S., Magnarelli, G.G., Rovedatti, M.G., Cruz, S.S., de D'Angelo, A.M.P., 2005. Prenatal exposure to pesticides: analysis of human placental acetylcholinesterase, glutathione S-transferase and catalase as biomarkers of effect. *Biomarkers* 10, 376–389. <https://doi.org/10.1080/13547500500272614>
- Sultana Shaik, A., Shaik, A.P., Jamil, K., Alsaeed, A.H., 2016. Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of pesticide mixtures on lymphocytes. *Toxicology Mechanisms and Methods* 26, 588–594. <https://doi.org/10.1080/15376516.2016.1218577>
- Tames, F., Miglioranza, K.S.B., Rodriguez Nuñez, M., Carreras, H., 2020. Indoor persistent organic pollutants in agricultural areas from Argentina. *Indoor Air* 30, 725–734. <https://doi.org/10.1111/ina.12649>
- Tanvir, E.M., Afroz, R., Chowdhury, M., Gan, S.H., Karim, N., Islam, M.N., Khalil, M.I., 2016. A model of chlorpyrifos distribution and its biochemical effects on the liver and kidneys of rats. *Human & Experimental Toxicology* 35, 991–1004. <https://doi.org/10.1177/0960327115614384>
- Tayour, C., Ritz, B., Langholz, B., Mills, P.K., Wu, A., Wilson, J.P., Shahabi, K., Cockburn, M., 2019. A case–control study of breast cancer risk and ambient exposure to pesticides. *Environ. Epidemiol.* 3, e070. <https://doi.org/10.1097/ee9.0000000000000070>
- Testai, E., Buratti, F.M., di Consiglio, E., 2010. Chlorpyrifos. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology* 1505–1526. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374367-1.00070-7>
- Tulve, N.S., Suggs, J.C., McCurdy, T., Cohen Hubal, E.A., Moya, J., 2002. Frequency of mouthing behavior in young children. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology* 12, 259–264. <https://doi.org/10.1038/sj.jea.7500225>
- US EPA. 1992. Chlorpyrifos: dietary exposure assessment. California Environ. Protection Agency.
- US EPA, 2000. Chlorpyrifos revised risk assessment and agreement with registrants.
- US EPA, 2007. Pesticides: Health and Safety. National Assessment of the Worker Protection Workshop #3.
- van der Jagt, K., Tielemans, E., Links, I., Brouwer, D., van Hemmen, J., 2004. Effectiveness of personal protective equipment: relevance of dermal and inhalation exposure to chlorpyrifos among pest control operators. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene* 1, 355–362. <https://doi.org/10.1080/15459620490449710>
- Van Der Plaats, D. A., De Jong, K., De Vries, M., Van Diemen, C. C., Nedeljkovic, I., Amin, N., ... Vonk, J. M. 2018. Occupational exposure to pesticides is associated with differential DNA methylation. *Occupational and Environmental Medicine*, 75(6), 427–435. <https://doi.org/10.1136/oemed-2017-104787>

- Venerosi, A., Ricceri, L., Tait, S., Calamandrei, G. 2012. Sex dimorphic behaviors as markers of neuroendocrine disruption by environmental chemicals: The case of chlorpyrifos. *NeuroToxicology*, 33(6), 1420–1426. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.08.009>
- Ventura, C., Nieto, M. R. R., Bourguignon, N., Lux-Lantos, V., Rodriguez, H., Cao, G., ... Núñez, M. 2016. Pesticide chlorpyrifos acts as an endocrine disruptor in adult rats causing changes in mammary gland and hormonal balance. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 156, 1–9.
- Ventura, C., Núñez, M., Miret, N., Martinel Lamas, D., Randi, A., Venturino, A., Rivera, E., Cocca, C., 2012. Differential mechanisms of action are involved in chlorpyrifos effects in estrogen-dependent or -independent breast cancer cells exposed to low or high concentrations of the pesticide. *Toxicol. Lett.* 213, 184-193. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.06.017>
- Ventura, C., Venturino, A., Miret, N., Randi, A., Rivera, E., Núñez, M., Cocca, C., 2015. Chlorpyrifos inhibits cell proliferation through ERK1/2 phosphorylation in breast cancer cell lines. *Chemosphere* 120, 343-350. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.07.088>
- Ventura, C., Zappia, C.D., Lasagna, M., Pavicic, W., Richard, S., Bolzan, A.D., Monczor, F., Núñez, M., Cocca, C., 2019. Effects of the pesticide chlorpyrifos on breast cancer disease. Implication of epigenetic mechanisms. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 186, 96–104. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2018.09.021>
- Vindas, R., Ortiz, F., Ramírez, V., Cuenca, P., 2004. Genotoxicity of three pesticides used in Costa Rican banana plantations. *Revista de Biología Tropical* 52, 601–609.
- von Ehrenstein, O.S., Ling, C., Cui, X., Cockburn, M., Park, A.S., Yu, F., Wu, J., Ritz, B., 2019. Prenatal and infant exposure to ambient pesticides and autism spectrum disorder in children: Population based case-control study. *BMJ (Clinical research ed.)* 364, I962. <https://doi.org/10.1136/bmj.I962>
- Waheed, S., Halsall, C., Sweetman, A.J., Jones, K.C., Malik, R.N., 2017. Pesticides contaminated dust exposure, risk diagnosis and exposure markers in occupational and residential settings of Lahore, Pakistan. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 56, 375–382. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.11.003>
- Wang, L., Liu, Z., Zhang, J., Wu, Y., & Sun, H. 2016. Chlorpyrifos exposure in farmers and urban adults: Metabolic characteristic, exposure estimation, and potential effect of oxidative damage. *Environmental Research*, 149, 164–170. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.05.011>
- Wang, X., Banks, A.P.W., He, C., Drage, D.S., Gallen, C.L., Li, Y., Li, Q., Thai, P.K., Mueller, J.F., 2019. Polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls and legacy and current pesticides in indoor environment in Australia - occurrence, sources and exposure risks. *The Science of the Total Environment* 693, 133588. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133588>
- Watts, M. 2012. Chlorpyrifos as a possible global POP. Pesticide Action Network North America. Disponible https://www.pan-europe.info/old/News/PR/121009_Chlorpyrifos_as_POP_final.pdf
- Weschler, C.J., Nazaroff, W.W., 2008. Semivolatile organic compounds in indoor environments. *Atmospheric Environment* 42, 9018–9040.
- Whyatt, R.M., Barr, D.B., Camann, D.E., Kinney, P.L., Barr R., J.R., Andrews, H.F., Hoepner, L.A., Garfinkel, R., Hazi, Y., Reyes, A., Ramirez, J., Cosme, Y., Perera, F.P., 2003. Contemporary-use pesticide in personal air samples during pregnancy and blood samples at delivery among urban minority mothers and newborns. *Environ. Health Perspect.* 111, 749–756.
- Whyatt, R.M., Camann, D., Perera, F.P., Rauh, V.A., Tang, D., Kinney, P.L., Garfinkel, R., Andrews, H., Hoepner, L., Barr, D.B., 2005. Biomarkers in assessing residential insecticide exposures during pregnancy and effects on fetal growth. *Toxicology and Applied Pharmacology* 206, 246–254. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.11.027>
- Whyatt, R.M., Garfinkel, R., Hoepner, L.A., Andrews, H., Holmes, D., Williams, M.K., Reyes, A., Diaz, D., Perera, F.P., Camann, D.E., Barr, D.B., 2009. A biomarker validation study of prenatal chlorpyrifos exposure within an inner-city cohort during pregnancy. *Environ. Health Perspect.* 117, 559–567.
- Whyatt, R.M., Rauh, V., Barr, D.B., Camann, D.E., Andrews, H.F., Garfinkel, R., Hoepner, L.A., Diaz, D., Dietrich, J., Reyes, A., Tang, D., Kinney, P.L., Perera, F.P., 2004. Prenatal insecticide exposures and birth weight and length among an urban minority cohort. *Environ. Health Perspect.* 112, 1125–1132.
- Xu, M.-Y., Wang, P., Sun, Y.-J., Yang, L., Wu, Y.-J., 2017. Joint toxicity of chlorpyrifos and cadmium on the oxidative stress and mitochondrial damage in neuronal cells. *Food and Chemical Toxicology* 103, 246–252. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.03.013>
- Yao, Y., Harner, T., Blanchard, P., Tuduri, L., Waite, D., Poissant, L., Murphy, C., Belzer, W., Aulagnier, F., Sverko, E., 2008. Pesticides in the atmosphere across Canadian agricultural regions. *Environmental Science & Technology* 42, 5931–5937. <https://doi.org/10.1021/es800878r>



- Young, J.G., Eskenazi, B., Gladstone, E.A., Bradman, A., Pedersen, L., Johnson, C., Barr, D.B., Furlong, C.E., Holland, N.T., 2005. Association between in utero organophosphate pesticide exposure and abnormal reflexes in neonates. *Neurotoxicology* 26, 199–209. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2004.10.004>
- Zablotsky, B., Black, L.I., Maenner, M.J., Schieve, L.A., Danielson, M.L., Bitsko, R.H., Blumberg, S.J., Kogan, M.D., Boyle, C.A., 2019. Prevalence and trends of developmental disabilities among children in the United States: 2009–2017. *Pediatrics* 144, e20190811.
- Zhang, J., Dai, H., Deng, Y., Tian, J., Zhang, C., Hu, Z., ... Zhao, L. 2015. Neonatal chlorpyrifos exposure induces loss of dopaminergic neurons in young adult rats. *Toxicology*, 336, 17–25. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tox.2015.07.014>
- Zhang, Y., Han, S., Liang, D., Shi, X., Wang, F., Liu, W., Zhang, L., Chen, L., Gu, Y., Tian, Y., 2014. Prenatal exposure to organophosphate pesticides and neurobehavioral development of neonates: A birth cohort study in Shenyang, China. *PLoS One* 9.



5. IMPACTOS EN LA BIOTA ACUÁTICA

Flavia Bieczynski, Cecilia Lascano y Andrés Venturino

A nivel mundial se han establecido valores de referencia ambiental, que toman en cuenta los efectos observados tanto en peces como en otros organismos acuáticos. La Unión Europea, utilizando el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos, ha categorizado al clorpirifos como compuesto de toxicidad aguda 1 para el ambiente acuático (H400: muy tóxico para la vida acuática) y como compuesto de toxicidad crónica 1 (H410: muy tóxico para la vida acuática con efectos a largo plazo) (Watts, 2012). En una revisión reciente realizada por Huang et al. (2020) se compilan datos de toxicidad por clorpirifos en 87 especies de organismos acuáticos, de las cuales 46% son crustáceos, 37% son peces y un 8% son moluscos. En este trabajo se observa que hay marcadas diferencias entre especies, ya que los valores de CL50-96h registrados se encuentran en un intervalo muy amplio de concentración de clorpirifos, desde 0,029 µg/L para el camarón *Americamysis bahía*, hasta 50.000 µg/L para la almeja de agua dulce *Lamellidens marginalis*. A su vez, los autores, en base a los valores de CL50-96h registrados y al criterio de clasificación establecido por el Grupo de Expertos en Aspectos Científicos de Protección del Medioambiente Marino (GESAMP), determinaron que el clorpirifos es desde ligeramente tóxico (grupo 2 en la clasificación) para algunos peces, rotíferos y moluscos hasta extremadamente tóxico (grupo 6) para otras especies de peces y crustáceos.

De acuerdo a la EPA (2017) (acceso 6/10/2020), la evaluación determinística de riesgo de la ecotoxicidad en peces e invertebrados acuáticos puede realizarse a través de Cocientes de Riesgo, empleando como puntos finales las CL50 para evaluar los efectos agudos, y la NOAEC y LOAEC para efectos crónicos (Tabla 5.1). Estos parámetros se utilizan como divisores frente a las Concentraciones Ambientales Esperadas, que en el caso de efectos agudos suelen tomarse a partir de la máxima concentración detectada en agua, y en efectos crónicos pueden tomarse a partir de concentraciones medias anuales.

Tabla 5.1: Presunciones de riesgo para organismos acuáticos

Efecto	Cálculo de CR	Límite CR
Alto riesgo agudo	CEA/CL50	0.5
Uso restringido agudo	CEA/CL50	0.1
Riesgo de extinción de especies	CEA/CL50	0.05
Riesgo crónico	CEA/NOEC	1

Extraído de EPA (2017). CR: Cociente de Riesgo; CEA: Concentración Ambiental Esperada.

Existen numerosos estudios que demuestran que este compuesto se bioacumula en organismos acuáticos (Watts, 2012), es decir, se concentra en el individuo a partir de todas las fuentes potenciales de captación (agua y alimento). El coeficiente de partición octanol-agua (Kow) de este compuesto oscila entre 4,7 y 5,11, siendo 5 el valor de Kow establecido como de riesgo de bioacumulación (Watts, 2012). El factor de bioconcentración (FBC; calculado como la concentración de un tóxico en el organismo dividida por la concentración en el medio ambiente) es un parámetro que refleja la capacidad de un organismo de concentrar un compuesto tóxico del medio ambiente.

5.1 Peces

Los peces son un elemento clave para el monitoreo de la salud ambiental debido a que ocupan distintas zonas de la columna de agua, representan gran parte del espectro de hábitos tróficos y poseen un ciclo de vida que se desarrolla completamente en el agua (a diferencia de los anfibios e insectos). A su vez, son importantes como recurso económico y como componente de la dieta humana.

La exposición de los peces a clorpirifos ocurre mayormente por el contacto con los sedimentos del fondo, aunque también es incorporado al organismo desde la columna de agua y por la ingestión junto con el alimento. En este aspecto cabe mencionar el hecho de que la acuicultura ha sustituido en gran parte los ingredientes de origen animal por los de origen vegetal en la elaboración de alimentos balanceados. Por ejemplo, en la acuicultura del salmón del atlántico (*Salmo salar*), se utilizan alimentos balanceados que contienen aproximadamente un 70% de composición vegetal, como cereales y legumbres (Ytrestøl et al., 2015). Esta sustitución de ingredientes conlleva a la introducción de compuestos, tales como plaguicidas, en el ambiente acuático. Trabajos recientes han detectado la presencia del metabolito derivado, clorpirifos-metil, en alimentos balanceados de *S. salar* (en un intervalo de 0,006 a 0,03 mg/Kg) (Portolés et al., 2017) y en estudios de laboratorio se ha visto que peces silvestres, que se alimentan de los restos en las cercanías de las acuiculturas, pueden acumular este compuesto en sus tejidos (Olsvik et al. 2019). En otro trabajo, donde se analizó la presencia de clorpirifos en filete de pescado (provenientes tanto de acuicultura como de la pesca), se encontró que ambos tipos tenían clorpirifos acumulado, siendo mayor la concentración detectada en los peces de acuicultura (concentraciones máximas registradas de 0,46 y 0,07 µg/g, respectivamente) (Sun y Chen, 2008).

El ingreso de este compuesto al organismo ocurre por difusión (al atravesar las branquias o tegumento) o a través de la dieta (por el sistema gastrointestinal). Una vez que el clorpirifos es absorbido, alcanza la circulación sistémica y desde allí los diferentes órganos. Al igual que otros xenobióticos, sufre procesos de biotransformación de fase I y II, que ocurren principalmente en el hígado y dan lugar a conjugados más solubles que el compuesto original, para ser posteriormente eliminados a través del sistema

gastrointestinal. El efecto tóxico principal del clorpirifos es la inhibición de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) y es el parámetro biomarcador por excelencia de exposición y/o toxicidad por compuestos organofosforados. Las reacciones de biotransformación dan como resultado el metabolito oxón de clorpirifos, que posee mayor afinidad por AChE en comparación con el compuesto parental, es decir, es más tóxico; aunque por otro lado es muy sensible a la degradación hidrolítica y por lo tanto se encuentra en muy bajos niveles en el ambiente acuático. Lo mismo ocurre con otro metabolito primario del clorpirifos, el 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP), el cual no inhibe AChE y no constituye un riesgo para los organismos acuáticos (Canadian Council of Ministers of the Environment, 2008).

5.1.1 Efectos tóxicos agudos: Concentración Letal 50 (CL50)

El intervalo de CL50-96h para las especies de peces compiladas por Huang et al. (2020) se encuentra entre 0,5 µg/L (para juveniles del pez gato, *Clarias gariepinus*) y 13.030 µg/L (para embriones del pez cebra, *Danio rerio*). A partir de los datos de toxicidad, se evidencia que el 36% de las especies de peces analizadas en dicho estudio poseen valores de CL50-96h menores a 20 µg/L, indicando que el clorpirifos es extremadamente tóxico para organismos acuáticos.

En cuanto a las causas de mortalidad en peces expuestos a clorpirifos, la asfixia producida por parálisis muscular en branquias y la bradicardia serían las causas principales (Fulton y Key, 2000). Si bien la inhibición de las enzimas AChE cerebral y otras esterasas (como la AChE muscular) son factores determinantes en la toxicidad y letalidad de clorpirifos, no se observa una correlación clara entre la inhibición de estas enzimas y la mortalidad, siendo muy amplia la variabilidad registrada para distintas especies de peces (Ferrari et al., 2009).

5.1.2 Efectos tóxicos subletales

En exposiciones de peces a concentraciones subletales de clorpirifos, se ha observado que la actividad AChE se recupera, al menos en forma parcial. Este proceso es lento y depende, en gran parte, de la síntesis de nueva enzima (Ferrari et al., 2009; Giddings et al., 2014). Por ejemplo, en juveniles de salmón real (*Oncorhynchus tshawytscha*) expuestos a 3,7 µg/L de clorpirifos por 96 h, se observó un 46% de inhibición de la AChE cerebral respecto de la actividad control. Luego de 23 días en ausencia de clorpirifos, esta actividad se fue recuperando, persistiendo un 20% de inhibición. La recuperación total de la actividad enzimática se observó recién al transcurrir 60 días (Eder et al., 2007). En otro estudio, adultos del pez mosquito (*Gambusia affinis*) expuestos a 100 µg/L de clorpirifos (1/3 de la CL50-96h, calculado a partir de Huang et al., 2020) por 48 h, sufrieron un 77% de inhibición de la actividad AChE cerebral y un 82% de inhibición de la AChE muscular. Luego de 4 días en ausencia de clorpirifos, sólo la AChE cerebral se recuperó hasta alcanzar el 38% respecto

de la actividad control (Boone y Chambers, 1996). En general, los estudios sobre esta recuperación enzimática son limitados: Giddings et al. (2014) sugieren que, en base a la información disponible, se podría estimar que entre 4 y 8 semanas sería el tiempo necesario para la recuperación completa de la actividad de AChE.

Si bien la inhibición de la enzima AChE es el parámetro indicador por excelencia de exposición a clorpirifos, numerosos estudios indican la presencia de otros blancos moleculares afectados. A su vez, se ha visto que las diversas alteraciones observadas en peces persisten aún en ausencia de dicho compuesto (Watts, 2012). En general, se describen efectos a nivel individual como ataxia, alteraciones de crecimiento y en la reproducción, deformidades, genotoxicidad, estrés oxidativo, daño neurológico, alteraciones del sistema inmune y endócrino, supresión de la actividad olfativa, así como también efectos a nivel poblacional y ecosistémico que incluyen teratogenicidad y disminución poblacional (Ferrari et al., 2009; Watts, 2012; Huang et al., 2020). A continuación, se detallan los efectos subletales más comúnmente documentados.

5.1.2.1 Neurotoxicidad

Trabajos recientes remarcan la importancia de utilizar indicadores de comportamiento neurológico para evaluar el efecto subletal de contaminantes en peces, dado que esto permitiría pasar del enfoque ecotoxicológico tradicional sobre el individuo (basado en estudios de CL50) a enfoques que consideren el nivel poblacional o de ecosistema. Algunos de estos trabajos, por ejemplo, se han centrado en la percepción olfativa y en el comportamiento de los peces expuestos a clorpirifos. Sandahl et al. (2004) registraron que adultos del salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) expuestos a 0,7 µg/L de clorpirifos durante 7 días, sufrieron la pérdida del 20% de la función sensorial olfatoria, lo cual afectaría la supervivencia y capacidad migratoria de esta especie. Besson et al. (2017) observaron que las larvas del pez de arrecifes *Acanthurus triostegus* poseen una alta lateralización: utilizan el ojo derecho (hemisferio izquierdo) para categorizar los estímulos y el ojo izquierdo (hemisferio derecho) para inspeccionar elementos novedosos e iniciar respuestas rápidas de comportamiento. Dichos autores observaron que este tipo de mecanismo se ve afectado en presencia de clorpirifos. Las larvas expuestas durante 5 días a 1 µg/L de clorpirifos, perdían en alrededor del 10% de la capacidad de respuesta lateralizada frente a un estímulo. Estos resultados sugieren un efecto negativo de este compuesto sobre la función cerebral de las larvas durante un estadio de desarrollo crítico, que podría resultar en una desventaja ecológica para la especie. Sumado a este efecto y con similar desventaja a nivel de supervivencia para la especie, en otro estudio, realizado también con larvas de *A. triostegus*, se observó que la exposición a 1 µg/L de clorpirifos por 2 días, redujo un 30% de la capacidad de memoria olfativa utilizada en el reconocimiento de un predador (Bertucci et al., 2018).

La disminución y modificación de la actividad natatoria son efectos también descriptos en peces expuestos a clorpirifos. Tilton et al. (2011) observaron que adultos de pez cebra (*D. rerio*), expuestos por 24

h a distintas concentraciones de clorpirifos (de 0,1 a 220 µg/L), presentaban disminución de la actividad natatoria (entre un 20 y 60% respecto del control) y periodos de inmovilidad (entre un 27 y 40% de los peces) a partir de 35 µg/L, siendo esta concentración 1/20 de la CL50-96h para la especie (Huang et al., 2020). En adultos de pez mosquito (*G. affinis*) expuestos por 20 días a 60 µg/L (1/5 de la CL50-96h para esta especie), se observó un 50% de disminución de la velocidad de nado a los 15 días de exposición y una disminución de la distancia recorrida, con efectos visibles a partir del día 4 (Rao et al., 2005). En juveniles de medaka (*Oryzias latipes*), expuestos durante 4 días a 18, 55 y 166 µg/L, se observó disminución de la velocidad de nado e hipoactividad a partir de la concentración más baja, que representa 1/7 de la CL50-96h para la especie. Este efecto fue acompañado de la inhibición concentración-dependiente de la AChE cerebral (52, 66 y 79%, respectivamente) y de mortalidad a partir de 55 µg/L. Por otro lado, en el mismo estudio, peces expuestos a 12 µg/L (1/10 de la CL50-96h) por 8 días sufrieron un 32% de inhibición de la actividad AChE cerebral acompañado de hiperactividad natatoria (Khalil et al., 2013). En resumen, se observan efectos neurotóxicos por exposición a clorpirifos a concentraciones sensiblemente menores que el valor de CL50 de cada especie. Los efectos neurotóxicos subletales traen consecuencias en cuanto a la capacidad de selección de hábitat, la conducta migratoria, la respuesta de escape frente a predadores y la capacidad para capturar presas, entre otros efectos deletéreos para la supervivencia.

5.1.2.2 Efectos a nivel reproductivo

Se han encontrado efectos tóxicos a nivel reproductivo en especies de peces expuestas a concentraciones subletales de clorpirifos, aunque los estudios al respecto son escasos. A continuación, se detallan algunos de los más recientes. De Silva y Samayawardhena (2005), luego de exponer adultos de pez guppy (*Poecilia reticulata*) por 14 días a 0,002 y 2 µg/L (cerca de 1/3000 y 1/3 de la CL50-96h) de formulado comercial de clorpirifos (40% de ingrediente activo), encontraron alteraciones en la conducta de apareamiento, más específicamente, en la cantidad de empujes gonopodiales, que disminuyeron aproximadamente un 30 y 60% para cada concentración ensayada, respectivamente. También observaron una disminución significativa en la cantidad de crías (aproximadamente un 10 y 60% menos respecto del control, para cada concentración) y la disminución de la supervivencia de las mismas (un 40 y 50% menor, respectivamente). Los efectos fueron significativos con ambas concentraciones testeadas, las cuales son muy inferiores de la CL50-96h de 7,2 µg/L, calculada para esta especie por los autores. En otro estudio, individuos de ambos sexos del pez cebra (*D. rerio*) expuestos a 200 µg/L de clorpirifos (aproximadamente 1/3 de la CL50-96h para esta especie; Huang et al., 2020) por 24, 48 y 96 h presentaron alteraciones en las concentraciones de hormonas importantes para la gametogénesis y diferenciación sexual (Manjunatha y Philip, 2015). En particular, los peces tratados sufrieron un incremento de los niveles de vitelogenina en plasma (en machos, a partir de 24 h y con un aumento del 400% a las 96 h), disminución de la concentración de 17-β-estradiol

(en hembras, a partir de las 48 h y alcanzando un 40% a las 96 h) y disminución de los niveles en plasma de 11-cetotestosterona (en machos, a partir de las 48h, con una inhibición máxima del 50% a las 96 h). Sumado a estos efectos, los autores registraron alteraciones histopatológicas en las gónadas de ambos sexos a partir de las 24 h de exposición, observando principalmente vacuolización, elongación de los túbulos seminíferos y atrofia folicular.

En otro estudio, se expusieron adultos de guramis (*Trichogaster fasciata*) a 15, 50, 150 y 500 µg/L de formulado comercial de clorpirifos (20% de principio activo), por 15, 30, 45, 60 y 75 días (Sumon et al., 2019). Los resultados indicaron daño histopatológico en ovarios (aglutinación y retracción citoplasmática, folículos atrésicos, necrosis, etc.) y en testículos (túbulos seminíferos de forma irregular y dañados, daño en células de Sertoli, entre otros), dependientes de la concentración de clorpirifos (efectos a partir de 50 µg/L) y del tiempo de exposición (efectos a partir de 15 días de exposición). La concentración de 50 µg/L (1/17 de la CL50-96h calculada por los autores) fue la concentración sin efectos adversos observados (NOAEC) luego de 60 días de exposición. Raibeemol y Chitra (2020) observaron que adultos de la especie *Pseudotroplus maculatus*, expuestos durante 15 y 30 días a 0,7 µg/L o 1,3 µg/L (representando 1/10 y 1/5 de la CL50-96h) sufrieron una disminución significativa de los niveles hormonales de cortisol, hormonas tiroideas, testosterona y estradiol, efectos que fueron concentración y tiempo dependientes. Además, los autores registraron lesiones histopatológicas en las gónadas femeninas y masculinas, acompañadas de la reducción de la cantidad y calidad de espermatozoides y ovocitos.

5.1.2.3 Alteraciones histopatológicas

Existen numerosos estudios realizados en peces que analizan el daño histopatológico causado por la exposición a clorpirifos. En general se describen efectos deletéreos en tejidos como gónadas (ya mencionados brevemente en la sección 5.1.2.2 sobre efectos a nivel reproductivo), branquias, cerebro, intestino, riñones e hígado; lo cual afecta la respiración, la regulación iónica y osmótica, la capacidad absorción y reserva de nutrientes, la capacidad de detoxificación, el crecimiento, la reproducción y, por lo tanto, la supervivencia del individuo.

En adultos de carpa común (*C. carpio*) expuestos a 1,16; 11,6 y 116 µg/L (1/500, 1/50 y 1/5 de la CL50-96h calculada por los autores) por 40 días, se observó, en todos los tratamientos, degeneración del tejido hepático (degeneración hidrópica, vacuolización, núcleos picnóticos, infiltración lipídica) y branquial (hipertrofia, telangiectasia, edema, necrosis general y descamación epitelial) (Xing et al., 2012). En adultos de la misma especie, expuestos durante 21 días a 100 y 200 µg/L (1/6 y 1/3 de la CL50), se evaluó el daño en cerebro, hígado, branquias, riñón y gónadas. Los tejidos presentaron efectos tales como degeneración neuronal, hiperemia, edema, células necróticas, inflamación, hemorragia, entre otros, a partir de la

concentración más baja de estudio (Altun et al., 2017). Khatun et al. (2016), expusieron juveniles de pez gato (*Heteropneustes fossilis*) a 280 y 1420 µg/L (1/10 y 1/50 de la CL50-96h para la especie) por 30 días y encontraron alteraciones histopatológicas severas (desorganización de cordones hepáticos, necrosis, edema en las lamelas branquiales, núcleos picnóticos, vacuolización, pérdida de la estructura glomerular en riñones, etc.), en forma dependiente de la concentración. Namdeo et al. (2020) expusieron juveniles de *Catla catla* a 0,73 µg/L de clorpirifos (aproximadamente 1/5 de la CL50-96h para la especie) por 96 h y encontraron daño histopatológico en hígado (hipertrofia de hepatocitos, proliferación de conductos biliares, necrosis, infiltración linfocítica). Edwin et al. (2019) estudiaron los efectos producidos por la exposición a clorpirifos en branquias de juveniles de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y carpa común (*C. carpio*) expuestas por 10, 20 y 30 días a concentraciones entre 1,9 y 7,6 µg/L (*O. niloticus*: aproximadamente 1/500 y 1/143 de la CL50 registrada para la especie; Huang et al. 2020) y 0,7 y 2,8 µg/L (*C. carpio*: aproximadamente 1/800 y 1/200 de la CL50-96h). Los autores encontraron hiperplasia, edema, necrosis y fusión de lamelas en ambas especies, entre otros efectos, y concluyen que los daños son más severos a mayor concentración y mayor tiempo de exposición.

A diferencia de lo que ocurre con las especies de agua dulce, los estudios en especies marinas son escasos. En uno de ellos, se determinaron los valores de CL50-96h, LOAEC, NOAEC y de valor crítico, luego de una exposición de 30 días a clorpirifos (formulado comercial, 20% ingrediente activo), de larvas de dos especies marino-estuariales: la lisa, *Mugil cephalus* y el sabalote, *Chanos chanos* (Marigoudar et al., 2018). Se determinó daño a nivel del tejido branquial (hiperplasia, necrosis, etc.) y ocular (anormalidades de la retina), además de alteraciones a nivel bioquímico. Los autores determinaron, para *M. cephalus*, un valor de CL50-96h de 1,13 µg/L, mientras que los valores de LOAEC, NOAEC y de valor crítico fueron de 0,09; 0,16 y 0,13 µg/L, respectivamente (representando 1/12, 1/7 y 1/8 de la CL50 determinada). Para *C. chanos*, la CL50-96h fue de 3,2 µg/L, con LOAEC, NOAEC y valor crítico de 0,17; 0,32 y 0,25 µg/L, respectivamente (representando 1/20, 1/10 y 1/12 de la CL50).

5.1.2.4 Alteraciones bioquímicas, estrés oxidativo y genotoxicidad

Es extensa la cantidad de trabajos que analizan las alteraciones bioquímicas y los desbalances que llevan a estrés oxidativo en peces expuestos a clorpirifos. En la revisión de Huang et al. (2020) se compilan 14 estudios con peces (publicados entre 1997 y 2019), en los cuales se observaron efectos a nivel de actividad de superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión-S-transferasas (GST), glutatión peroxidasas (GPx), daño oxidativo a lípidos (como concentración de malondialdehído, MDA), cambios en la concentración de radicales libres de oxígeno (ROS) y de glutatión reducido (GSH). Estos efectos se registraron a concentraciones de clorpirifos entre 0,014 µg/L y 1000 µg/L, y en exposiciones de entre 48 h y 40 días de duración. Las especies en las que se observaron dichos efectos fueron *Astacus leptodactylus*, *Carassius*

auratus, *Cyprinus carpio*, *Chanos chanos*, *Cheirodon interruptus*, *Cnesterodon decemmaculatus*, *Danio rerio*, *Gambusia yucatanana*, *Jenynsia multidentata*, *Oncorhynchus mykiss*, *Oreochromis mossambicus*, *Oryzias latipes* y *Poecilia reticulata*. A modo de ejemplo, Bonifacio et al. (2017) expusieron adultos de *C. interruptus* a 0,014 µg/L de un formulado comercial de clorpirifos por 48 h (48% de principio activo) y registraron una disminución del 73% de la actividad de CAT en cerebro. En otro estudio, adultos de carpa dorada (*C. auratus*) fueron expuestos por 96 h a 15 y 51 µg/L de clorpirifos (1/10 y 1/3 de la CL50-96h para la especie) (Ma et al., 2013). Los autores registraron efectos a partir de la concentración más baja y desde las 24 h de exposición. A las 96 h, en hígado, la actividad SOD se inhibió alrededor de un 40% en el tratamiento de 51 µg/L; CAT se inhibió más de un 20 y 30%, respectivamente y la concentración de MDA aumentó un 40 y 20%, respectivamente. En el cerebro, los cambios en la actividad de SOD fueron leves y la actividad de CAT se incrementó aproximadamente un 33 y 17%, respectivamente. Por último, en un trabajo reciente de Ali et al. (2020) realizado con larvas de *O. mykiss* expuestas a concentraciones de clorpirifos entre 2 y 6 µg/L y de 1 a 21 días, se observó que, entre otros efectos medidos, la actividad de las enzimas SOD y CAT en hígado sufrían inhibición, excepto para las concentraciones más bajas, que a los 7 días de exposición mostraron una actividad superior al control correspondiente. La inhibición máxima de SOD (más de un 70%) se registró a los 21 días en larvas expuestas a 6 µg/L de clorpirifos, mientras que la actividad de CAT resultó estimulada en un 40%, aproximadamente, en larvas expuestas a 2 µg/L de clorpirifos por 7 días.

Otro aspecto a considerar son los efectos genotóxicos reportados en varias especies de peces expuestas a clorpirifos. Ismail et al. (2017) evaluaron la frecuencia de micronúcleos (FMN) como medida de inestabilidad genética en eritrocitos de juveniles de rohu (*Labeo rohita*) expuestos durante 96 h a concentraciones entre 74 y 221 µg/L de formulado comercial de clorpirifos (40% principio activo) (1/6 y 1/2 de la CL50-96h para la especie). Los autores registraron un aumento significativo de micronúcleos en forma dependiente de la concentración y el tiempo de exposición. La FMN observada varió entre 0,61% y 1,19%, con la concentración más alta ensayada, a las 48 y 96 h, respectivamente. Bhatnagar et al. (2016), en un ensayo de toxicidad crónica (hasta 35 días), expusieron larvas del pez mrigal (*Cirrhinus mrigala*), a 20, 40 y 80 µg/L de clorpirifos (formulado comercial, 50% principio activo), siendo estas concentraciones 1/20, 1/10 y 1/5 de la CL50-96h calculada por los autores. Se observó que la mayor inducción de micronúcleos en eritrocitos ocurría a partir de los 14 días de exposición con 80 µg/L (2400% de FMN en el tratado vs. 0,033% en el control), mientras que el efecto mínimo significativo fue a los 2 días de exposición con 40 µg/L (0,401% vs. 0,066%).

De los estudios sobre efectos subletales mencionados en esta sección, se observa que el clorpirifos afecta de manera negativa a los peces desde concentraciones que son de 1 a 3 órdenes de magnitud inferiores con respecto a la CL50 correspondiente a la especie en estudio. En total, con los datos compilados en Huang et al. (2020) y en esta sección, se analizaron 31 trabajos sobre efectos subletales (publicados entre

1997 y 2020). El intervalo de concentraciones de clorpirifos testeadas fue de 0,002 a 1420 µg/L y el tiempo de exposición fue de entre 24 h y 75 días. En total, se estudiaron los efectos del clorpirifos en 24 especies de peces. Huang et al. (2020), en su revisión (y en concordancia con lo detallado en esta sección), sugieren potenciales biomarcadores útiles para la detección de toxicidad por clorpirifos en peces. En primer lugar, mencionan al cerebro (antes que el hígado) como órgano blanco y, en segundo lugar, los parámetros biomarcadores sugeridos son: neurotoxicidad, defensas antioxidantes y daño oxidativo, genotoxicidad, alteraciones hematológicas, alteraciones de conducta e histopatología.

5.1.3 Factores que influyen en la toxicidad de clorpirifos

Los efectos tóxicos descriptos en las Secciones 4.1.1 y 4.1.2 no sólo dependen de la especie y la concentración de clorpirifos, ya que otra serie de factores también interactúan y modifican la toxicidad de este compuesto. Por ejemplo, se ha observado que factores tales como la salinidad del agua, la temperatura, las etapas del ciclo de vida de cada especie y el tiempo de exposición, son determinantes a la hora de evaluar la toxicidad de clorpirifos. Brevemente, se describen algunos estudios sobre estos efectos.

5.1.3.1 Salinidad

Se ha descripto que la salinidad influye en la toxicidad de clorpirifos. En las especies marinas y en aquellas que tienen parte de sus ciclos de vida en dicho ambiente (anádromas y catádromas), la toxicidad por organofosforados es más aguda en comparación con las especies de agua dulce. En la revisión de Huang et al. (2020), se colectaron datos de 32 especies de peces, observándose una mayoría de peces de agua dulce (84%). A partir de dichos datos se observa que el intervalo de CL50-96h para peces marinos varía entre 2 y 520 µg/L, siendo *Tilapia guineensis* la especie más sensible y *G. affinis* la menos afectada, mientras que para peces de agua dulce los valores registrados de CL50-96h se encuentran entre 2,1 µg/L (para el pez espinoso, *Pungitius pungitius*) y 13.030 µg/L (*D. rerio*). Se ha sugerido que esta diferencia de sensibilidad al clorpirifos entre especies marinas y de agua dulce estaría relacionada con la mayor bioactivación de los plaguicidas organofosforados en presencia de mayor salinidad, es decir, a la formación del metabolito oxón (Schlenk y Lavado, 2011). Sin embargo, son escasos los estudios realizados específicamente con clorpirifos y peces en condiciones salinas. Además, la situación contraria fue registrada para juveniles de truchas arcoíris (*O. mykiss*) aclimatadas a aguas salobres (Maryoung et al., 2014). En este trabajo, individuos expuestos a entre 20 y 150 µg/L de clorpirifos en aguas salobres (16 g de sal/kg de agua de mar), presentaron un tiempo efectivo medio de letalidad (TL50) mayor en todas las concentraciones, en comparación a los expuestos a clorpirifos en agua dulce (0,5 g de sal/kg de agua). Por ejemplo, el TL50 en condiciones de hipersalinidad para 100 µg/L de clorpirifos fue de 120 h, mientras que en agua dulce resultó de 49 h. Los autores sugieren que otros

mecanismos bioquímicos y moleculares (además de la vía de inhibición de AChE) estarían implicados en este efecto de la salinidad sobre la toxicidad del clorpirifos.

5.1.3.2 Temperatura

En cuanto al efecto de la temperatura, los estudios con peces expuestos a clorpirifos son muy escasos. Patra et al. (2015) observaron mayor toxicidad de clorpirifos a mayor temperatura. Los autores estudiaron este efecto en juveniles de tres especies de aguas templadas: la carpa plateada (*Bidyanus bidyanus*), el pez arcoíris (*Melanotaenia duboulayi*), la carpa occidental (*Hypseleotris klunzingeri*); y en una especie de aguas frías, la trucha arcoíris (*O. mykiss*). Para esto, los peces fueron aclimatados incrementando no más de 1°C la temperatura del agua por día hasta alcanzar la temperatura de estudio, donde se mantuvieron 15 días previo a la exposición. Las temperaturas testeadas para las especies de aguas templadas fueron de 15 a 35°C, mientras que para trucha arcoíris fueron de 5 a 25°C. Para todas las especies, los autores observaron un incremento de la toxicidad en función de la temperatura. Sólo con *B. bidyanus* se calculó la CL50 a 24, 48, 72 y 96 h a las distintas temperaturas de exposición: se observó que, a todos los tiempos, las CL50 a 35°C (con valores entre 1 y 2 µg/L) fueron alrededor de 1/5 de las CL50 registradas a 15°C. A su vez, se determinó el efecto de la temperatura a través del TL50, calculado para cada combinación de especie, temperatura y clorpirifos (se seleccionó una única concentración, para cada especie, en base a curvas de CE50: 6 µg/L *B. bidyanus*, 440 µg/L *M. duboulayi*, 8,5 µg/L *H. klunzingeri* y 22 µg/L *O. mykiss*). Para todas las especies, se observó una disminución lineal del TL50 al incrementar la temperatura, siendo de aproximadamente 100 h en las temperaturas iniciales (5°C para trucha arcoíris y 15°C para el resto de las especies) hasta ser de aproximadamente 0 – 10 h con las temperaturas más altas testeadas (25 y 35°C). Esto indica que una misma concentración de clorpirifos es letal en menos tiempo de exposición a medida que se incrementa la temperatura. En consecuencia, los autores mencionan la potencial interacción adversa que podría ocurrir en ambientes acuáticos con presencia de clorpirifos frente al incremento de temperatura causado por el cambio climático. En otro trabajo, luego de exponer individuos adultos de *P. reticulata* a un formulado comercial de clorpirifos (48% principio activo), se obtuvo un valor de CL50-96h de 15 µg/L a 17°C (Tapia Vilchez, 2017), el cual fue significativamente menor al reportado para la especie en condiciones óptimas de temperatura (CL50-96h de 176 µg/L a 24°C) (Sharbidre et al., 2011). Esto indicaría que, cuando las especies de peces se encuentran a temperaturas subóptimas (ya sean mayores o inferiores al óptimo), son más vulnerables a compuestos tóxicos como el clorpirifos. Por otro lado, Humphrey y Klumpp (2003) estudiaron los efectos combinados de la temperatura y la exposición a clorpirifos en embriones y larvas del pez *Melanotaenia splendida splendida*. Los autores expusieron embriones (entre 125 y 4000 µg/L) y larvas (entre 16 y 500 µg/L), a 25, 27 y 29°C por 96 h. Encontraron que el clorpirifos, para estos estadios, resultó altamente tóxico, presentando a su vez interacción significativa con la temperatura. Por ejemplo, embriones

incubados a 25°C no sufrieron mortalidad con 125 µg/L de clorpirifos, mientras que la misma concentración causó una mortalidad significativa del 13% a 29°C; de manera similar, la concentración más alta testada causó un 42% de mortalidad a 25°C y el 100% a 27 y 29°C. En las larvas, la concentración menor sólo causó una mortalidad significativa del 12% a 29°C, mientras que la concentración superior causó 96-100% de mortalidad a las tres temperaturas. Como se observa en este estudio, la etapa de desarrollo es también un factor que influye en la toxicidad por clorpirifos.

5.1.3.3 Etapa de desarrollo y tiempo de exposición

En el pez cebra (*D. rerio*) se describe mayor toxicidad por clorpirifos en el estadio larval (CL50-96h 280 µg/L), seguido por el estadio de juveniles (1.320 µg/L) y por último el estadio embrionario (13.030 µg/L) (Wang et al., 2017). En otro trabajo realizado con el rodaballo (*Psetta maxima*), Mhadhbi y Beiras (2012) registraron mayor sensibilidad de las larvas a la exposición de clorpirifos. Las CL50-96h para embriones y larvas fueron de 117 y 95 µg/L respectivamente. Humphrey y Klumpp (2003) analizaron la letalidad de distintos estadios del pez *M. splendida splendida* y encontraron que el orden de mayor a menor susceptibilidad a la exposición por clorpirifos fue: huevos expuestos previo a su fertilización (CL50-96h = 23 µg/L) < larvas de 16 días (117 µg/L) < adultos (396 µg/L) < huevos fecundados (2019 µg/L).

Por otro lado, a exposiciones más largas, la CL50 decrece; es decir, que concentraciones de clorpirifos que pueden resultar inocuas en un plazo corto pueden volverse tóxicas a mayor tiempo de exposición. Por ejemplo, en adultos de carpa común (*C. carpio*) expuestos a un formulado comercial de clorpirifos (40% principio activo), la CL50-24h fue de 861 µg/L mientras que a 96 h fue 203 µg/L (Banaee et al., 2013). En otro estudio, juveniles de *C. carpio* presentaron valores de CL50 a 24 h y 96 h de 794 y 394 µg/L, respectivamente; al igual que juveniles de *Liza abu*, con CL50 24 y 96 h de 371 y 215 µg/L, respectivamente. Lo mismo se observó en exposiciones subletales (300 µg/L clorpirifos) durante 5, 10 y 15 días. El porcentaje de mortalidad se incrementó a lo largo de los días, siendo de 13, 20 y 33%, respectivamente, para *C. carpio*; y de 33, 43 y 50% para *L. abu* (Aitte et al., 2018).

5.1.4 Bioacumulación

Los valores de FBC descriptos para especies de peces se encuentran entre 50 y 5000 para clorpirifos (El-Amrani et al., 2012; Watts, 2012). Esta gran dispersión en cuanto a valores FBC en peces, dependería de las condiciones de ensayo y de la especie de estudio. Por otro lado, si bien los peces bioacumulan este compuesto, también son capaces, al menos en parte, de eliminarlo del organismo. En este sentido, Rao et al. (2005), luego de exponer adultos del pez mosquito (*G. affinis*) a 60 µg/L (1/5 de la CL50-96h) por 20 días, registraron acumulación de clorpirifos en distintos tejidos. El FBC promedio por individuo (L/Kg) luego de 20

días de exposición fue de 38.000 en las vísceras, 3.000 en la cabeza y 2.000 en la carcasa. Además, la acumulación fue máxima dentro de los 4 primeros días de exposición y luego fue decreciendo. Los valores de clorpirifos acumulado por tejido a 4 y 20 días de exposición fueron: vísceras: 12 y 2 mg/Kg > cabeza: 0,8 y 0,2 mg/Kg > carcasa: 0,3 y menos de 0,2 mg/Kg. Por lo tanto, la tasa de depuración de clorpirifos de estos tejidos fue de 2,2; 1,7 y 0,4 ng/h, respectivamente. En otro estudio con embriones de *D. rerio* expuestos a 1 y 10 µg/L de clorpirifos por 48 h, los valores de FBC fueron aprox. 2700 y 5200 L/Kg, respectivamente y en concordancia con otros trabajos compilados por los autores (El-Amrani et al., 2012).

5.1.5 Situación en Argentina

En el país, el incremento de áreas cultivadas de las últimas décadas, junto con el uso intensivo de plaguicidas, han comprometido seriamente la calidad de los cuerpos de agua y a las comunidades biológicas que en ella habitan. Como se mencionó al comienzo de este capítulo, los peces son relevantes como centinelas a la hora de determinar qué compuestos tóxicos se encuentran, tanto de manera permanente como temporal, en dichos ambientes. En este sentido, en el país se estudian los efectos tóxicos del clorpirifos sobre peces y otros organismos acuáticos desde hace varios años. En la Tabla 5.2 se compilan los trabajos publicados en la última década sobre estudios de toxicidad de clorpirifos con distintas especies de peces. En total, se analizaron 18 trabajos (15 de exposición aguda, 1 de exposición crónica, 2 estudios realizados a campo). Dentro de los ensayos de laboratorio, 9 se realizaron con clorpirifos de grado analítico (Paracampo et al., 2014; Bonansea et al., 2016a, b; Bernal-Rey et al., 2017; 2020; López Aca et al., 2018; Caramello et al., 2019; De Anna et al., 2019; Argemi, 2020), mientras que en 8 estudios se evaluaron los efectos de formulados comerciales (Carriquiriborde, 2010; Mugni et al., 2012; Vera-Candioti et al., 2013; Bonifacio et al., 2016, 2017, 2020; Argemi, 2020; Gutierrez et al., 2020) (Tabla 5.2). Cabe mencionar que existen diferencias de sensibilidad frente a la exposición a clorpirifos de grado analítico o formulado comercial. En este sentido, Argemi (2020) comparó los efectos de un formulado comercial de clorpirifos (48% de principio activo) con los provocados por el compuesto analítico (95% de pureza) al exponer juveniles de chanchita (*A. facetus*). Los individuos registraron una CL50-96h de 251 µg/L para clorpirifos de grado analítico, en contraste con la CL50-96h de 39 µg/L para el formulado comercial. En este trabajo se menciona que el efecto de los coadyuvantes presentes en las soluciones comerciales podría potenciar la solubilidad del clorpirifos, aumentando la capacidad de dispersión y su letalidad.

En total, considerando todos los tipos de estudios compilados, las especies evaluadas fueron 12, siendo representantes de 8 órdenes taxonómicos: *Cyprinodontiformes*, *Characiformes*, *Perciformes*, *Atheriniformes*, *Salmoniformes*, *Cypriniformes*, *Mugiliformes* y *Siluriformes*. En cuanto a las etapas de desarrollo, los estudios registrados se realizaron mayormente con ejemplares adultos, salvo por 3 estudios que utilizaron juveniles de sábalo (*Prochilodus linneatus*; Caramello et al., 2019), trucha arcoíris (*O. mykiss*;

De Anna, 2019) y chanchita (*A. facetus*; Argemi, 2020); 2 estudios con estadios larvales de madrecita (*C. decemmaculatus*, Carriquiriborde, 2010) y de pejerrey bonaerense (*Odontesthes bonariensis*; López Aca et al., 2018); y un estudio sobre porcentaje de fecundidad, llevado a cabo con gametas de carpa común (*C. carpio*; Argemi, 2020). De los trabajos compilados, el valor más bajo de CL50 se registró para larvas de *O. bonariensis* (CL50-96h = 2,26 µg/L) mientras que el más alto fue para juveniles de *A. facetus* (CL50-96h = 251 µg/L). Estos valores se encuentran dentro de los intervalos de toxicidad descriptos previamente y concuerdan con la mayor susceptibilidad observada para los estadios larvales.

Del total de trabajos compilados, 9 se realizaron con la madrecita de agua, *C. decemmaculatus*, (1 estudio con crías y los restantes con ejemplares adultos). Cabe destacar que *C. decemmaculatus* es una especie nativa de Sudamérica, que se encuentra distribuida en Argentina, sur de Brasil y Uruguay. Es un teleósteo de agua dulce, no migratorio, vivíparo, de hábitos bentónico-pelágicos; y es una especie muy utilizada en estudios de ecotoxicidad porque se colecta fácilmente y se aclimata a las condiciones de laboratorio. Las CL50-96h registradas para *C. decemmaculatus* fueron de 75 µg/L (para larvas expuestas a un formulado comercial de clorpirifos, 48% principio activo; Carriquiriborde, 2010); y 105 µg/L para adultos expuestos a clorpirifos de grado analítico (Paracampo et al., 2014). Además, Vera-Candioti et al. (2013) registraron una importante diferencia de sensibilidad de los adultos de *C. decemmaculatus* expuestos a dos formulados comerciales distintos. Con uno de ellos, la CL50-96h fue de 30 µg/L mientras que con el otro resultó ser de 210 µg/L. En este trabajo, también se registraron valores de CL50-24h para los dos formulados y se observa que, a mayor tiempo de exposición, mayor es la toxicidad, tal como se describió anteriormente (CL50-24h = 130 y 400 µg/L, para cada formulado, respectivamente). Por un lado, al comparar todos estos valores de CL50 registrados para *C. decemmaculatus* con los de otras especies de peces (detallados en la Sección 5.1.1), se observa que esta especie se encuentra dentro de las más sensibles al clorpirifos (Paracampo et al., 2014). Por otro lado, se observan diferencias de sensibilidad, tanto frente al producto testado (formulado comercial o clorpirifos de grado analítico) como también según la etapa de desarrollo (larva o adultos). Al igual que lo descripto por Argemi (2020), uno de los formulados comerciales testados por Vera-Candioti et al. (2013) fue significativamente más tóxico que lo registrado para clorpirifos de grado analítico (30 vs. 105 µg/L); sin embargo, lo contrario se registró para el segundo formulado testado (210 vs. 105 µg/L). En cuanto a las etapas de desarrollo y en concordancia con lo descripto anteriormente, las larvas de esta especie fueron más sensibles que los individuos adultos. Por último, cabe mencionar que Mugni et al. (2012) estudiaron la mortalidad de adultos de *C. decemmaculatus* expuestos a agua de escorrentía, colectada luego de simular lluvia sobre un cultivo de soja donde se realizaron 3 aplicaciones de un formulado comercial de clorpirifos (48% ingrediente activo; 960 g de ingrediente activo por ha). Se observó que la concentración de clorpirifos detectada decrecía a lo largo del tiempo con sucesivos eventos de escorrentía. Por ejemplo, la concentración de clorpirifos se redujo de 0,35 µg/L en el día 0 (día de aplicación) a 0,06 µg/L en el día 19. Las

muestras de agua de escorrentía del día 0 provocaron un 47% de mortalidad luego de 96 h de exposición de los individuos en el laboratorio; mientras que este porcentaje se redujo a un 5%, aproximadamente, para el agua colectada a partir del día 6. En la tercera aplicación, la mortalidad con las muestras de agua del día 0 fue de un 85%, y recién cesó luego de transcurridos 42 días (siendo aproximadamente un 5%). Esto indicaría que la toxicidad de este compuesto depende no sólo de la concentración, sino también de la cantidad de veces que se aplique a campo y de su persistencia en el ambiente.

En los trabajos compilados también se observan varios efectos subletales en los peces expuestos a clorpirifos. Estos efectos se presentan en detalle en la Tabla 5.2 y se describen brevemente a continuación:

Efectos neurotóxicos: Se registró la inhibición de las actividades AChE cerebral y muscular y de butirilcolinesterasa (BChE) muscular, a partir de 0,4 µg/L de clorpirifos (Bonansea et al., 2016a, b; Bonifacio et al., 2016; 2017; Bernal-Rey et al., 2017, 2020; López Aca et al., 2018). Resulta interesante destacar que, en un estudio realizado con larvas de *O. bonariensis*, se observaron diferencias de sensibilidad a clorpirifos órgano-dependientes en cuanto a la actividad AChE. Los autores registraron mayor sensibilidad de la AChE en la cabeza de las larvas, frente a la enzima del resto del cuerpo, en individuos expuestos de 0 a 20 µg/L durante 96 h (CI50-96h = 0,07 y 0,48 µg/L, respectivamente) (López Aca et al., 2018). Por otro lado, Bernal-Rey et al. (2020) estudiaron el efecto de clorpirifos sobre la actividad de AChE a lo largo de las cuatro estaciones del año, considerando la existencia de ritmos circanales en la actividad base de estas enzimas. Luego de exponer *in vivo* a individuos de *C. decemmaculatus* durante 96 h a 1 y 5 µg/L de clorpirifos (aproximadamente 1/100 y 1/20 del promedio de CL50 registrado para la especie), los autores registraron la inhibición de la actividad AChE en presencia de este compuesto en todas las estaciones del año. El otoño fue la estación más susceptible a este efecto, alcanzando un 55 y 79% de inhibición de la actividad AChE a 1 y 5 µg/L de clorpirifos, respectivamente. En otro estudio, Bernal-Rey et al. (2017), midieron el efecto en la actividad de AChE en dos especies de peces (*C. decemmaculatus* y *G. affinis*) tras una exposición *in vivo* a 1 y 5 µg/L de clorpirifos durante 96 h, encontrando diferencias de sensibilidad entre ambas especies. *C. decemmaculatus* fue la especie que sufrió mayor inhibición enzimática con ambas concentraciones. En el mismo estudio, hicieron ensayos *in vitro* de inhibición de esta enzima con clorpirifos nativo y el metabolito derivado oxón y encontraron diferencias significativas entre las especies solamente con este último, siendo la CI50 de 10,2 nM para *C. decemmaculatus* y de 54,2 nM para *G. affinis*. Se sugiere que esta podría ser una de las causas de la diferente sensibilidad observada *in vivo* entre las especies estudiadas.

Alteración de la conducta natatoria: Se registraron efectos en la actividad natatoria a distintas concentraciones, siendo la menor de 4 µg/L de clorpirifos (Paracampo et al., 2014; Bonansea et al., 2016b; Bonifacio et al., 2016, 2017, 2020). Los cambios registrados fueron respecto a la velocidad de nado, la distancia recorrida y los sectores de la pecera por donde se desplazaban los peces. En adultos de *J. multidentata*, la concentración de 4 µg/L causó una disminución de la velocidad de nado y un incremento del

tiempo de permanencia en el fondo del acuario respecto de los peces control, siendo el efecto leve a las 24 h y muy marcado a las 96 h de exposición (Bonansea et al., 2016b). En correlación con este efecto, a las 96 h se detectó un 76% de inhibición significativa de la AChE muscular. Paracampo et al. (2014) también registraron alteraciones de la actividad natatoria en adultos de *C. decemmaculatus*, siendo estos efectos significativos a partir de 30 µg/L de clorpirifos (1/3 de la CL50-96h registrada por los autores) y a partir de 2 a 6 h de exposición. Con dicha concentración se observaron episodios de natación errática, y a partir de 50 µg/L se observó menor movilidad de los individuos. Adultos de esta especie, tanto en exposiciones agudas (de 48 y 96 h) como en una exposición crónica (42 días), con 0,2 y 1.022 µg/L de formulado comercial (48% principio activo), sufrieron una disminución significativa de la distancia y velocidad de nado, y mayor cantidad de periodos de inmovilidad (Bonifacio et al., 2016; 2017; 2020). Lo mismo se registró, bajo las mismas condiciones de exposición, para *C. interruptus* (Bonifacio et al., 2017).

Efectos a nivel bioquímico y estrés oxidativo: Se observaron alteraciones de las actividades enzimáticas a partir de 0,2 µg/L de formulado comercial (48% principio activo) y de 0,4 µg/L clorpirifos de grado analítico. Brevemente, la actividad de glutatión-S-transferasa (GST) sufrió inhibiciones de entre 25 y 60% con estas concentraciones, en *C. decemmaculatus* y *J. multidentada* (Tabla 5.2; Bonansea et al., 2016a; Bonifacio et al., 2017). La enzima catalasa (CAT) presentó inhibiciones de entre 38 y 73%, en distintos tejidos de *C. interruptus* y *C. decemmaculatus*, con concentraciones de 0,2 y 1.022 µg/L de clorpirifos luego de 48 h de exposición, mientras que la actividad de esta enzima sufrió activación (24 y 94% de incremento, respectivamente) cuando la exposición fue crónica (42 días, efecto estudiado en *C. decemmaculatus*) (Bonifacio et al., 2016; 2017). Otras enzimas y parámetros serológicos afectados en *C. decemmaculatus* frente a la exposición por clorpirifos fueron la actividad de aspartato aminotransferasa (AST) que fue inhibida un 48% con 0,2 µg/L e incrementada un 51% con 1.022 µg/L de formulado comercial de clorpirifos a 48 h de exposición, un incremento de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH; entre 254 y 408%) y del cortisol (un 193%) con las concentraciones de formulado comercial mencionadas (Vera-Candiotti, 2013; Bonansea et al., 2016a, Bonifacio et al., 2016, 2017, 2020).

Genotoxicidad (frecuencia de micronúcleos) y alteración de la expresión génica: Se registraron cambios en la expresión de ARNm de citocromo P450 1A1 (CYP1A1), glicoproteína-P (Pgp), el receptor nuclear PXR y el receptor de hidrocarburo de arilos (AhR) a partir de 0,4 µg/L de clorpirifos (Vera-Candiotti et al., 2013; Bonansea et al., 2016a; Caramello et al., 2019; De Anna et al., 2019; Bonifacio et al., 2020). Otro parámetro medido fue la frecuencia de micronúcleos y de alteraciones de la morfología nuclear, los cuales se incrementaron significativamente con clorpirifos (de grado analítico y formulados comerciales), entre 0,2 y 155 µg/L, en exposiciones de 48 a 96 h (Vera-Candiotti et al., 2013; Caramello et al., 2019; Bonifacio et al., 2020).

Efectos a nivel reproductivo: Se registró una caída del 36% de la fecundación, en gametas de *C. carpio* expuestas *in vitro* a 2 µg/L de clorpirifos (Argemi, 2020). Por otro lado, en el mismo estudio, se evaluaron cambios en las hormonas reproductivas, en individuos de *A. facetus*, expuestos a distintas concentraciones de clorpirifos (entre 0,1 y 600 µg/L) durante 24-96 h. Se encontró que la concentración de andrógenos totales decrecía en forma significativa a partir de los 24 µg/L de clorpirifos de grado analítico (LOAEC; aprox. un 37% menos que el control); mientras que el formulado comercial (48% principio activo) causó este efecto a 38 µg/L (LOAEC, aproximadamente un 22% menos que el control). Por otro lado, se observó que la reducción en la concentración de andrógenos totales fue significativa a partir de las 24 h, y el efecto perduró hasta 9 días luego de la exposición.

En cuanto a la acumulación y bioconcentración de clorpirifos, Bonansea et al. (2016b) expusieron individuos de *J. multidentata* a 0,4 y 4 µg/L de formulado comercial de clorpirifos (48% principio activo) por 96 h, registrando acumulación de este compuesto mayormente en intestino (67 µg/kg), seguido de hígado (58 µg/kg) y por último en branquias (42 µg/kg) (Tabla 5.2). Los valores de FBC para estos órganos fueron entre 133 y 212 L/Kg, en concordancia con lo descripto para otras especies de peces (Sección 5.1.4 Bioacumulación). En otro estudio realizado a campo, se observó que las especies asociadas al fondo de los ambientes acuáticos (bentónicas) presentan mayor acumulación de clorpirifos que las especies que se desplazan a lo largo de toda la columna de agua (nectónicas) (Alvarez, 2014). En este estudio, las especies bentónicas *A. facetus* (chanchita) y *Rhamdia quelen* (bagre) presentaron valores de 2,2 y 1,3 µg/g pez, respectivamente; mientras que las especies nectónicas *Oligosarcus jenynsii* (dientudo) y *Mugil liza* (lisa) presentaron ambas una concentración de 0,3 µg/g. Como se menciona en dicho trabajo, la diferencia entre las especies de distintos hábitos de vida estaría asociada, en gran parte, a que la mayor concentración del plaguicida se encuentra en los sedimentos acuáticos (Gebremariam et al., 2012). Sin embargo, cabe destacar que todas las especies estudiadas acumularon clorpirifos en sus tejidos, siendo mayor lo acumulado en cerebro, hígado y gónadas, en comparación con el músculo (Tabla 5.2). Este patrón de acumulación estaría relacionado con el contenido graso de los tejidos (Alvarez, 2014). Por último, en otro muestreo a campo en el Río de la Plata, se registraron valores de clorpirifos en individuos de sábalo (*P. lineatus*) y carpa común (*C. carpio*), de entre 0,05 y 0,08 µg/g (en *P. lineatus*) y de 0,02 a 0,08 µg/g (para *C. carpio*) y se observa que la concentración de clorpirifos es mayor en los peces de mayor tamaño, lo cual está probablemente relacionado al mayor contenido lipídico de los mismos, además de una mayor longevidad y, por lo tanto, una mayor exposición (Da Rosa, 2019).

5.1.6 Conclusiones

Los trabajos analizados, realizados en el país durante la última década, presentan efectos subletales significativos en concentraciones que van desde 0,2 a 1.000 µg/L y resultan en general entre 1 y 3 órdenes

de magnitud inferiores a la CL50 correspondiente. Los tiempos de exposición fueron de 24 a 42 días y se observa que exposiciones sucesivas a clorpirifos generan mayor toxicidad. Por lo tanto, al finalizar la época de aplicaciones, nos encontraríamos frente al periodo de mayor riesgo para los peces. Además, si se tiene en cuenta que la actividad de AChE podría estar sujeta a variaciones estacionales (como se demostró que ocurre en *C. decemmaculatus*), resulta importante determinar valores de concentración de riesgo que consideren tanto el efecto de la periodicidad como el efecto de la estacionalidad.

Se puede considerar que, en vista de las concentraciones de clorpirifos registradas en ambientes acuáticos de Argentina y a las concentraciones que, como se detalló en esta sección, causan efectos deletéreos, las especies de peces del país se encuentran en situación de riesgo frente a la exposición de clorpirifos. En concordancia, Alvarez et al. (2019) mediante el estudio de la distribución de efectos crónicos (con datos de distintos grupos taxonómicos) determinaron que los peces están dentro de las especies más sensibles a este compuesto. Por otro lado, se observa que la toxicidad del clorpirifos en peces observada en el país, se asemeja a lo descrito para peces en general y a lo registrado en otros países.

Tabla 5.2. Efectos de la exposición a clorpirifos en peces. Estudios nacionales en especies autóctonas o introducidas

Especie/ estadio	Parámetro/ efecto	Referencia
Efectos agudos		
<i>Cnesterodon decemmaculatus</i>		
crías 15d	CL50: 300 µg/L (24 h); 75 µg/L (96 h) (FC)	Carriquiriborde, 2010
adultos	Mortalidad por escorrentía: 46% (d 0); 5% (d 6) (FC)	Mugni et al., 2012
adultos	CL50: 130 µg/L (24 h); 30 µg/L (96 h) (FC Lorsban) 8 - 25 µg/L (48 - 96h), genotoxicidad (FM), citotoxicidad: aumento CL50: 400 µg/L (24 h); 210 µg/L (96 h) (FC Zamba) 52 - 155 µg/L, genotoxicidad (FM) Citotoxicidad: aumento	Vera-Candiotti et al., 2013
adultos	CL50 96h: 105,3 µg/L (PA). 30 µg/L, 2h, actividad natatoria: alterada	Paracampo et al., 2014
adultos	1 µg/L (PA), AChE: inhibición	Bernal-Rey et al., 2017
adultos	1 µg/L (PA), inhibición de AChE estacional: Otoño: 45%; Invierno a Verano: 54-52%	Bernal-Rey et al., 2020
adultos	0,2 µg/L (FC), AChE, CAT, GST en músculo: inhibidas AST: inhibida; Actividad natatoria inhibida Cortisol, LDH séricos aumentados	Bonifacio et al., 2017 Bonifacio et al., 2020
adultos	0,05-15 µg/L (FC), bioacumulación: 10-15 µg/kg	Gutierrez et al., 2020
<i>Jenynsia multidentata</i> adultos	0,4 µg/L (PA): Pgp: aumento; GST: disminución en varios tejidos; bioacumulación: 42-67 µg/kg; Bioconcentración: 133-212 L/kg;	Bonanse et al., 2016a Bonanse et al., 2016b

	BChE cerebral: inhibición; BChE muscular: aumento	
<i>Cheirodon interruptus</i> adultos	0,014 µg/L (FC), CAT cerebral: inhibición	Bonifacio et al., 2017
<i>Odontesthes bonariensis</i> larvas	CL50-96 h: 2,26 µg/L (PA) AChE cerebral, CI50 0,07 µg/L; AChE corporal, CI50 0,48 µg/L	López Aca et al., 2018
<i>Prochilodus linneatus</i> juveniles	90 µg/L (PA), 7d, genotoxicidad (MN y AMN): aumentada	Caramello et al., 2019
<i>Australoheros facetus</i> juveniles	CL50: 251 µg/L (PA); 39 µg/L (FC) Andrógenos totales: caída	Argemi, 2020
<i>Cyprinus carpio</i>	2 µg/L (FC), fecundidad: caída	Argemi, 2020
<i>Oncorhynchus mykiss</i> juveniles	1,4 µg/L, 12h (PA), Intestino: Expresión PXR, ARNT: aumento; CYP1A, AhR: caída Hígado: Expresión Pgp, Mrp2: caída	De Anna et al., 2019
<i>Gambusia affinis</i> adultos	1-5 µg/L (PA), AChE: inhibición	Bernal-Rey et al., 2017
Efectos Crónicos		
<i>Cnesterodon decemmaculatus</i> adultos	0,2 µg/L, 42d, AChE cerebral, CAT hepática: aumento	Bonifacio et al., 2016
Estudios Ambientales - Bioacumulación (µg/g de tejido húmedo)		
<i>Oligosarcus jenynsii</i> adultos	Cerebro (0,16) > Hígado (0,09) > Músculo (0,03)	Alvarez, 2014
<i>Mugil liza</i> juveniles	Cerebro (0,27) > Músculo (0,02) > Hígado (0,01)	
<i>Australoheros facetus</i> adultos	Hígado (1,32) > Gónadas (0,57) > Cerebro (0,23) > Músculo (0,06)	
<i>Rhamdia quelen</i> adultos	Cerebro (0,73) > Hígado (0,37) > Gónadas (0,12) > Músculo (0,1)	
<i>Cyprinus carpio</i> adultos	Lomo (0,057); Hígado (0,038)	Da Rosa, 2019
<i>Prochilodus lineatus</i> adultos	Lomo (0,076); Hígado (0,052)	

Abreviaturas: FC: Formulado comercial; PA: principio activo; CL50: concentración letal-50%; CI50: concentración inhibitoria-50%; FM: frecuencia de micronúcleos; AMN: alteraciones de la morfología nuclear; AChE: acetilcolinesterasa; BChE: butirilcolinesterasa; CAT: catalasa; GST: glutatión-S-transferasa; AST: aspartato aminotransferasa; LDH: lactato deshidrogenasa; Pgp: glicoproteína-P; Mrp2: proteína de resistencia a múltiples drogas-2; CYP1A: citocromo P450 1A; PXR: receptor X de pregnano; AhR receptor de hidrocarburo arilo; ARNT: traslocador nuclear del AhR.

5.2 Anfibios

La clase Amphibia está compuesta por 3 órdenes que en conjunto suman 6892 especies a nivel mundial. De éstas, 2276 se encuentran amenazadas (https://nc.iucnredlist.org/redlist/content/attachment_files/2020-2_RL_Stats_Table1b.pdf; acceso 18/08/2020), lo que representa un 33% del total de especies. A su vez, el 84% de las especies amenazadas a nivel global corresponden al orden Anura, al que pertenecen sapos y ranas, y sobre los cuales se centrará este capítulo.

En Argentina, de 304 especies amenazadas en total, 34 corresponden a anfibios (<https://www.iucnredlist.org/statistics>; Tabla 5; acceso 18/8/2020). Las principales causas directas de los cambios en la biodiversidad incluyen modificaciones en el uso de la tierra y el mar, explotación directa de los organismos, cambio climático, contaminación e introducción de especies invasivas (Díaz et al., 2019). En el

caso particular de los anfibios, entre las causas del descenso global observado desde 1980 se encuentran la pérdida y/o modificación del hábitat, la contaminación, el fuego, las enfermedades y patógenos, las especies invasoras, su uso y los desastres naturales (Stuart et al., 2004; Vaira et al., 2018). De acuerdo con Hoffmann et al. (2010), los anfibios enfrentan una situación especialmente complicada al encontrarse fuertemente amenazados y ser objeto de bajos niveles de esfuerzos de conservación. Además, existe escasa información respecto de su sensibilidad frente a sustancias tóxicas, que podría ser superior a la de las especies subrogantes de peces utilizadas en ensayos de toxicidad (Venturino et al., 2003; Ortiz-Santaliestra et al., 2017).

En Argentina, la principal amenaza para la supervivencia de los anfibios ha sido la pérdida y/o modificación del hábitat, seguida de la alteración del hábitat por contaminación química y biológica (Vaira et al., 2012). En lo que respecta a la contaminación química, Vaira et al. (2018) señalan que la mayor parte de las investigaciones en anfibios han sido desarrolladas bajo condiciones de laboratorio, y que los estudios realizados a campo o *in situ* resultan insuficientes. En un estudio recientemente publicado, Alvarez et al. (2019) señalan que existe entre un 35% y un 96% de probabilidad para efectos agudos y crónicos, respectivamente, de que las concentraciones ambientales de clorpirifos halladas en la Pampa Húmeda superen la concentración de riesgo para el 5% de las especies (HC5: 0,0637 µg/L para riesgo agudo y 0,0007 µg/L para riesgo crónico). A partir de la literatura relevada, los autores indican que los artrópodos y peces son los taxones más sensibles a la contaminación por clorpirifos, mientras que anuros y moluscos se ven afectados a mayores concentraciones. Además, Alvarez et al. (2019) señalan que el criterio de calidad de agua de Argentina (valor de referencia de 0,006 µg/L) se ve superado en 62% de los casos analizados en el estudio.

5.2.1. Situación de los anfibios en la República Argentina

5.2.1.1 Estudios *in situ* y *ex situ*

Diversos grupos de investigación han realizado exposiciones *in situ* y *ex situ* de anfibios y han analizado los plaguicidas presentes en las zonas de muestreo, tanto en agua como en sedimentos. Los estudios reportados aquí documentan una gama de efectos de clorpirifos sobre diferentes puntos finales y para diferentes especies anfibias nativas de Argentina. Se evaluó supervivencia e incidencia de malformaciones, velocidad de crecimiento y desarrollo, condición física, alteraciones genéticas e inmunológicas y alteraciones bioquímicas en las actividades de enzimas marcadoras de exposición a organofosforados y de enzimas que participan de la defensa antioxidante. Los resultados obtenidos en los estudios *in situ* y *ex situ* realizados en la República Argentina se encuentran compilados en la Tabla 5.3. En total se analizaron 8 trabajos de investigación.

Entre dichos estudios, Peltzer et al. (2008) realizaron ensayos *in situ* con *Scinax nasicus* durante 7 días en lagunas control y que recibían escorrentía procedente de plantaciones de soja en la provincia de Entre Ríos. Los resultados obtenidos indicaron que las lagunas mostraban eutrofización por la escorrentía recibida, y que esta afectó la supervivencia y la salud de larvas de *S. nasicus*. Los autores detectaron plaguicidas organoclorados en todos los sitios, incluyendo el de referencia. Además, observaron una inhibición significativa de la actividad de colinesterasa cerebral en larvas expuestas en las lagunas agrícolas, a pesar de que no se detectaron plaguicidas organofosforados. Además, las larvas se desarrollaron más lentamente que las de la zona de referencia, presentaron un elevado porcentaje de mortalidad y mayor lisis de eritrocitos, junto a una elevada prevalencia de parásitos intestinales. En un estudio de microcosmos utilizando sedimento extraído de lagunas ubicadas en sitios agrícolas de la provincia de Entre Ríos, Peltzer et al. (2013) caracterizaron su toxicidad para larvas de *Trachycephalus typhonius*. El ensayo tuvo una duración de 79 días. Los autores no observaron efecto del sedimento sobre la supervivencia (excepto hacia el final del ensayo), pero tuvo efectos subletales sobre la velocidad de desarrollo y el tamaño y forma de los individuos. Los metamorfos expuestos a los sedimentos de sitios contaminados tuvieron menor tamaño y mostraron daño en el ADN y alteraciones bioquímicas (con disminución de la actividad de butiril colinesterasa -BChE- y aumento de la actividad de glutatión S-transferasa-GST). El análisis de plaguicidas en sedimento indicó que los niveles de clorpirifos se encontraban por debajo del límite de detección de la técnica.

En otro estudio *in situ* desarrollado en la ecorregión de la pampa húmeda, Brodeur et al. (2011) determinaron la condición física, la carga de parásitos y la actividad de enzimas antioxidantes en adultos de diferentes especies (*Leptodactylus latinasus*, *R. fernandezae*, *Leptodactylus ocellatus* y *Boana pulchella*). Asimismo, realizaron determinaciones de plaguicidas en el agua de las lagunas muestreadas. Los autores utilizaron 3 sitios de referencia y 6 sitios que se encontraban en los márgenes o entre campos de soja. Las visitas para muestreo se realizaron al menos 3 semanas después de la aplicación de plaguicidas en los campos, de acuerdo con lo informado por los dueños y administradores. Clorpirifos fue detectado en el agua de 3 de los sitios muestreados de los campos de soja, en concentraciones que variaron entre 0,3 y 0,53 µg/L. No se observaron diferencias significativas en la carga de parásitos ni en la prevalencia de malformaciones externas. Se observó una menor condición física en los adultos provenientes de los campos de soja, por lo que la reproducción y supervivencia de las poblaciones que allí habitan podrían encontrarse reducidas. Se observaron tres modificaciones enzimáticas en hígado: aumento de la actividad de catalasa (CAT) y colinesterasa e inhibición de la actividad de GST. Los anuros muestreados en los campos de soja presentaron una, dos o tres de estas modificaciones, dependiendo del sitio y la especie. Las modificaciones bioquímicas observadas sugieren alteraciones fisiológicas y un mayor costo energético de mantenimiento en los anuros que habitan los campos de soja. Otra explicación para la reducción en su condición física podría ser la menor

área del hábitat que los anuros ocupan y la reducción en la disponibilidad de presas debido a las aplicaciones de plaguicidas que allí se realizan.

Agostini et al. (2013) analizaron la incidencia de malformaciones en el noroeste de la provincia de Buenos Aires sobre adultos de *R. fernandezae*, *B. pulchella*, *Scinax granulatus* y *Pseudis minuta*, y adultos y juveniles de *Leptodactylus latrans*. Se muestrearon 7 lagunas temporarias ubicadas en áreas cultivadas y 3 sitios de referencia. Se detectó clorpirifos en sedimentos de las lagunas de áreas cultivadas en una concentración de $5 \pm 2 \mu\text{g}/\text{kg}$. La prevalencia de malformaciones fue significativamente mayor en las áreas cultivadas respecto de la zona de referencia. Los autores señalan diversas razones que podrían contribuir al incremento de malformaciones en estas especies además de la presencia de plaguicidas, como la eutrofización de las lagunas (evidenciada en la disminución de concentración de oxígeno disuelto observada), infección por parásitos, predadores y radiación ultravioleta (aunque estas posibilidades no fueron analizadas en el estudio).

En la provincia de Santa Fe, Attademo et al. (2015) determinaron la actividad de enzimas antioxidantes, detoxificantes y marcadores de exposición a organofosforados en tejidos digestivos de adultos de *Lysapsus limellium* colectados en un campo de arroz y en un sitio de referencia. Los muestreos se realizaron 24 h y 168 h después de la aplicación aérea de clorpirifos (grado comercial, 48% ingrediente activo; $500 \text{ cm}^3/\text{ha}$). La concentración de clorpirifos hallada en agua del arrozal disminuyó desde $1388 \pm 0,2 \text{ ng}/\text{L}$, detectados 24 h post-aplicación, a $97 \pm 5,1 \text{ ng}/\text{L}$ luego de 7 días de su aplicación. Se observó mortalidad de individuos luego de la aplicación del insecticida en el arrozal, con inhibición de acetilcolinesterasa (AChE), carboxilesterasa (CabE), CAT y GST en tejidos digestivos. La toxicidad ejercida por clorpirifos a nivel bioquímico en *L. limellium* pondría en riesgo también a especies simpátricas. Asimismo, los autores indican que la medición de actividades enzimáticas como biomarcadores permitiría comprender los efectos de los plaguicidas sobre las especies anfibia expuestas, así como también establecer límites seguros de uso de estos productos en el ambiente.

Sansiñena et al. (2018) evaluaron la toxicidad de sedimentos extraídos de zonas de intensa actividad agrícola de las afueras de la ciudad de La Plata, provincia de Buenos Aires, sobre larvas de *B. pulchella* durante 10 días. Los autores no observaron efecto de los sedimentos sobre la supervivencia de las larvas, pero sí observaron una inhibición significativa del crecimiento en individuos expuestos al sedimento de un sitio que contenía numerosos plaguicidas, entre los que se encontraba clorpirifos a una concentración de $26 \mu\text{g}/\text{kg}$ peso seco. Además, observaron un incremento significativo de la frecuencia de malformaciones en larvas expuestas al sedimento de otro sitio que contenía diversos plaguicidas, incluyendo clorpirifos ($9 \mu\text{g}/\text{kg}$ peso seco). Los autores resaltan la importancia de analizar puntos finales como la ocurrencia de alteraciones

morfológicas, que en este estudio permitió detectar toxicidad cuando otros puntos finales no resultaron afectados.

Huespe et al. (2017) analizaron la respuesta de marcadores de estrés oxidativo a nivel inmunohistológico (melanomacrófagos) y a nivel bioquímico (actividad de GST) en hígado de adultos de *Leptodactylus chaquensis* colectados en un arrozal de la provincia de Santa Fe, contrastando las respuestas con adultos colectados en un sitio de referencia. Los individuos fueron colectados 7 días después de la aplicación de clorpirifos (grado comercial, 48%; 800 cm³/ha). Los autores observaron una inhibición de la actividad de GST y un aumento del número de melanomacrófagos en hígado de individuos que habitaban el arrozal, en comparación con los del sitio de referencia. De acuerdo con los autores, estas respuestas son indicativas de estrés oxidativo en los individuos y representan el riesgo al que se encuentran expuestos debido al uso intensivo de clorpirifos en los arrozales.

Un estudio recientemente publicado por Agostini et al. (2020) analizó si las prácticas de manejo de plagas asociadas a la agricultura transgénica en la provincia de Santa Fe afectan a las especies anfibias nativas, realizando ensayos *in situ*. Los autores monitorearon efectos letales (mortalidad) y subletales (movilidad) en larvas de cuatro especies que habitan lagunas adyacentes a campos cultivados (n=71), midiendo los efectos luego de la aplicación de plaguicidas, y comparando con lagunas de referencia (n=20). Se evaluaron los efectos de 20 aplicaciones de plaguicidas durante las temporadas reproductivas de los anfibios (octubre a marzo) en los años 2010-2012 y 2016-2017. Se determinó la presencia de plaguicidas en agua antes de las aplicaciones, detectándose endosulfán (organoclorado) y clorpirifos en 7 de los sitios adyacentes a campos cultivados, en concentraciones que variaron entre 0,9 y 3,9 µg/L. Luego de su aplicación, se detectaron plaguicidas en 63 de las 71 lagunas adyacentes a campos cultivados. La concentración de clorpirifos detectada varió entre 176,9 y 256,6 µg/L. En los sitios muestreados en los que se aplicó clorpirifos (junto con glifosato) se observó una disminución significativa de la supervivencia de larvas de *B. pulchella* y *L. latrans*, lo que impidió determinar efectos sobre la movilidad ya que la supervivencia luego de 48 h de la aplicación fue inferior al 10%. Los autores sugieren que las prioridades en el área de conservación deberían centrarse en el desarrollo de una mejor legislación que regule el uso de plaguicidas y que proteja no sólo a los asentamientos humanos sino también a humedales y hábitats terrestres nativos.

Tabla 5.3 Estudios en anfibios *in situ* y *ex situ* con detección de clorpirifos– Argentina: Parámetros biológicos, bioquímicos y moleculares

Especie - Estadio	Parámetros afectados	Referencia
<i>Scinax nasicus</i> (larvas)	Supervivencia, velocidad de crecimiento y desarrollo, AChE: disminuido Parásitos, genotoxicidad (MN): aumentado	Peltzer et al. (2008)
<i>Leptodactylus latinasus</i>	Condición física: disminuido	Brodeur et al. (2011)

(adultos)		
<i>Rhinella fernandezae</i> (adultos)	Condición física: disminuido	Brodeur et al. (2011)
	Malformaciones: aumentado	Agostini et al. (2013)
<i>Leptodactylus ocellatus</i> (adultos)	AChE, CAT: aumentado; GST, Condición física: disminuido	Brodeur et al. (2011)
<i>Boana pulchella</i> (larvas)		
	Malformaciones: aumentado	Sansiñena et al. (2018)
	Velocidad de crecimiento: disminuido	Agostini et al. (2020)
	Supervivencia: disminuido	Agostini et al. (2013)
(adultos)	Malformaciones: aumentado	Brodeur et al. (2011)
	CAT: aumentado; GST: disminuido	
<i>Leptodactylus latrans</i> (larvas)		
(juveniles)	Supervivencia: disminuido	Agostini et al. (2020)
(adultos)	Malformaciones: aumentado	Agostini et al. (2013)
	Malformaciones: aumentado	
<i>Trachycephalus typhonius</i> (larvas)		
	Supervivencia, BChE: disminuido	Peltzer et al. (2013)
	Malformaciones, velocidad de crecimiento, días a metamorfosis, GST, genotoxicidad (MN): aumentado	
<i>Lysapsus limellium</i> (adultos)		
	Supervivencia, AChE, CabE, GST, CAT: disminuido	Attademo et al. (2015)
<i>Leptodactylus chaquensis</i> (adultos)		
	Melanomacrófagos: aumentado	Huespe et al. (2017)
	GST: disminuido	

MN: frecuencia de micronúcleos. AChE: acetilcolinesterasa; BChE: butirilcolinesterasa; CabE: carboxilesterasa; CAT: catalasa; GST: glutatión S-transferasa.

5.2.1.2 Estudios en condiciones controladas de laboratorio

Todos los parámetros analizados en ensayos de laboratorio sobre especies nativas en la República Argentina se encuentran sistematizados en la Tabla 5.4. Se analizaron en total 11 trabajos de investigación sobre el efecto de clorpirifos en embriones, larvas y adultos de anfibios nativos. En 5 de los trabajos se utilizaron larvas, 3 trabajos se realizaron con embriones, 2 trabajos con adultos y en 1 se utilizaron tanto embriones como larvas. Se observan diferencias de sensibilidad entre especies y entre estadios de vida para una misma especie, teniendo los embriones una CL50 superior a estadios de vida más avanzados, ya que la gelatina que contiene a los embriones tempranos, no eclosionados, puede actuar como una barrera protectora frente a la exposición a contaminantes.

Sotomayor et al. (2012) determinaron la CL50 a 48, 120 y 144 h para embriones de *Rhinella arenarum* (sin degelatinizar) expuestos desde fertilización a clorpirifos grado analítico. La CL50 disminuyó al transcurrir el tiempo de exposición, desde 23,3 mg/L (48 h) hasta 13,5 mg/L (144 h). También observaron un incremento en la frecuencia de aparición de malformaciones a 120 y 144 h de exposición y una disminución temprana de la actividad de la enzima ornitina decarboxilasa (ODC) en embriones expuestos por 48 h, acompañada por

una disminución de los niveles de poliaminas (indispensables para el desarrollo embrionario). Los autores sugieren la utilidad de ODC como biomarcador de exposición a plaguicidas organofosforados, al observarse un efecto inhibitorio sobre su actividad a concentraciones 12 veces menores que la CL50. En otro estudio publicado por Sotomayor et al. (2015), se calculó la EC50 para detención del desarrollo de embriones hasta el estadio de gástrula tardía como punto final, siendo ésta de 21,3 mg/L. A concentraciones subletales de clorpirifos (entre 2 y 14 m/L), los autores reportan un aumento de los niveles de GSH y una disminución de la actividad de GST, indicativos de una alteración del sistema de defensa antioxidante. Además, observaron inducción de la actividad de CAT y de los niveles nucleares de las proteínas c-Fos y Mek, que podrían actuar como nexos entre el estrés oxidativo y la alteración del desarrollo embrionario observada.

En un estudio realizado con larvas de 10 días de *R. arenarum*, Liendro et al. (2015) determinaron parámetros toxicológicos a 96 h para clorpirifos grado analítico, usando la mortalidad como punto final. La CL50 calculada fue de $1,46 \pm 0,27$ mg/L, la LC10 fue de 0,81 mg/L y la LC1 fue de 0,43 mg/L. Se observó un aumento significativo en el porcentaje de malformaciones en larvas expuestas a 2 mg/L clorpirifos por 96 h. Se realizaron análisis bioquímicos sobre enzimas marcadoras de exposición a organofosforados y el sistema de defensa antioxidante en las larvas supervivientes a las exposiciones agudas. Se observó una disminución significativa de las actividades de AChE, CabE y CAT y un incremento de los niveles del antioxidante GSH. Además, los autores realizaron exposiciones agudas por 96 h a concentraciones subletales de clorpirifos (0,1 y 0,5 mg/L) y analizaron nuevamente dichos parámetros a 24, 48 y 96 h. Observaron una disminución significativa en la actividad de CabE y de AChE, y estimaron para esta última una IC50 de $0,113 \pm 0,026$ mg/L. La actividad de CAT disminuyó significativamente luego de 96 h de exposición, mientras que la actividad de GST no mostró cambios significativos. Los niveles de GSH se incrementaron inicialmente y a las 96 h retornaron a valores control. El potencial antioxidante reactivo total (TRAP) aumentó a las 24 h de exposición para luego volver a valores control. Los autores señalan que las concentraciones elevadas de clorpirifos que puedan alcanzarse en pequeñas lagunas o charcas luego de su aplicación amenazarían la supervivencia de las larvas que los habitan. Además, las concentraciones subletales generarían estrés oxidativo e inhibición de esterasas, comprometiendo el progreso del desarrollo.

Lajmanovich et al. (2015) utilizaron machos adultos de *R. arenarum* para evaluar los efectos de la exposición dérmica a 10 mg/L de un formulado comercial de clorpirifos (48% de ingrediente activo) durante 48 h (entre otros plaguicidas ensayados). Los autores no observaron alteraciones del comportamiento en los individuos. Las esterasas CabE y BChE resultaron inhibidas significativamente. Respecto de parámetros de estrés oxidativo, observaron un incremento de peróxidos lipídicos y no se registraron cambios en la actividad de GST. Los autores además detectaron un aumento en el daño al ADN en los individuos expuestos y no observaron signos de estrés para el sistema inmune al analizar indicadores hematológicos. Continuando con este tipo de estudios, Lajmanovich et al. (2018), analizaron nuevamente el efecto de la exposición dérmica a

5 y 10 mg/L de un formulado comercial de clorpirifos (48% de ingrediente activo) durante 48 h. Tal como se informó en el ensayo anterior, no se observaron alteraciones del comportamiento en los individuos expuestos. Los autores confirmaron la inhibición de BChE y CabE, así como también una situación de estrés oxidativo evidenciada por el aumento de la actividad de CAT como consecuencia de la exposición a clorpirifos.

Attademo et al. (2017) realizaron un ensayo de microcosmos con larvas de *R. arenarum* a fin de determinar si la dieta recibida (lechuga o pellets de alto contenido proteico y lipídico) influía sobre la capacidad de detoxificación de un formulado comercial de clorpirifos (48% ingrediente activo) en larvas de 5 días expuestas a 125 µg/L de clorpirifos durante 10 días. La dieta recibida no alteró la longitud ni el peso corporal de las larvas expuestas a clorpirifos. Se midieron las actividades de AChE y CabE en hígado e intestino de las larvas al final del ensayo. La actividad de CabE intestinal fue más sensible a la inhibición por clorpirifos que la actividad AChE. Además, el menor efecto inhibitorio del plaguicida sobre la CabE hepática sugeriría un papel fundamental de la CabE intestinal, al reducir la captación de clorpirifos y por ende su toxicidad al unir el metabolito clorpirifos-oxón. Los autores sugieren que el tracto gastrointestinal de las larvas sería un microambiente activo en lo que respecta al metabolismo de xenobióticos, que a su vez dependería de la dieta recibida.

En un estudio realizado con larvas y premetamorfos de *Ceratophrys ornata*, Salgado Costa et al. (2018) analizaron el efecto de un rango de concentraciones de clorpirifos (entre 0,01 y 0,7 mg/L) en exposiciones agudas (96 h) y crónicas (240 y 336 h) sobre la producción de sonidos y otros puntos finales (mortalidad, comportamiento, anormalidades morfológicas y crecimiento). Los autores observaron que las concentraciones de clorpirifos utilizadas, cercanas a las observadas en la naturaleza, afectan un comportamiento clave para *C. ornata* como lo es la emisión de sonidos (esencial para la supervivencia y la dinámica poblacional de la especie). A su vez, existe una progresión de efectos negativos que acompañan a las alteraciones en la emisión de sonidos, iniciando con las alteraciones de la natación, seguidas de malformaciones leves y severas, y culminando en la muerte de los individuos expuestos.

Quiroga et al. (2019) analizaron la sensibilidad de larvas de *R. arenarum* expuestas a concentraciones subletales de un formulado comercial de clorpirifos (48% ingrediente activo) sobre dos rasgos sensibles a la temperatura: el rendimiento natatorio y los límites de tolerancia térmica máximo y mínimo. Los autores observaron que a medida que la concentración de clorpirifos aumentaba, disminuía el rendimiento natatorio, la distancia recorrida y los límites máximo y mínimo de tolerancia térmica. Los autores sugieren que concentraciones subletales de clorpirifos podrían afectar la condición física y la supervivencia de las larvas y que podrían conducir a una merma poblacional, ya que producen efectos tóxicos sensibles a la temperatura. Asimismo, los autores indican que los efectos subletales de clorpirifos serían cada vez más evidentes en el futuro debido al aumento de la temperatura ambiental por el calentamiento global.

Pires et al. (2020) analizaron el efecto de concentraciones subletales de clorpirifos (0,5 y 1 mg/L) sobre el metabolismo de poliaminas en embriones de *R. arenarum* expuestos durante 10 días. Los autores indican que no se observan cambios en los niveles de poliaminas en embriones expuestos a clorpirifos, aunque la actividad de enzimas de degradación oxidativa de poliaminas sí se ve afectada. Los autores proponen la determinación de la actividad de poliamino oxidasa como biomarcador de exposición a clorpirifos, ya que su actividad se incrementa en embriones tempranos que no muestran alteración de la actividad de AChE, marcador clásico de exposición a organofosforados. Asimismo, sugieren que un incremento de la degradación oxidativa de poliaminas debido a la exposición a clorpirifos llevaría a un aumento en la producción de especies reactivas, con la consecuente alteración del sistema de defensa antioxidante.

En larvas de *Boana pulchella* expuestas durante 96 h a concentraciones ambientalmente relevantes de clorpirifos, Barreto et al. (2020) determinaron una CL50 de 0,976 mg/L y una EC50 (para alteraciones natatorias como punto final) de 0,439 mg/L. Los autores observaron una asociación entre la alteración del nado, la disminución observada de las actividades de AChE y CabE y el aumento de la actividad de GST. Esta asociación evidenciaría la alteración de mecanismos clave para las larvas de la especie y podría poner en juego la supervivencia de los individuos en la naturaleza.

Recientemente, Cuzziol Boccioni et al. (2020) publicaron el primer trabajo que analiza de qué manera una mezcla de herbicida, insecticida y antibióticos afecta el estado de salud de larvas de anuros. Los autores midieron diferentes puntos finales a distintos niveles de organización. El estudio consistió en dos periodos de exposición: en el primero, se ensayaron diferentes concentraciones de herbicida basado en glifosato y del antibiótico ciprofloxacina solos y en combinación 50%-50% v/v sobre embriones de *R. arenarum* durante 14 días (desde embriones a larvas premetamórficas). Luego de que se utilizaron las larvas necesarias para medir los puntos finales (supervivencia, crecimiento, estadio de desarrollo alcanzado, alteraciones morfológicas y niveles de la hormona T4), las restantes (no malformadas) fueron transferidas a la segunda fase del experimento. En esta fase, las larvas fueron divididas en dos grupos: en el primero, continuaron sometidas a los mismos tratamientos del periodo anterior, y el segundo grupo fue expuesto a nuevos tratamientos. Estos tratamientos consistieron en mezclas binarias del herbicida y el insecticida clorpirifos, y de ciprofloxacina y amoxicilina (ambas combinaciones al 50% v/v); y sus mezclas cuaternarias (25% herbicida-25% clorpirifos-25% ciprofloxacina-25% amoxicilina v/v). Cada tratamiento fue ensayado a dos concentraciones nominales. Las larvas fueron expuestas durante 4 semanas en la segunda fase del experimento (hasta prometamorfosis), con renovación de los medios cada 48 h. Los puntos finales medidos al final del segundo periodo de exposición fueron supervivencia, crecimiento, estadio de desarrollo alcanzado, niveles de la hormona T4, actividad de GST y actividad de AChE. Los autores señalan que los resultados obtenidos apoyan la hipótesis de que los contaminantes, por separado y mezclados, ejercen efectos tóxicos directos e indirectos sobre las

larvas, incluyendo el retardo del desarrollo, la ocurrencia de malformaciones y la alteración hormonal y enzimática, con aumento de los niveles de T4 y una disminución de las actividades de GST y AChE. El biomarcador más sensible frente a las mezclas complejas de contaminantes ensayadas fue la actividad de GST, que fue inhibida únicamente por las mezclas cuaternarias de herbicida + clorpirifos + ciprofloxacina + amoxicilina. La mortalidad observada en ambas fases del estudio fue mínima, lo que confirma que los contaminantes evaluados ejercen efectos subletales a concentraciones ambientalmente relevantes. La elevada frecuencia de malformaciones observada en la primera fase del estudio constituye evidencia del riesgo ecotoxicológico al que se enfrentan los estadios embrionarios tempranos de anfibios anuros cuando se encuentran expuestos a contaminantes teratogénicos, solos o en combinación, como los ensayados. Los autores indican que los resultados obtenidos resaltan la importancia de analizar biomarcadores a diferentes niveles de organización y de realizar evaluaciones a largo plazo. De este modo, las evaluaciones de riesgo deberían considerar el uso de ensayos crónicos con mezclas de contaminantes y la evaluación de diversos biomarcadores a lo largo del desarrollo de los anfibios, ya que podrían proveer mayor protección ambiental a sus poblaciones.

Recientemente también se aplicaron por primera vez en un anfibio de Argentina, técnicas de secuenciación masiva para analizar entre otros los efectos a escala transcriptómica del clorpirifos a concentraciones subletales (1/15 de la CL50) en larvas de *R. arenarum* (Ceschin, 2017; Ceschin et al., 2020). El análisis transcriptómico encontró efectos masivos del clorpirifos sobre la expresión de vías metabólicas y genes en particular, que permitirían identificar daños en forma muy temprana y mediante una técnica muy potente que podría servir a futuro como huella digital ambiental de un contaminante (Ceschin, 2017; Venturino, 2017).

Tabla 5.4 Estudios de laboratorio en anfibios de Argentina: Parámetros toxicológicos, morfofisiológicos, bioquímicos y moleculares

Especie/ estadio	Diseño – punto final de toxicidad	Parámetros biomarcadores	Referencia
<i>Rhinella arenarum</i> embriones	PA, 0-32 mg/L, agudo 24h CE50 arresto: 21,3 mg/L	Malformaciones: aumento CAT, GSH, expresión cFOS, MEK: aumento GST: disminución	Sotomayor et al. (2015)
embriones	PA, 0-16 mg/L, subcrónico 6d. CL50: 13,5 mg/L	Malformaciones: aumento Poliaminas, ODC: disminución	Sotomayor et al. (2012)
embriones	PA, 0,5 y 1 mg/L, 10d	PAOX: aumento DAO, SMOX: disminución	Pires et al. (2020)
larvas	PA, 96h. CL50 1,46 mg/L; CL10 0,81 mg/L; CL1 0,43 mg/L	Malformaciones, GSH: aumento AChE, CabE, CAT, TRAP: disminución	Liendro et al. (2015)
larvas	FC, 96h, 0,01 a 0,075 mg/L. 15 a 35°C	Tolerancia térmica, actividad natatoria: disminución	Quiroga et al. (2015)

larvas	FC 125 ug/L, microcosmos, 10d	AChE, CabE: disminución	Attademo et al. (2017)
larvas - prometamorfos	Mezcla cuaternaria + herbicida + antibióticos	Crecimiento: disminución	Cuzziol Boccioni et al. (2020)
adultos	FC, 5-10 mg vía dermal	BChE, CabE: disminución CAT, PL, daño ADN: aumento	Lajmanovich et al. (2015); (2018)
<i>Boana pulchella</i>	PA, 0,005-1 mg/L, 96h.	Alteraciones natatorias	Barreto et al. (2020)
larvas	CL50:0,976 mg/L		
<i>Ceratophrys ornata</i>	PA, 0,01 a 0,7 mg/L, agudo.	Crecimiento: disminución	Salgado Costa et al. (2018)
Larvas	Estadio 25: 96 h CL50: 0,185 mg/L EC50-nado: 0,02 mg/L Crónico. Estadio 25: 10 d CL50: 0,013 mg/L LOEC-nado: 0,025 mg/L	Malformaciones, nado: aumentado Alteraciones en emisión acústica	
premetamorfos	Agudo. Estadio 31: 96 h CL50: 0,121 mg/L EC50-nado: 0,069 mg/L Crónico. Estadio 31: 10-14 d CL50: 0,102 mg/L. EC50-nado: 0,066 mg/L		

PA: principio activo; FC formulado comercial; CE50: concentración de efecto 50%. AChE: acetil colinesterasa; BChE: butiril colinesterasa; CabE: carboxil esterasa; CAT: catalasa; DAO: diamino oxidasa; GSH: glutatión reducido; GST: glutatión S-transferasa; ODC: ornitina decarboxilasa; PAOX: N¹-acetilpoliamino oxidasa; PL: peróxidos lipídicos; SMOX: espermina oxidasa; TRAP: potencial antioxidante total reactivo; cFOS: factor de transcripción componente de la Proteína Activadora 1 (AP1); MEK: Proteína Quinasa extracelular activada por mitógeno.

5.2.2 Situación a nivel mundial

5.2.2.1 Estudios sobre el organismo modelo *Xenopus laevis*

Bonfanti et al. (2004) no observaron mortalidad, pero sí teratogenicidad en embriones sin degelatinizar de *X. laevis* expuestos durante 120 h a concentraciones de clorpirifos de entre 50 y 6000 µg/L. Los autores calcularon una EC50-120h (para teratogenicidad como punto final) de 161,54 µg/L. Las malformaciones más observadas involucraron torción de la aleta caudal y alteración del enrollamiento del intestino. El análisis histopatológico reveló daño muscular, que estaría asociado a la inhibición observada de la actividad de AChE. El mismo grupo de investigación confirmó que la disminución de la actividad de AChE en embriones de *X. laevis* expuestos a clorpirifos se encontraba asociada al daño observado a nivel muscular, determinado por estudios histológicos y ultraestructurales (Colombo et al., 2005).

El-Merhibi et al. (2004) analizaron el efecto de clorpirifos grado analítico solo y en combinación con piperonil butóxido (PBO) sobre embriones de *X. laevis* (degelatinizados) durante 96 h y 10 días. Los autores determinaron que el PBO inhibía la CYP 450 de embriones, disminuyendo la transformación de clorpirifos a su metabolito oxón, con la consecuente disminución de la toxicidad del plaguicida para los puntos finales

mortalidad y malformaciones. La CL50-96h fue de 2410 µg/L para embriones expuestos a clorpirifos, y aumentó a 3582 µg/L para su combinación con PBO. Luego de 10 días de exposición, la CL50 fue de 92,5 µg/L para clorpirifos y de 501,5 µg/L para su combinación con PBO. Sin embargo, el efecto protector de PBO no se observó luego de 10 días de exposición sobre la actividad de AChE. Los autores indican que esto se debería a una respuesta bifásica de CYP450, con una rápida inhibición inicial por PBO, seguida de un aumento de actividad y un lento retorno a valores control.

Watson et al. (2014) analizaron los efectos morfológicos y fisiológicos causados por la exposición de embriones de *X. laevis* durante 5 días a concentraciones de entre 0,1 y 1000 µM de clorpirifos grado analítico (0,035 mg/L a 350 mg/L; embriones degelatinizados). La CL50-5 días fue de 2 µM (1,75 mg/L). Los autores observaron una disminución dependiente de la dosis en el ritmo cardíaco y la velocidad de nado, así como una disminución de la longitud de la espina dorsal y cifosis en embriones expuestos a 10 µM de clorpirifos (3,5 mg/L).

En un análisis de las respuestas genéticas como medio para detectar exposiciones subletales a xenobióticos, San Segundo et al. (2013) expusieron embriones de *X. laevis* degelatinizados a 0,1; 0,5 y 2,5 mg/L de clorpirifos grado analítico durante 96 h (los embriones se transformaron en larvas en este periodo de tiempo). Los autores observaron un 80% de mortalidad frente a la mayor concentración ensayada, junto con un elevado porcentaje de larvas malformadas (95% para 0,5 mg/L y 100% de larvas expuestas a 2,5 mg/L de clorpirifos) y una disminución significativa de la longitud de los individuos expuestos a 0,5 y 2,5 mg/L clorpirifos. La expresión del gen *pax6* (involucrado en el desarrollo embrionario) aumentó a las 24 h de exposición con las tres concentraciones ensayadas, y su expresión disminuyó a las 96 h de exposición. La expresión de *hsp70* (involucrado en la respuesta general frente al estrés) se incrementó 4 h después de la exposición a 0,5 y 2,5 mg/L clorpirifos y se mantuvo elevada luego de 24 h de exposición, incluyendo a los individuos expuestos a 0,1 mg/L clorpirifos. Los autores señalan que la expresión génica es una respuesta más sensible frente a la exposición a clorpirifos que se manifiesta antes que las alteraciones morfológicas. Con el fin de profundizar en el efecto ocasionado por clorpirifos sobre la morfología de los individuos expuestos, Tussellino et al. (2016) realizaron una exposición a 10, 15 y 20 mg/L de clorpirifos grado analítico durante 7 días, sin renovación de medios (los autores no indican si los embriones fueron degelatinizados). Los autores analizaron la expresión de genes involucrados en el desarrollo temprano de estructuras anatómicas craneales derivadas de células de la cresta neural en embriones de *X. laevis*. Se observó una disminución de la transcripción de genes relacionados con la condrogénesis de la cresta neural craneal y el desarrollo craneofacial frente a la exposición a clorpirifos: *fgf8*, *bmp4*, *sox9*, *hoxa2* y *hoxb2*. Estos genes son reguladores claves de diferentes vías de desarrollo y podrían ser útiles a la hora de evaluar el daño ocasionado por plaguicidas organofosforados durante el desarrollo embrionario.

Richards and Kendall (2002) analizaron los efectos de diferentes concentraciones de clorpirifos grado analítico sobre premetamorfos y metamorfos de *X. laevis*. La CL50-96h para premetamorfos fue de 14,6 mg/L y para metamorfos fue de 0,56 mg/L. Los autores estimaron una EC50-96h (para malformaciones como punto final) de 1,71 mg/L para premetamorfos y de 0,24 mg/L para metamorfos y observaron una disminución significativa de la actividad de AChE en ambos estadios de desarrollo. Además, el Índice Teratogénico calculado fue de 8,54 para premetamorfos y de 2,41 para metamorfos, lo que indicó que clorpirifos era un compuesto que presentaba un riesgo teratogénico significativo para la especie. Continuando con sus estudios en esta especie y utilizando el mismo diseño experimental, Richards y Kendall (2003) analizaron la longitud y masa corporal y la capacidad de nado de premetamorfos y metamorfos. La exposición a clorpirifos disminuyó la longitud y la masa corporal y afectó la capacidad de nado de premetamorfos y metamorfos. Los metamorfos resultaron más susceptibles al clorpirifos que los premetamorfos y resultaron afectados incluso por la concentración más baja de clorpirifos ensayada (0,0001 mg/L).

5.2.2.2 Estudios sobre anfibios anuros nativos

Todos los efectos observados en los estudios realizados en anfibios no modelo expuestos a clorpirifos a nivel mundial, se encuentran sistematizados en la tabla 5.5.

América: La EPA indica que el clorpirifos ha sido usado como plaguicida desde 1965, tanto en entornos agrícolas como no-agrícolas (<https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/chlorpyrifos>). Los primeros ensayos de laboratorio que analizaron los efectos de clorpirifos sobre anfibios, se realizaron a mediados de la década de 1990. Swann et al. (1996) analizaron el efecto de clorpirifos grado analítico y de dos formulados comerciales de clorpirifos (con 6,7% y 40,7% de ingrediente activo) sobre cultivos de epitelio ciliado del paladar de *Lithobates pipiens*. Dicho epitelio es similar al epitelio ciliado tráqueo-bronquial humano y sería un modelo adecuado considerando el riesgo de toxicidad por inhalación de los formulados comerciales. Los autores observaron una disminución del movimiento ciliar y calcularon la EC50-24 h para este punto final de $2,6 \times 10^{-8}$ M (9,11 µg/L) para el formulado con 40,7% de ingrediente activo; $2,1 \times 10^{-7}$ M (73,62 µg/L) para el formulado con 6,7% de ingrediente activo y $4,8 \times 10^{-7}$ M (168,2 µg/L) para el clorpirifos grado analítico. La EC50-6 h fue de $3,4 \times 10^{-7}$ M (119,2 µg/L) para el formulado con 6,7% de ingrediente activo y de $2,8 \times 10^{-8}$ M (9,81 µg/L) para el formulado con 40,7% de ingrediente activo. Los valores de EC50 a 6 y 24 h para el formulado comercial con 40,7% de ingrediente activo son muy cercanos, lo que indica que el 50% de inhibición de movimiento de las cilias se alcanzaría alrededor de las 6 h de exposición. Los compuestos evaluados provocaron además daño mitocondrial en las células del epitelio ciliado. En una exposición de 96 h de embriones de la misma especie (*L. pipiens*) a concentraciones ambientalmente representativas de

clorpirifos grado analítico (10; 50; 100 y 200 µg/L), Gaizick et al. (2001) no observaron alteraciones morfológicas ni del tiempo de eclosión de los embriones.

Continuando con los estudios de laboratorio, Sparling and Fellers (2007) determinaron la CL50-96h en larvas de *Rana boylei* para clorpirifos y clorpirifos oxón, siendo de 3,0 mg/L para el compuesto parental. La CL50-96h no pudo ser determinada para el derivado oxón, ya que los individuos no sobrevivieron las primeras 24 h de exposición. Sin embargo, en función de los datos de mortalidad obtenidos y las concentraciones ensayadas, fue posible establecer que el derivado oxón es al menos 100 veces más tóxico que el compuesto parental. Continuando con sus estudios sobre el efecto de plaguicidas sobre los anfibios de California, Sparling y Fellers (2009) expusieron de manera crónica a larvas de *Pseudacris regilla* y *R. boylei* a clorpirifos grado analítico en condiciones de laboratorio. Las concentraciones ensayadas fueron ambientalmente relevantes (0,8; 3,12; 12,5; 50 y 200 µg/L clorpirifos) y la duración del ensayo varió en función del tiempo para alcanzar la metamorfosis de cada especie (*P.regilla*: 40-45 días para metamorfosis luego de la eclosión; *R. boylei*: 80-85 días para metamorfosis luego de la eclosión). Los autores determinaron una CL50 de 365 µg/L para *P. regilla* y de 66,5 µg/L para *R. boylei*. El tiempo para alcanzar metamorfosis se incrementó mientras que la actividad de AChE disminuyó a medida que aumentaba la concentración de clorpirifos ensayada. Los autores determinaron la concentración de clorpirifos en tejidos de metamorfos expuestos a la mayor concentración de clorpirifos ensayada, que fue de 588 ng/g peso seco para *P. regilla* (65,5 ng/g peso fresco) y de 9899 ng/g peso seco (1080 ng/g peso fresco) para *R. boylei*. A partir de los resultados obtenidos, Sparling y Fellers (2009) indican que los plaguicidas plantean un serio riesgo para las especies de anfibios que habitan las montañas de Sierra Nevada, California.

Cothran et al. (2013) analizaron la sensibilidad de larvas de diferentes poblaciones de *Lithobates sylvaticus*, colectadas en zonas con diferente cantidad de tierra cercana dedicada a la agricultura (en Pittsburgh, Pensilvania, EEUU), frente a clorpirifos. Realizaron un ensayo toxicológico de 48 h con clorpirifos grado analítico a una concentración de 1,75 mg/L y determinaron que aquellas poblaciones que viven más cerca de las zonas agrícolas eran más resistentes a clorpirifos. En ensayos de mesocosmos, los autores no observaron que dicha resistencia acarrearía un costo en el desempeño de los metamorfos de la especie, cuando se los enfrentó a situaciones de competencia y depredación. Los resultados observados serían consistentes con la evolución de resistencia frente a los plaguicidas. En relación con lo establecido en esta investigación, Hua et al. (2013) reportaron por primera vez que concentraciones subletales y ecológicamente relevantes de un insecticida pueden, dentro de la misma generación, inducir tolerancia adaptativa en anfibios. Esta tolerancia inducida depende de la concentración de insecticida y ocurre en estadios de vida muy tempranos. Ya que los sistemas naturales se encuentran expuestos a una amplia variedad de plaguicidas con diferentes modos de acción, Hua et al. (2014) exploraron la posibilidad de que la tolerancia inducida a

un plaguicida induzca tolerancia frente a otros de igual y diferente familia química y, por ende, modos de acción. Los autores observaron que la exposición de embriones tempranos de *L. sylvaticus* a concentraciones subletales de carbarilo (inhibidor de AChE) inducía tolerancia al mismo carbarilo y tolerancia cruzada a malatión (inhibidor de AChE) y cipermetrina (interfiere con canales de Na⁺). No observaron inducción de tolerancia frente a clorpirifos ni permetrina. Continuando con estudios que toman en cuenta la posible interacción entre plaguicidas en el ámbito natural, Dimitrie y Sparling (2014) analizaron los efectos combinados de endosulfán (organoclorado) y clorpirifos sobre la supervivencia, crecimiento y desarrollo de larvas de *P. regilla* en un ensayo crónico hasta su metamorfosis. Los efectos dependieron de la concentración y de la duración de la exposición. Por ejemplo, una concentración de 137 µg/L de clorpirifos inhibió los efectos adversos de endosulfán sobre el crecimiento y la supervivencia, pero la presencia de ambos facilitó la aparición de malformaciones axiales. La interacción de plaguicidas con diferentes modos de acción podría poner de manifiesto diferentes tipos de interacciones dependiendo de sus concentraciones y de los puntos finales analizados, por lo que resulta necesario realizar más investigaciones. En un estudio comparativo realizado con ratones y sapos, Anderson et al. (2018) compararon sus respuestas bioquímicas, funcionales y de comportamiento frente a clorpirifos-oxón. Los adultos de la especie *Anaxyrus cognatus* resultaron menos sensibles a la letalidad aguda del compuesto en comparación con ratones (77 mg/kg vs. 5,9 mg/kg) y mostraron hipoactividad. Los autores no observaron inhibición de AChE o BChE cerebral en sapos, pero sí observaron inhibición de la actividad de la hidrolasa de amidas de ácidos grasos (FAAH) en hígado. La actividad AChE cerebral de los sapos fue menos sensible a la inhibición *in vitro* por clorpirifos-oxón, según lo revelaron las Concentraciones Inhibitorias-50 (CI50), determinadas a la temperatura óptima para ratón de 37°C a 20 min (CI50 = 101 nM para sapo vs 7.8 nM para ratón), o a la temperatura óptima de 26°C para anfibio (CI50 = 149 nM en sapo vs 6.2 nM en ratón). Los autores postulan que el cerebro de sapo contendría algún componente capaz de inactivar al clorpirifos-oxón y proteger a AChE de la inhibición, y que probablemente se trate de procesos de detoxificación muy efectivos. Señalan, asimismo, que la resistencia a la inhibición de colinesterasa hace de esta enzima un pobre biomarcador en *A. cognatus* frente a la exposición a compuestos anticolinesterásicos, y que las diferencias en sensibilidad frente a clorpirifos-oxón señalan la necesidad de incluir mayor cantidad de especies en los análisis de riesgo.

Para el año 1998, en el Valle de San Joaquín, estado de California, se aplicaba el 60% de los aproximadamente 5,8 millones de kilogramos de ingredientes activos aplicados en todo el estado, de los cuales 1,07 millones de kilogramos correspondían a clorpirifos (California Department of Pesticide Regulation, 2000). Los alarmantes datos condujeron a la realización de estudios sobre el impacto de los plaguicidas en las poblaciones naturales de anfibios anuros del estado. Estos trabajos pioneros establecieron una posible relación entre la contaminación química y la declinación de las poblaciones de anfibios que se observaba desde 1980. Entre dichos trabajos se encuentra el publicado por Datta et al. (1998), quienes

analizaron la concentración de clorpirifos en embriones y larvas de *P. regilla* colectados en regiones remotas y no remotas del estado de California. Los autores detectaron la presencia de clorpirifos en larvas colectadas en regiones remotas y no remotas en un rango que osciló entre los 9,2 y 17,4 $\mu\text{g/g}$ de peso fresco. Los niveles de clorpirifos en embriones se encontraron por debajo del límite de detección. Los autores indican que el hecho de encontrar clorpirifos en anfibios de la Sierra Nevada sugiere una conexión entre el uso de productos químicos y su transporte y deposición en localizaciones lejanas a los puntos de aplicación.

A mediados de la década de 1980, diversos muestreos resultaron infructuosos en la detección de *Rana muscosa* en la zona de Tablelands, dentro del Parque Nacional de las Secuoyas, California. Luego de la reintroducción de la especie en 1994 y 1995, se realizó un relevamiento en 1997 y se observó que la reproducción de la especie había sido mínima e insuficiente para mantener la población de adultos. Por ello, los investigadores que habían realizado la reintroducción decidieron muestrear los animales encontrados y analizarlos en búsqueda de contaminantes en sus tejidos, al mismo tiempo que tomaron muestras de agua. Los resultados obtenidos se encuentran plasmados en el trabajo de Fellers et al. (2004). Los autores analizaron los niveles de diversos contaminantes, entre ellos clorpirifos, en tejidos de rana y en agua de la zona de Tablelands (que se encuentra al este del Valle Central de California y expuesta a los vientos predominantes provenientes del oeste) y la zona de Sixty Lakes Basin (no influenciada de modo tan directo por el transporte atmosférico de contaminantes desde el Valle Central debido a su orientación, y donde las poblaciones de *R. muscosa* prosperan). El clorpirifos fue detectado en el agua superficial de todos los sitios muestreados, y su concentración fue superior en los sitios de la zona de Tablelands, expuesta a los vientos, aunque también se detectó en Sixty Lakes Basin. No se detectó clorpirifos en tejidos de *R. muscosa*, pero sí se detectaron plaguicidas organoclorados y otros contaminantes en tejidos de ranas colectadas en todos los sitios muestreados. Los autores indican que los resultados obtenidos apoyan la hipótesis de que los contaminantes habrían tenido un papel relevante en el declive poblacional de *R. muscosa* dentro del parque nacional. Los autores señalan, además, que a pesar de que las concentraciones detectadas se encuentran en el orden de ng/L y son inferiores a las detectadas en otros trabajos, es importante considerar que la especie en estudio tarda alrededor de tres años en alcanzar la metamorfosis, por lo que el estadio larval es prolongado. Además, es una especie en la que los adultos pasan gran tiempo dentro del agua durante todo el año, con lo que se encontrarían más expuestos a los contaminantes ambientales.

En estudios de laboratorio y mesocosmos, Widder and Bidwell (2006) analizaron el efecto de diferentes concentraciones de un formulado comercial de clorpirifos (47,4% ingrediente activo; 1 a 200 $\mu\text{g/L}$) sobre larvas de *Rana sphenoccephala*. Los autores analizaron diferentes puntos finales como mortalidad, velocidad de nado, masa corporal y actividad de AChE. La exposición a clorpirifos no afectó la supervivencia de las larvas ni su velocidad de nado, pero sí provocó una disminución de la masa corporal y la actividad de AChE tanto en estudios de laboratorio como de mesocosmos. La presencia de un predador en los ensayos de

mesocosmos no afectó la velocidad de nado ni la supervivencia de las larvas, por lo que los autores señalan que una mayor depredación por invertebrados no sería uno de los factores que influyen sobre la relación disminución de AChE - descenso de anfibios. Los autores ampliaron su estudio a otras tres especies anfibias utilizando el mismo diseño experimental (cuya duración fue ajustada en función de la abundancia de larvas de cada especie) y midiendo los mismos parámetros. En este nuevo trabajo, Widder and Bidwell (2008) observaron que el tamaño corporal resultaba afectado por la exposición a clorpirifos y que, a la mayor concentración ensayada (200 µg/L) y en la especie más sensible, se observaba una relación entre la inhibición de AChE y la velocidad de nado. Los autores indican que las respuestas observadas son particulares dependiendo de la especie en estudio, por lo que alertan sobre la necesidad de tener precaución a la hora de realizar generalizaciones entre diferentes taxones de anuros. Las conclusiones a las que arriban Widder y Bidwell en ambos trabajos citados se contraponen en cierta medida a las enunciadas por Sparling et al. (2001) y Davidson (2004). En el primero de estos trabajos, los autores determinaron que la actividad de AChE se encontraba inhibida en larvas de *Pseudacris regilla* que habitaban al este del Valle Central de California (zona que recibe los vientos procedentes del área agrícola) en comparación con los individuos colectados en la zona costera y al norte del Valle. Además, los autores observaron que la actividad de AChE también se encontraba disminuida en áreas en las que el estatus poblacional era pobre o moderado, en comparación con sitios en los que había un buen estatus de la población de *P. regilla*. Asimismo, se detectaron concentraciones elevadas de plaguicidas organofosforados en los tejidos de larvas y adultos de la especie colectados al este del Valle Central, entre los que se encontró clorpirifos. Los resultados obtenidos abonan la hipótesis de que los plaguicidas estarían involucrados en el descenso de anfibios en la zona en estudio. El trabajo de Davidson (2004), basado en análisis de datos históricos, acompaña lo hipotetizado por Sparling et al. (2001) ya que reportó una fuerte asociación entre la aplicación de plaguicidas y el descenso de ranas en California, siendo los plaguicidas organofosforados los que se encontraban más fuertemente asociados. Sin embargo, utilizando a *P. regilla* como especie subrogante de *Rana cascadae* (cuya población ha disminuido precipitadamente en el norte de California), Davidson et al. (2012) no encontraron evidencia que apoye la hipótesis de que los contaminantes analizados hayan contribuido al descenso de *R. cascadae*. El clorpirifos fue el cuarto plaguicida detectado con mayor frecuencia (49% de frecuencia de detección en tejidos y 63% de frecuencia de detección en sedimentos). Los autores encontraron niveles similares de clorpirifos (y de los otros plaguicidas analizados) en sedimentos de zonas en la que aún está presente la especie y en zonas en las que ha desaparecido, así como tampoco encontraron diferencias en el nivel de plaguicidas en tejidos de los individuos muestreados. Los valores promedio fueron de 0,484 ng clorpirifos/g peso seco promedio en tejido y 0,754 ng clorpirifos/g peso de carbono orgánico en sedimento.

En un complejo estudio de mesocosmos, Relyea (2009) analizó cómo la comunidad acuática, que incluía larvas de *Hyla versicolor* y *L. pipiens* (además de cladóceros, zooplancton, fitoplancton, etc.),

respondía frente a diversos plaguicidas. El autor analizó cada plaguicida por separado y realizó mezclas de herbicidas, de 5 insecticidas y de 10 insecticidas. Las concentraciones de cada compuesto fueron de entre 2 y 16 µg/L y la concentración final nominal de las mezclas en los tanques fue de 10 µg/L. La exposición tuvo una duración de 57 días. La exposición a clorpirifos solo no alteró la supervivencia hasta metamorfosis, la masa de los individuos al momento de metamorfosis ni el tiempo para alcanzarla en ninguna de las dos especies anfibias evaluadas. Los individuos de la especie *L. pipiens* no sobrevivieron a la exposición a las mezclas de 5 y 10 insecticidas, mientras que la mezcla de herbicidas no tuvo efecto sobre los parámetros analizados. Los individuos de la especie *H. versicolor* sobrevivieron a la exposición a las mezclas de 5 y 10 insecticidas, pero su masa fue significativamente mayor al momento de la metamorfosis (probablemente porque no había competencia con larvas de la otra especie). Este ensayo de mesocosmos demostró que los plaguicidas solos y en combinación pueden tener efectos directos e indirectos sobre las comunidades acuáticas (incluyendo zooplancton, fitoplancton, perifiton y larvas de anfibios). En el caso de los anfibios, la mezcla de plaguicidas tuvo mayor impacto que los plaguicidas individuales, aunque no pudo determinarse si existía sinergismo. En el caso de *L. pipiens*, la gran mortalidad registrada ante la exposición a mezclas de insecticidas podría impactar negativamente sobre la población con el paso del tiempo, sobre todo si las exposiciones ocurren repetidamente. El autor señala que este hecho es importante en vista del descenso de las poblaciones de anfibios a nivel mundial, incluso en sitios relativamente prístinos pero que reciben bajas concentraciones de plaguicidas por transporte atmosférico desde áreas distantes.

Bishop et al. (2010) realizaron un ensayo de exposición *in situ* de embriones de *Spea intermontana*, *Anaxyrus boreas*, *P. regilla* y *Rana luteiventris* en lagunas de las tierras bajas del sur del Valle de Okanagan, Columbia Británica, Canadá. Las lagunas se encontraban en plantaciones frutales convencionales (con uso de plaguicidas), orgánicas y en sitios de referencia. Los autores analizaron el tiempo de eclosión de los embriones, la química del agua de las lagunas y cuantificaron los niveles de plaguicidas en ellas. Diecisiete plaguicidas, en concentraciones de ng/L, fueron detectados en el agua de las lagunas ubicadas en las plantaciones convencionales. Clorpirifos fue detectado entre concentraciones de 1,03 ng/L (en un sitio de referencia) y 2,36 ng/L (en una plantación convencional). El menor porcentaje de eclosión se registró en los sitios con producción convencional y el mayor porcentaje de eclosión se registró en un sitio de referencia no agrícola. Los autores observaron una correlación significativa entre la química del agua, los plaguicidas y el éxito de eclosión en el caso de *S. intermontana*. Los autores señalaron la gran variabilidad de sensibilidad de las diferentes especies y la importancia de incluir el análisis químico del agua para interpretar su calidad para la vida anfibia.

Considerando el efecto neurotóxico de clorpirifos, Woodley et al. (2015) analizaron la plasticidad cerebral de *L. pipiens* al exponer larvas a señales de predadores, cantidades reducidas de alimento y concentraciones subletales de clorpirifos (5 y 20 µg/L) en ensayos de mesocosmos. Las larvas expuestas

mostraron menor masa corporal, aunque no se vio alterada la velocidad de desarrollo ni la supervivencia. Las larvas expuestas a señales del predador o a 20 µg/L de clorpirifos mostraron alteración de la forma corporal. Los cerebros de las larvas expuestas a señales del predador y a 5 µg/L de clorpirifos fueron más angostos y cortos en comparación con larvas control y sometidas a cantidades reducidas de alimento. Los cambios observados a nivel cerebral no persistieron en la metamorfosis, lo que señalaría que la morfología cerebral es un rasgo plástico durante el desarrollo, capaz de responder frente a factores naturales y antropogénicos. A fin de determinar si estos efectos fueron el resultado directo de la exposición al plaguicida o si se debieron a la disrupción de la cadena trófica debido a la disminución del zooplancton (como consecuencia de la exposición al plaguicida), McClelland et al. (2018) analizaron el impacto de clorpirifos (grado analítico; 1 µg/L) sobre el desarrollo de *L. pipiens* en presencia de zooplancton resistente y sensible a clorpirifos en ensayos de mesocosmos. Los autores observaron alteraciones en el desarrollo cerebral de los individuos expuestos a clorpirifos, independientemente del tipo de población de zooplancton presente, por lo que corroboraron que clorpirifos impacta de manera directa sobre el desarrollo cerebral a concentraciones ambientalmente representativas.

Recientemente, da Silva et al. (2020a, 2020b) analizaron el efecto de la exposición a un formulado comercial del clorpirifos (48% de ingrediente activo) sobre el perfil leucocitario y sobre el ADN de larvas de *Odontophrynus carvalhoi*, una especie nativa de Brasil. Las concentraciones ensayadas en ambos estudios fueron de 10, 100, 200 y 400 µg/L de clorpirifos, y la duración de las exposiciones fue de 192 h para el análisis de fórmula leucocitaria y de 96 h para el análisis de genotoxicidad. Las larvas expuestas a clorpirifos mostraron una reducción del número de linfocitos, monocitos y basófilos, y un aumento de neutrófilos y eosinófilos. La exposición al plaguicida alteró la proporción de tipos celulares, lo que podría a su vez afectar la capacidad de respuesta de las larvas a estresores ambientales, haciéndolas más susceptibles a enfermedades y comprometiendo su supervivencia. Además, los eritrocitos de larvas expuestas al plaguicida mostraron un aumento en la frecuencia de micronúcleos a partir de las 24 h en individuos expuestos a 100 µg/L. Alcanzadas las 48 y 96 h de exposición, todos los tratamientos realizados arrojaron un incremento significativo en la frecuencia de micronúcleos respecto del control.

Rutkoski et al. (2020) analizaron mortalidad y las respuestas morfológicas y bioquímicas en larvas de *Physalaemus gracilis* (especie distribuida en Argentina, Brasil y Uruguay) expuestas a un formulado comercial de clorpirifos (48% de ingrediente activo). En el ensayo estático de toxicidad aguda, los autores determinaron una CL50-96 h de 893,59 µg/L. El ensayo de toxicidad crónica se extendió por 7 días y se utilizaron 11, 30, 90, 250 y 500 µg/L de clorpirifos. Los autores observaron movilidad reducida y espasmos musculares en larvas expuestas a todas las concentraciones de clorpirifos. Las anomalías morfológicas se observaron principalmente en larvas expuestas a las concentraciones más altas, con alteraciones de la boca e intestinos.

A nivel bioquímico, la actividad de AChE disminuyó con las dos concentraciones superiores, mientras que la actividad de CAT se vio aumentada en todos los casos. Las actividades de SOD y GST se incrementaron a partir de 90 µg/L y 30 µg/L de clorpirifos, respectivamente. El nivel de tioles no proteicos se incrementó a partir de 30 µg/L de clorpirifos, mientras que los niveles de proteínas carboniladas se incrementaron a partir de 90 µg/L de clorpirifos. Los autores no observaron cambios en los niveles de peróxidos lipídicos. El análisis de riesgo ecológico sugirió que clorpirifos presenta riesgo agudo y crónico para *P. gracilis*.

Asia: En un estudio realizado a campo en Filipinas, Calumpang et al. (1997) analizaron el efecto de la aplicación de diferentes plaguicidas, entre ellos clorpirifos (como parte del formulado combinado: clorpirifos 21% + fenobucarb 10,5%; 0,32 kg ingrediente activo/ha) sobre la mortalidad de *Rhinella marina* expuesto *in situ* en jaulas sobre los canales de drenaje de un arrozal (esta especie ha sido introducida en Filipinas). Luego de aplicar el plaguicida 15 días después del trasplante del arroz, se simuló la inundación por lluvias, de modo que los plaguicidas alcanzaran los canales. Se observó la mortalidad del 100% de los individuos ubicados en el canal de drenaje a una distancia de 25 m del arrozal inmediatamente después de la aplicación. La concentración máxima detectada de clorpirifos en agua fue de 0,0016 mg/L a 10 metros del arrozal inmediatamente después de la inundación y fue detectado hasta 24 h después del tratamiento.

La exposición en laboratorio a un formulado comercial de clorpirifos (40% de ingrediente activo) provocó genotoxicidad en larvas de *Bufo gargarizans*, una especie de amplia distribución en China. Yin et al. (2009) expusieron larvas de dicha especie durante 96 h a concentraciones relativamente elevadas de clorpirifos (entre 0,32 y 2,56 mg/L) para determinar la CL50 a 24, 48, 72 y 96 h. Además, realizaron exposiciones a concentraciones subletales de entre 0,08 y 0,64 mg/L de clorpirifos para analizar genotoxicidad. Los valores de CL50 calculados fueron de 3,63; 1,17; 0,819 y 0,8 mg/L para 24, 48, 72 y 96 h de exposición, respectivamente. Los autores observaron un aumento significativo de la cantidad de micronúcleos, así como un incremento significativo de daño al ADN en eritrocitos y células hepáticas de las larvas.

Wijesinghe et al. (2011) analizaron el efecto de un formulado comercial de clorpirifos (40% de ingrediente activo) sobre larvas de *Duttaphrynus melanostictus*, una especie común en el sur de Asia. Las larvas fueron expuestas durante 14 días a concentraciones de clorpirifos de entre 1 y 1500 µg/L, y monitoreadas por una semana adicional al pasar a agua libre de plaguicida. Los individuos expuestos a concentraciones superiores a 100 µg/L sufrieron una elevada mortalidad dependiente de la dosis, con valores calculados de CL50-7 días de 3003 µg/L hasta una CL50-21 días de 462 µg/L. El crecimiento de las larvas disminuyó por la exposición a clorpirifos y su duración. Además, el número de larvas que alcanzaban la metamorfosis fue menor a medida que aumentaba la concentración de clorpirifos y, para las mayores concentraciones, las larvas no lograron alcanzarla. En lo que respecta a la actividad, la exposición a clorpirifos

afectó a las larvas haciéndolas permanecer más quietas y, aquellas expuestas a las mayores concentraciones, se alimentaron mucho menos, mostraron anomalías morfológicas en la aleta caudal que dificultaban el nado y fueron incapaces de alcanzar la superficie del agua. En otro estudio realizado en la misma especie, Jayawardena et al. (2011) expusieron larvas a 0,5; 1; 1,5; 2 y 2,5 mg/L de clorpirifos durante 48 h para el cálculo de la CL50, que arrojó un valor de 1,47 mg/L. Además, realizaron exposiciones crónicas de larvas a concentraciones ambientalmente representativas (0,05; 0,1; 0,25 y 0,5 mg/L clorpirifos) hasta que alcanzaron la metamorfosis. La supervivencia de las larvas disminuyó hasta un 60% respecto de los controles, requirieron más tiempo para llegar a la metamorfosis, tuvieron mayor tamaño y peso y desarrollaron malformaciones. Se observó una correlación positiva significativa entre la concentración de clorpirifos y el aumento de tamaño y frecuencia de malformaciones. Los autores resaltan la importancia de realizar este tipo de estudios en zonas agrícolas para determinar los efectos que los plaguicidas tienen sobre organismos no-blanco. Bandara et al. (2012) profundizaron en el análisis de los efectos de clorpirifos sobre la histopatología de *D. melanostictus*. Los autores expusieron larvas durante dos semanas a un formulado comercial (40% ingrediente activo) en concentraciones de 0,5; 1 y 1,5 mg/L. Las larvas expuestas a la mayor concentración mostraron alteración de la estructura branquial, con menor cantidad de lamelas y vasos sanguíneos y con alteración del epitelio branquial. En el hígado se observó vacuolación, núcleos hipercromáticos y fragmentación nuclear, entre otras alteraciones. Las alteraciones musculares en la aleta caudal fueron evidentes a concentraciones más bajas de clorpirifos e incluyeron degeneración y atrofia muscular. En un estudio con embriones de *D. melanostictus* aún dentro de su ristra gelatinosa, Kharkongor et al. (2018) calcularon una CL50-48 h de 57,5 mg/L de un formulado comercial de clorpirifos con 20% de ingrediente activo. Además, realizaron exposiciones subletales de los embriones durante 96 h a 0,1; 0,5 y 1 mg/L del formulado comercial. Los autores observaron una disminución significativa del porcentaje de eclosión en embriones expuestos a 0,5 y 1 mg/L, una disminución significativa del largo y del ancho de los embriones, y un aumento de malformaciones en embriones expuestos a todas las concentraciones de clorpirifos ensayadas.

Europa: En un estudio de laboratorio realizado con larvas de *Rana dalmatina* (distribuida en norte, centro y sur de Europa), Bernabò et al. (2011) determinaron una CL50-96 h para clorpirifos grado analítico de 5,2 mg/L. Realizaron además exposiciones crónicas a concentraciones subletales ambientalmente relevantes de clorpirifos (0,025; 0,05 y 0,1 mg/L). Durante estas exposiciones, los autores no observaron efectos sobre la supervivencia, crecimiento, longitud, estadio de desarrollo o número de individuos que alcanzaban la metamorfosis. Sin embargo, se observó la aparición de malformaciones que condujeron a la alteración del nado de los individuos. Además, el análisis de la morfología y ultraestructura de las branquias de los individuos expuestos a clorpirifos mostró alteraciones tempranas, luego de 8 días de exposición. Estos efectos se manifestaron antes de observarse alteraciones morfológicas y de comportamiento y podrían implicar dificultades respiratorias con consecuencias para la salud de las larvas que, junto a las alteraciones

musculares y esqueléticas observadas, podrían llevar a una disminución de la supervivencia de juveniles en la naturaleza. Profundizando en sus estudios, Bernabò et al. (2011a) realizaron la exposición crónica de larvas de *R. dalmatina* a 0,025 y 0,05 mg/L de clorpirifos grado analítico hasta completación de la metamorfosis. Los autores no observaron efectos sobre la supervivencia, desarrollo o metamorfosis, pero el análisis morfológico e histológico de las gónadas de individuos expuestos a clorpirifos reveló alteraciones. En los testículos se encontraban ovocitos y, aunque la exposición al plaguicida no alteró la proporción de hembras y machos, redujo el porcentaje de machos con testículos histológicamente normales. Los autores indican que concentraciones ambientalmente relevantes de clorpirifos podrían interferir con la diferenciación sexual y el desarrollo reproductivo de *R. dalmatina* por mecanismos de disrupción endocrina.

Por su parte, Nozdrenko et al. (2016) observaron efectos no colinérgicos de clorpirifos en *Rana temporaria*. Los autores reportaron la inhibición de la actividad de Ca^{2+} Mg^{2+} -ATPasa en retículo sarcoplásmico y la disminución de las propiedades contráctiles dinámicas de fibras musculares expuestas a concentraciones de entre 10^{-6} y 10^{-5} M (0,35 y 3,5 mg/L) de clorpirifos.

5.2.3 Consideraciones finales

En este capítulo se analizaron 65 trabajos de investigación, de los cuales 21 corresponden a estudios realizados en la República Argentina sobre especies nativas. La gran mayoría de los estudios analizados reportan efectos deletéreos sobre embriones, larvas e individuos adultos en un amplio rango de concentraciones. El clorpirifos ejerce su acción insecticida por inhibición de la actividad de AChE, siendo éste un parámetro bioquímico ampliamente medido. Sin embargo, la evidencia indica claramente que otros procesos bioquímicos y moleculares se encuentran afectados cuando el organismo es expuesto a clorpirifos, entre los que se encuentran la alteración del estado inmunológico, del sistema de defensa antioxidante y de la actividad de otras esterasas, además de las alteraciones morfológicas registradas a campo y en ensayos de laboratorio. Estos efectos subletales tienen profundas implicancias para los individuos en su hábitat natural, ya que podrían poner en riesgo su supervivencia. Se ha documentado incluso la alteración de la emisión de señales acústicas en una especie nativa de la República Argentina, un comportamiento comunicativo indispensable entre individuos de una misma especie.

Es interesante señalar que, en comparación con los estudios realizados en el exterior, los grupos de investigación en nuestro país analizan habitualmente alteraciones bioquímicas, sobre todo del sistema de defensa antioxidante, tanto en ensayos *in situ* como en exposiciones *ex situ* y en laboratorio. Los primeros trabajos sobre el efecto de plaguicidas organofosforados en el metabolismo antioxidante en nuestro país fueron publicados en 2001 para *R. arenarum* (Anguiano et al., 2001; Venturino et al., 2001). Luego se caracterizó el metabolismo antioxidante a lo largo del desarrollo embrionario en dicha especie (Ferrari et al.,

2008). Su estudio posteriormente se expandió y aplicó a otros estadios de vida y otros plaguicidas, así como a otras especies nativas del territorio argentino, y actualmente se está avanzando a nivel molecular sobre la caracterización del efecto de plaguicidas organofosforados a partir de la secuenciación del transcriptoma de *R. arenarum* (Ceschin et al., 2020). A pesar de que las respuestas moleculares, de factores de transcripción y vías de señalización, por ejemplo, no son utilizadas como biomarcadores para establecer niveles de protección y su efectividad es cuestionada, se ha comprobado que son las más sensibles frente a la exposición de *R. arenarum* a arsénico como contaminante (Mardirosian, 2015).

Considerando la importancia que poseen los anfibios como parte fundamental de las cadenas tróficas durante todos sus estadios de desarrollo, la multiplicidad de efectos documentada como consecuencia de la exposición a clorpirifos podría tener serias repercusiones a nivel ecológico.

Tabla 5.5 Estudios de Laboratorio – Situación mundial en anfibios no modelo: Parámetros toxicológicos, morfofisiológicos, bioquímicos y moleculares

Especie/ estadio	Diseño – punto final de toxicidad	Parámetros biomarcadores	Referencia
<i>Lithobates pipiens</i> cultivo paladar	CE50-24h, movimiento ciliar: PA: 48 µM; FC 6,7-40,7%: 21-26 µM		Swann et al. (1996)
<i>Rana boylei</i> Larvas	PA, 96h, CL50 3,0 mg/L Oxón: 100 veces más tóxico	AChE: inhibición	Sparling y Fellers (2007)
larvas	PA, 0,8 a 200 µg/L, Crónico 85d a metamorfosis. CL50: 66,5 µg/L	Tiempo a metamorfosis: aumentado AChE: inhibición	Sparling y Fellers (2009)
<i>Hyla chrysoscelis</i> larvas	FC, 1-200 µg/L, con o sin sedimento, 96h-12d	AChE: CI25 4,34-7,66 µg/L; 0,59-0,81 µg/L Velocidad nado: disminución	Widder y Bidwell (2008)
<i>Rana sphenocephala</i> larvas	FC, 1-200 µg/L, con o sin sedimento, 96h-12d	AChE: CI25 71,7-77,7 µg/L; 56,6-115 µg/L Crecimiento: aumentado.	Widder y Bidwell (2008)
<i>Acris crepitans</i> larvas	FC, 1-200 µg/L, con o sin sedimento, 96h-12d	AChE: CI25 37,0-56,3 µg/L Crecimiento: disminuido	Widder y Bidwell (2008)
<i>Gastrophryne olivacea</i> larvas	FC, 1-200 µg/L, con o sin sedimento, 96h-12d	AChE: CI25 4,44-4,49 µg/L Crecimiento, velocidad nado: disminuido	Widder y Bidwell (2008)
<i>Pseudacris regilla</i> larvas	PA, 0,8 a 200 µg/L, Crónico 45d a metamorfosis. CL50: 365 µg/L	Tiempo a metamorfosis: aumentado AChE: inhibición	Sparling y Fellers (2009)
<i>Bufo gargarizans</i> larvas	PA, 0,32-2,56 mg/L, 96h CL50 0,80 mg/L	Daño a ADN: aumentado	Yin et al. (2009)
<i>Rana dalmatina</i> larvas	PA, 96h. CL50: 5,2 mg/L 57d subletal, 0,025-0,1 mg/L	Malformaciones: aumentado Alteraciones natatorias Alteraciones gonadales en machos	Bernabó et al. (2011a,b)
<i>Duttaphrynus melanostictus</i>	FC, 14d + recuperación 7d CL50-14d: 1245 µg/L	Metamorfosis exitosa: disminuido Malformaciones: aumento	Wijesinghe et al. (2011)

larvas	CL50-14+7d: 462 µg/L		
larvas	FC, 0,5 a 2,5 mg/L, 48h CL50: 1,47 mg/L 0,05 a 0,5 mg/L, crónico a metamorfosis	Metamorfosis: 39%, aumento en tiempo. Longitud, peso, malformaciones: aumento	Jayawardena et al. (2011)
larvas	FC, 14d	Histopatologías en hígado, branquias, músculo aleta caudal	Bandara et al. (2012)
Embriones en ganga	FC, CL50-48h 57,5 mg/L Subletal 96h, 0,1-1 mg/L	Largo, ancho, eclosión: disminuido Malformaciones: aumento	Kharkongor et al. (2018)
<i>Odontophrynus carvalhoi</i>	FC, 10-400 µg/L, 96h	Alteración fórmula leucocitaria	da Silva et al. (2020a,b)
larvas	192h	Genotoxicidad (MN): aumentado	
<i>Physalaemus gracilis</i>	FC, CL50-96h 0,89 mg/L	Malformaciones, CAT, GST, GSH: aumento	Rutkoski et al. (2020)
larvas	Subletal, 11-500 µg/L, 7d	Movilidad, AChE: reducido. Nado alterado, espasmos	
<i>Anaxyrus cognatus</i>	PA oxón, inyección	CI50 (AChE) [20 min, 26°C]: 149 nM	Anderson et al. (2018)
adultos	máxima dosis tolerada: 77 mg/kg	Hipoactividad	

PA: principio activo; FC: formulado comercial; CE50: concentración de efecto 50%; CI: concentración inhibitoria; AChE: acetil colinesterasa; CAT: catalasa; GST: glutatión-S-transferasa; GSH: glutatión reducido; MN: micronúcleos.

5.3 Macroinvertebrados acuáticos

5.3.1 Efectos de clorpirifos a nivel de especie

Van Wijngaarden estudió la respuesta del efemenóptero *Cloeon dipterum* a clorpirifos en microcosmos de laboratorio y en estanques artificiales exteriores, encontrando valores similares de NOEC en el orden de 0,2 µg/L, mientras que la CE10 en laboratorio fue de 0,3 µg/L; la recolonización fue dependiente de la concentración de clorpirifos remanente en el estanque, llevando 56 días alcanzar los valores normales de la población (van Wijngaarden, 1993). También es importante tener en cuenta algunos efectos subletales en los macroinvertebrados, como la inmovilidad que causa el clorpirifos en una importante cantidad de especies. El clorpirifos causa efectos subletales en *Hyaella azteca*, afectando por ejemplo el peso corporal a una CE50 de 25 ng/L que resulta la mitad de la CL50, de 50,4 ng/L (Hasenbein et al., 2015). En la exposición de *Daphnia pulex* tanto a campo como en laboratorio, el clorpirifos provoca la inmovilización de los individuos durante varios días antes de provocar su muerte, con concentraciones del orden de 0,2 a 0,4 µg/L en los 2 primeros días de vida, que son 5 a 10 veces menores que las CL50 (van der Hoeven y Gerritsen, 1997). En el camarón *Neomysis integer*, se encontró que la exposición a niveles subletales y ambientalmente relevantes de clorpirifos (38 ng/L, 45% de la CL50) causa alteraciones importantes en el comportamiento natatorio que pueden tener consecuencias trascendentales sobre sus poblaciones (Roast et al., 2000).

La importancia de estos efectos observables a concentraciones subletales de clorpirifos, se traduce en una distribución de las sensibilidades de estas especies bentónicas que determina riesgos mayores a los que predicen las respectivas CL50, como ha sido demostrado, sugiriendo que los porcentajes de especies

afectadas y por tanto las alteraciones de la estructura de las comunidades bentónicas son mayores a los que establecen los índices comúnmente empleados (Rubach et al., 2011). Se han reportado también resultados que demuestran un aumento de hasta el doble de la toxicidad de clorpirifos hacia *Hyalella azteca* cuando se producen exposiciones previas o simultáneas a otros contaminantes, por ejemplo, herbicidas (Anderson y Lydy, 2002). Otra cuestión importante para la estructura comunitaria es la resultante de la exposición a clorpirifos en especies de importancia vital en la cadena trófica, como lo es el caso de las larvas del mosquito acuático, *Chironomus tentans*, que es fuertemente afectado a 0,1 µg/L (Rakotondravelo et al., 2006).

A partir de la información de la toxicidad aguda y crónica de clorpirifos sobre distintas especies de invertebrados acuáticos, se han desarrollado curvas de distribución de la sensibilidad (SSD) que demuestran que este biocida es muy tóxico para el grupo, considerado como el más sensible hacia plaguicidas organofosforados (Marrochi, 2018; Alvarez et al., 2019). Se muestra en la Figura 5.1 la curva de distribución de sensibilidad para efectos crónicos reportada por Alvarez et al. (2019), donde se determina que la concentración máxima permisible en agua para clorpirifos, que protege al 95% de las especies de invertebrados acuáticos (HC5) se estima en 0,7 ng/L. Este valor se encuentra incluso muy por debajo de todos los criterios de calidad de agua y niveles guía utilizados en diferentes países (Alvarez et al., 2019).

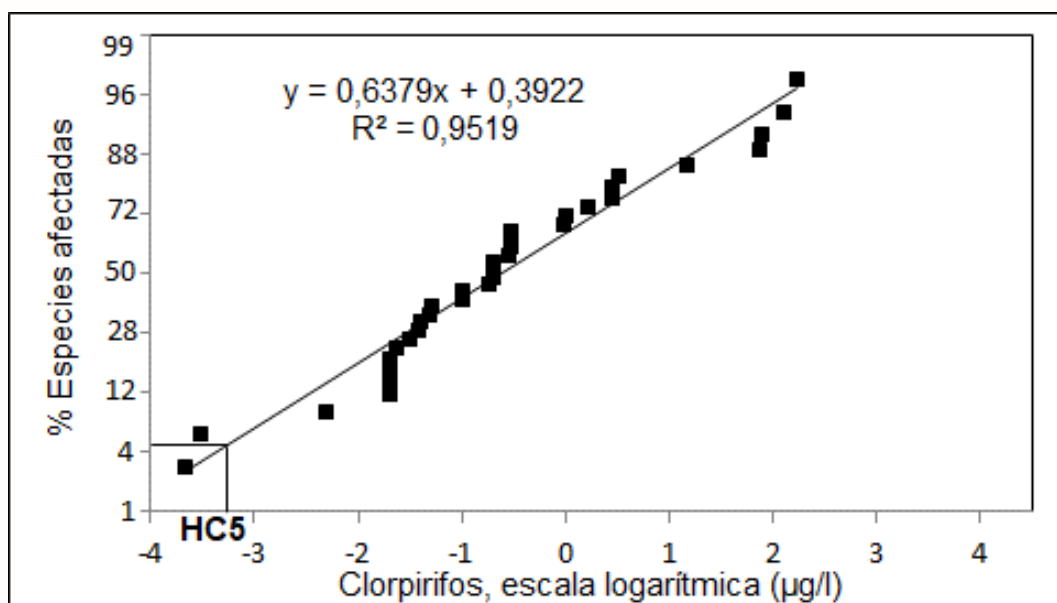


Figura 5.1: Curva de Distribución de Sensibilidad de Especies (SSD) para los efectos crónicos de clorpirifos sobre macroinvertebrados bentónicos.

Se marca la HC5, concentración que evita potencialmente efectos crónicos en el 95% del total de especies bentónicas. Datos extraídos de: (Ibrahim y Christensen, 1992); (Hooftman et al., 1993); (van Wijngaarden, 1993); (EPA, 1994); (Olima et al., 1997); (van der Hoeven y Gerritsen, 1997); (Leight y Van Dolah, 1999); (Roast et al., 2000); (Anderson y Lydy, 2002); (Sherrard et al., 2002); (Printes y Callaghan, 2004); (Bellas et al., 2005); (Rakotondravelo et al., 2006); (Zalizniak y Nugegoda, 2006); (Bringolf et al., 2007); (Montagna y Collins, 2007); (Rao et al., 2007); (Beiras y Bellas, 2008); (Satapornvanit et al., 2009); (Rubach et al., 2011); (Buono et al., 2012); (Hasenbein et al., 2015).

5.3.2 Estudios a nivel de comunidad béntica

Desde hace varias décadas, la evaluación de las comunidades de macroinvertebrados en los ecosistemas acuáticos viene proporcionando una excelente alternativa en el diagnóstico de la calidad del agua (Galdean et al., 2001; Li et al., 2010). El estudio de estas comunidades se ha incrementado a consecuencia de su aplicación como organismos bioindicadores dentro del proceso de evaluación de la calidad del agua, ya que mediante el análisis de la composición taxonómica y la estructura de las comunidades de macroinvertebrados se puede inferir el grado de afección producido por diversas perturbaciones antrópicas (Loeb y Spacie, 1994).

Los macroinvertebrados presentan adaptaciones evolutivas a determinadas condiciones ambientales y distintos límites de tolerancia frente a alteraciones como los cambios en la conectividad por sequías, cambios en las temperaturas y lluvias (Bonada et al., 2006, 2007). La diversidad es baja en aguas contaminadas debido a la eliminación de las especies menos resistentes (Macchi et al., 2018). Por lo tanto, variaciones en la composición y estructura de las comunidades de los cursos de agua pueden interpretarse como signos evidentes de algún tipo de variación ambiental. De esta forma el uso de macroinvertebrados como indicadores biológicos es una buena alternativa metodológica para detectar alteraciones en los ecosistemas acuáticos (Barbour et al., 2006) y estimar el grado de las mismas, dada su capacidad diferencial de tolerancia (Bonada et al., 2006).

La utilización de los macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores presenta ciertas ventajas respecto a otros componentes de la biota acuática. Según Rosenberg y Resh (1993), se destacan entre otras cosas por su presencia en prácticamente todos los sistemas acuáticos continentales, su naturaleza sedentaria, permitiendo un análisis espacial y temporal de los efectos debido a las perturbaciones en el ambiente, la facilidad en el análisis de las muestras, la utilización de equipos simples y de bajo costo, la disponibilidad de métodos e índices para el análisis de datos, y la validación que ha sido realizada en diferentes ríos del mundo.

Los plaguicidas pueden producir efectos adversos en las comunidades de macroinvertebrados disminuyendo la riqueza específica y la abundancia (Liess y Ohe, 2005; Schäfer et al., 2011; Egler et al., 2012). Estos cambios pueden alterar ciertas funciones del ecosistema como el flujo de energía, la productividad y los procesos de descomposición. La relación potencial entre la contaminación por plaguicidas y la estructura de la comunidad macrobéntica se basa en la diferencia fisiológica que presentan estos organismos, la movilidad y el tipo de respiración (a través de branquias o la piel), los que pueden influir notablemente en la absorción de los contaminantes a través del cuerpo (Buchwalter et al., 2002). Además, la duración de los ciclos de vida afectará la capacidad de ciertas especies para reaccionar a corto plazo ante una perturbación (van den Brink et al., 1996; Sherratt et al., 1999). La alta sensibilidad de las comunidades de macroinvertebrados a la contaminación por plaguicidas permite considerarlos buenos indicadores de la

calidad del agua y de los procesos ecológicos de los ecosistemas acuáticos (Overmyer et al., 2005). Al considerar las diferentes variables que pueden afectar la comunidad béntica, el arrastre de plaguicidas por la escorrentía aparece como uno de los factores de mayor peso en las variaciones de abundancia y riqueza de los macroinvertebrados en arroyos de zonas agrícolas (Berenzen et al., 2005).

5.3.3 Efectos de clorpirifos en comunidades de macroinvertebrados

Existe una importante cantidad de estudios que evidencian que la riqueza, la diversidad y la abundancia de macroinvertebrados se reducen drásticamente en ecosistemas acuáticos, a medida que aumentan las concentraciones de clorpirifos (Ward et al., 1995; van den Brink et al., 1996; Anderson et al., 2006; Cornejo et al., 2019).

Trabajos preliminares sobre los efectos de clorpirifos en especies de macroinvertebrados autóctonos en Holanda sirvieron de base para la evaluación posterior de efectos a nivel de microcosmos, con concentraciones tóxicas que variaron entre 0,02 y 6 µg/L (van Wijngaarden et al., 1993). Un trabajo pionero de Ward et al. (1995), aplicó clorpirifos en un nivel bajo de 0,1 µg/L en forma crónica en arroyos, demostrando pérdidas en la riqueza y la reducción en la abundancia en 13 de 19 taxones de quironómidos y en 9 de otros 36 taxones, encontrando un único taxón que se incrementó, *Physastra*. Estudios realizados sobre microcosmos con concentraciones de hasta 0,5 veces la CL50 de clorpirifos para la especie estándar más sensible, mostraron efectos muy significativos sobre la comunidad de macroinvertebrados; los taxones de Crustacea y Quironomidea *Corynoneura* fueron muy sensibles a partir de exposiciones de 0,05 µg/L, mientras que algunas especies como los gastrópodos *Valvata piscinalis*, *Physa fontinalis*, y anélidos *Stylaria lacustris* y el grupo Nemertea mostraron un aumento en el número de individuos (Cuppen et al., 2002). La aplicación de 0,05 veces la CL50 de *Daphnia magna*, considerada como la especie estándar más sensible, equivalente a 0,05 µg de clorpirifos/L, fue la mínima concentración que causó efectos deletéreos en microcosmos de agua dulce; la comunidad de zooplancton fue afectada, disminuyendo las poblaciones de Cladocera (*Daphnia galeata/magna*, *Bosmina longirostris*, *Alona rectangula*), Copepoda (*Cyclopoidea sp.*, *Nauplii*) y Ostracoda (*sp.*), mientras que aumentaron las rotíferas (*Mytilina mucronata*, *Mytilina bicarinata*, *Lecane sp.*) (van den Brink et al., 2002).

En el mismo sentido, a partir de las toxicidades individuales en algunas especies, se desarrollaron estudios del impacto crónico de clorpirifos y 2 piretroides en mesocosmos a campo durante 4 meses, con aplicaciones repetidas simulando escorrentía, observándose niveles detectables de clorpirifos aún a 6 semanas de su aplicación; las especies más afectadas fueron el caracol *Radix sp.*, el anfípodo *H. azteca*, la pulga acuática *Daphnia magna*, y los copépodos en general, para un total de 12 sobre 15 especies de macroinvertebrados halladas y a la concentración ambientalmente relevante de 5 ng de clorpirifos/L,

mientras que *Anopheles sp.* presentó un incremento en su abundancia (Hasenbein et al., 2016). La contaminación urbana y periurbana de arroyos también fue analizada como fuente de llegada de clorpirifos a partir de usos diversos en jardines y plazas, encontrándose en concentraciones relevantes en 6 arroyos analizados en Georgia, EE.UU., en valores medios de 0,4 a 0,8 ng/L y máximos entre 4,8 y 8,0 ng/L, con una frecuencia de detección de alrededor de 60% en agua, y concentraciones de hasta 3,9 µg/L en sedimentos; se determinó una correlación significativa entre el índice de toxicidad de plaguicidas y la alteración negativa de la comunidad béntica del arroyo, que mostró una caída en especies bioindicadoras sensibles como el escarabajo *Anchytarsus spp.*, la mosca de las piedras *Leuctra spp.* y la efímera *Habrophlebiodes spp.*, y un incremento en la abundancia de Chironomidae como respuesta adaptativa (Overmyer et al., 2005). Otro estudio, realizado sobre 24 sitios de arroyos en áreas agrícolas al Sureste de Australia, encontró también niveles y frecuencias de detección de clorpirifos importantes como para influir en los índices de toxicidad (máximos: 40 ng/L en agua, 42 µg/kg en sedimentos, y 110 µg/L en muestreadores al cabo de 28 días), que se correlacionan con indicadores mostrando una disminución en la abundancia de taxones sensibles (Schäfer et al., 2011).

Estudios realizados en el laboratorio confirmaron la alta sensibilidad de especies bentónicas hacia el clorpirifos en concentraciones halladas en el Río Salinas, California (71-162 ng/L), tales como el anfípodo *Hyaella azteca*, la efímera *Proclleon sp.* y el mosquito de agua *Chironomus dilutus* (CL50 70-86 ng/L) (Anderson et al., 2006), siendo que trabajos previos demostraron una disminución del número de individuos del taxón Ephemeroptera, de la riqueza taxonómica y porcentaje de especies de Chironomidae y también efectos negativos sobre *H. azteca*. Un estudio sobre múltiples estresores en 13 arroyos de zonas agrícolas en Panamá ha determinado los efectos de plaguicidas sobre las comunidades de macroinvertebrados, encontrando una correlación con la disminución de la abundancia y la riqueza taxonómica; los análisis químicos determinaron la presencia de clorpirifos en todos los sitios de muestreo, con concentraciones medias de 0,01 a 0,785 µg/L, y se asociaron con la sensibilidad de los grupos taxonómicos Hyalellidae, Leptophyphidae, Leptophlebiidae, Planariidae, Planorbidae, Ptilodactylidae, Odontoceridae y Tabanidae, mientras que Chironomidae, Lumbriculidae y Psychodidae se asociaron a niveles altos de plaguicidas (Cornejo et al., 2019). Una observación interesante del estudio es que la cantidad de plaguicidas en Unidades Tóxicas tuvo influencia significativa en el índice BMWP/PAN (por “grupo de trabajo de biomonitoreo” adaptado a Panamá) que contempla las especies y comunidades locales, y no así en otro índice SPEAR (por “especies en riesgo”) que no estuvo adaptado, lo que demuestra lo esencial de la utilización de las especies nativas para toda evaluación de riesgo en profundidad (Tiers 3 y 4) (Cornejo et al., 2019).

Cabe entonces analizar aparte los reportes disponibles al respecto en nuestro país. Varios autores reportan efectos de la aplicación de clorpirifos o contaminación por deriva o escorrentía, sobre invertebrados acuáticos, en la República Argentina. En Pampa Húmeda se observaron tasas de mortalidad del 30% al 100%

sobre el anfípodo *Hyalella curvispina* y 100% para *Macrobrachium borelli*, relacionados a concentraciones de clorpirifos en los arroyos La Horqueta y Brown de hasta 0,3 y 0,45 µg/L en agua, y 150 y 226 µg/kg de sedimento, respectivamente (Jergentz et al., 2005). La escorrentía de hasta 17 µg de clorpirifos/L en agua de arroyo causó 100% de mortalidad en *H. curvispina*, mientras que los sedimentos causaron la misma letalidad hasta un mes después (Mugni et al., 2011). En un estudio de sedimentos del arroyo Carnaval en la zona hortícola de La Plata-Buenos Aires, los mayores niveles encontrados de clorpirifos (2,26 mg/kg) y otros biocidas para uno de los sitios de muestreo coincide con la mayor toxicidad en un bioensayo de sedimentos con *H. curvispina* (50 – 100% de mortalidad) y la mayor reducción en el tamaño corporal (Mac Loughlin et al., 2017).

La contaminación estacional causa alteraciones en las comunidades bénticas de la Pampa Húmeda, llevando a un incremento en la abundancia de taxones más tolerantes como Chironomidae y Oligochaeta, y su disminución en los más sensibles, Ephemeroptera y Odonata (Crettaz-Minaglia et al., 2014). Los cambios en la estructura de la comunidad de macroinvertebrados se han correlacionado con las concentraciones reportadas de clorpirifos principalmente en arroyos de la zona de la Pampa Húmeda, donde las especies del género *Hyalella* son las más abundantes y las más sensibles (Hunt et al., 2017). No obstante, debe considerarse la altísima capacidad de desarrollo de resistencia de la especie *H. curvispina*, reportada en estudios del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, hacia insecticidas organofosforados y carbamatos y a hidrocarburos (Anguiano et al., 2014; del Brio et al., 2018).

En un estudio realizado en arroyos de la Provincia de Buenos Aires, entre La Plata y Punta Indio, se compararon sitios de uso hortícola con aplicación de plaguicidas, entre ellos clorpirifos, con sitios no impactados, encontrando niveles entre 0,76 y 4,71 µg/kg de sedimento (Solis et al., 2016). Los resultados mostraron también una disminución significativa de la riqueza y densidad en los ensambles de macroinvertebrados en aquellos sitios impactados (Solis, 2017). Fueron observados cambios en la composición de los ensambles, con la desaparición o reducción de la abundancia de taxones sensibles en los arroyos impactados como *Hyalella curvispina* (Hyalellidae), y los insectos del orden efemeróptera (familias Baetidae y Caenidae) y tricóptera (familias Hydroptylidae y Polycentropodidae) y familias Coenagrionidae, Caenidae, Polycentropodidae, Stratiomyidae y Corixidae. En cambio, en esos sitios sobresalieron taxones tolerantes como platelmintos (familia Dugesidae), sanguijuelas (familia Glossiphoniidae), Entomobyridae (Collembola), los gastrópodos *Biomphalaria peregrina* (Planorbidae), *Pomacea canaliculata* (Ampullariidae) y familias Ancyliidae, Sphaeriidae, Scirtidae, Hirudinea, Aeshnidae, Libellulidae (Solis et al., 2016, 2017; Solis, 2017).

Un estudio realizado en las zonas rurales de La Plata y Arrecifes determinó frecuencias de detección de clorpirifos en sedimentos de arroyos entre el 67% y el 100% en la primera zona y del 100% en todos los casos para Arrecifes, entre finales del año 2011 y comienzos de 2012. Los valores medios de clorpirifos

variaron entre 0,8 y 5,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de sedimento, con máximos de hasta 7,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Marrochi, 2018). Los análisis de la comunidad de macroinvertebrados establecen que el clorpirifos afecta negativamente a las familias Palaemonidae y Caenidae y a los órdenes a los cuales pertenecen, Decapoda y Ephemeroptera respectivamente, además del orden Crustacea, mientras que se correlaciona positivamente a un incremento en el grupo taxonómico de Oligochaeta. Un estudio ampliado sobre los arroyos de las zonas agrícolas de Arrecifes (2011 – 2014), estableció el efecto negativo de clorpirifos sobre los grupos taxonómicos de Platyhelminthes, Nematoda, Bivalvia, Ancyliidae y Ostracoda (Marrochi, 2018).

En un estudio realizado en canales de drenaje y desagüe en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén, la riqueza y la densidad de macroinvertebrados se redujeron durante el período de aplicación de clorpirifos, cuyas concentraciones máximas detectadas en el agua fueron 1,42 $\mu\text{g}/\text{L}$ (Macchi et al., 2018). En este estudio también se observaron cambios en la composición y abundancia de los ensambles, en aquellos drenajes impactados estuvieron ausentes diversas especies de efemeróptera (familias Baetidae y Leptophlebiidae), en cambio se destacaron por su abundancia larvas de insectos de la familia Chironomidae (principalmente de la subfamilia Chironominae), junto a moluscos (Gastropoda), anélidos (Oligochaeta y Glossiphoniidae) y platelmintos (familia Dugesiidae) (Macchi et al., 2018), considerados en diversos estudios como taxones tolerantes a la contaminación con plaguicidas (Liess y Ohe, 2005; Overmyer et al., 2005; Van Wijngaarden et al., 2005).

Se puede considerar, en síntesis, para la situación de las comunidades bénticas en nuestro país:

- 1- que existe una presión significativa de los plaguicidas utilizados habitualmente, entre los cuales el clorpirifos continúa teniendo una prevalencia importante en cuanto a la masa de insecticidas que se aplica en nuestro país y particularmente en la región Pampeana, causando graves alteraciones sobre la estructura de las comunidades de macroinvertebrados en las aguas superficiales de las zonas agrícolas.
- 2- que los efectos causados por clorpirifos entre otros plaguicidas, es semejante en nuestro país a lo que se describen como taxones tolerantes o sensibles a la contaminación para otras regiones del mundo.

5.4 Evaluaciones de Riesgo Ambiental para organismos acuáticos

Existen diversos reportes y trabajos publicados que analizan riesgos ambientales asociados al uso de clorpirifos como agroquímico en nuestro país, en distintos niveles de profundidad.

Se considera habitualmente una aproximación basada en etapas o “tiers” como lo más adecuado para realizar la evaluación de riesgo del uso de un plaguicida en ecosistemas específicos (ECOFRAM, 1999, acceso 15/10/2020). En una primera etapa o tier 1, la información disponible permite comparar, a través de los cálculos de Cocientes de Riesgo, las concentraciones ambientales máximas determinadas o esperadas de acuerdo a los esquemas de aplicación del agroquímico (posición conservativa) con parámetros de toxicidad

reportados para especies estandarizadas a nivel internacional. En función de ello, para nuestro país se encuentran ampliamente superados los valores límites recomendados de acuerdo a lo que se calcula para los riesgos potenciales de clorpirifos sobre invertebrados acuáticos y peces (Tabla 5.6).

Tabla 5.6 Cocientes de Riesgo para clorpirifos a partir de las concentraciones máximas reportadas en Argentina, para la evaluación en el Tier 1

Grupo	Riesgo	Cocientes de Riesgo por Región	
		Pampa Húmeda	Patagonia
		10,8 µg/L ⁽¹⁾	1,45 µg/L ⁽²⁾
	Agudo (µg/L)		
Algas	400 ⁽³⁾	0,027	0,0036
Invertebrados	0,01 ⁽⁴⁾	1080	145
Peces	0,58 ⁽⁵⁾	18,6	2,5
	Crónico (µg/L)		
Algas	100 ⁽³⁾	0,108	0,015
Invertebrados	0,00021 ⁽⁶⁾	51429	6905
Peces	0,002 ⁽⁷⁾	5400	725

Valores calculados para dos regiones con diferente tipo de uso; ⁽¹⁾ valor máximo citado en (Alvarez et al., 2019); ⁽²⁾ (Macchi et al., 2018). ⁽³⁾ valores de NOEC extraídos de US EPA (2014) <http://www.epa.gov/ecotox>; ⁽⁴⁾ valor para *Paratya australensis*, <http://www.epa.gov/ecotox>; ⁽⁵⁾ *Morone saxatilis*, Pesticide Action Network: <http://www.pesticideinfo.org/ECOTOX> database; ⁽⁶⁾

Daphnia magna, (Printes y Callaghan, 2004); ⁽⁷⁾ *Poecilia reticulata*, (De Silva y Samayawardhena, 2005).

En consecuencia, debe procederse con una segunda etapa o tier 2 de evaluación de riesgo. En este tier se comparan distribuciones de Sensibilidad de Especies (SSD del inglés), con las situaciones de exposición regional. En las Tablas 5.7 y 5.8 se reúnen los valores de parámetros ecotoxicológicos para efectos agudos y crónicos respectivamente de clorpirifos sobre distintas especies, reunidos a partir de trabajos publicados en revistas internacionales. La revisión incluye Concentraciones de Efecto 50 (letalidad como CL50, y otros efectos CE50), Mínima Concentración de Efecto Observable (LOEC), Máxima Concentración de No Efecto (NOEC) y otros, tanto para exposiciones a corto plazo (efectos agudos) como a largo plazo o crónico. Las condiciones de aceptación del dato, además de estar publicado en revista internacional, incluye la revisión por pares, la descripción completa del modelo experimental, inclusión de controles, replicados de tratamientos, control de la concentración efectiva de clorpirifos, rango adecuado de concentraciones cubriendo los parámetros ecotoxicológicos, y análisis estadístico para determinar límites de confianza y/o ajuste de modelos para obtener los parámetros por métodos probabilísticos. Se destacan en ambas tablas las especies autóctonas o presentes en Argentina, para comparar con otras especies, principalmente del hemisferio norte.

Tabla 5.7 Parámetros de ecotoxicidad aguda para clorpirifos en especies acuáticas

Especie	Parámetro	Efecto	Clorpirifos (µg/L)
Crustacea			
Cladocera			
<i>Daphnia magna</i>	48h-CL50	Mortalidad	0,1
<i>Daphnia carinata</i>	48h-CL50	Mortalidad	0,24
<i>Daphnia pulex</i>	48h-CL50	Mortalidad	0,33
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	48h-CL50	Mortalidad	0,06
Decapoda - Caridea			
<i>Neomysis integer</i>	96h-CL50	Mortalidad	0,15
<i>Artemia sp.</i>	24h-CL50	Mortalidad	18
<i>Palaemonetes pugio</i>	96h-CL50	Mortalidad	0,15
<i>Mysidopsis bahia</i> ⁽¹⁾	CL50	Mortalidad	0,035
- Amphipoda			
<i>Hyalella azteca</i> ⁽²⁾	48h- CL50	Mortalidad	0,1
<i>Gammarus palustris</i>	96h-CL50	Mortalidad	0,30
<i>Gammarus pseudolimnaeus</i>	48h- CL50	Mortalidad	7,29
<i>Gammarus fasciatus</i>	96h-CL50	Mortalidad	0,32
- Brachyura			
<i>Callinectes sapidus</i> ⁽³⁾	48h-CL50	Sin datos	5,2
<i>Trichodactylus borellianus</i> ⁽⁴⁾	96h-CL50	Desarrollo	45,53
Insecta			
<i>Chironomus sp,</i>	24h-CL50	Mortalidad	0,60
<i>Chironomus tentans</i> ⁽²⁾	48h-CL50	Mortalidad	0,3
<i>Aedes aegypti</i>	24h-CL50	Mortalidad	0,43
Odonata	24h-CL50	Mortalidad	11,4
<i>Quinquefasciata</i>	24h-CL50	Mortalidad	0,50
<i>Notonecta undulata</i>	24 h-CL50	Mortalidad	35,2
<i>Pteronarcys californica</i>	CL50	Sin datos	50
Mollusca			
<i>Biomphalaria alexandrina</i>	24h-CL50	Mortalidad	3000

<i>Lymnaea stagnalis</i>	96h-CL50	Mortalidad	> 94
Nematoda			
<i>Caenorhabditis elegans</i>	24h-CL50	Sin datos	966
Peces			
<i>Morone saxatilis</i>	96h-CL50	Mortalidad	0,58
<i>Oncorhynchus mykiss</i> ⁽⁵⁾	96h-CL50	Mortalidad	7,1
<i>Cyprinus carpio</i>	96h-CL50	Mortalidad	8
<i>Gambusia affinis</i>	24h-CL50	Mortalidad	110
<i>Poecilia reticulata</i>	96h-CL50	Mortalidad	7,17
<i>Tilapia mossambica</i>	96h-CL50	Mortalidad	26
<i>Lepomis macrochirus</i> ⁽⁵⁾	CL50	Sin datos	1,8
<i>Pimephales promelas</i> ⁽²⁾	48h-CL50	Mortalidad	162,7
<i>Pungitius pungitius</i> ⁽⁶⁾	48h-CL50	Mortalidad	4,7
<i>Anguilla Anguilla</i>	48h-CL50	Mortalidad	690
<i>Cyprinodon variegatus</i>	96h-CL50	Mortalidad	136
<i>Mugil cephalus</i> ⁽⁵⁾	96h-LC5	Sin datos	5,4
Amphibia			
<i>Rinella arenarum (embrión)</i> ⁽⁷⁾	144h-CL50	Mortalidad	13500
<i>Rhinella arenarum (larva)</i> ⁽⁸⁾	96h-CL50	Mortalidad	1410
<i>Xenopus laevis</i> ⁽⁹⁾	96h –CL50	Sin datos	511
<i>Rana pipiens</i> ⁽⁵⁾	24h-CL50	Toxicidad	3000
<i>Bufo americanus</i> ⁽⁵⁾	24h-CL50	Toxicidad	1

Se marcan en color azul las especies autóctonas o introducidas que se encuentran en Argentina. Datos recolectados de: Pesticide Action Network: <http://www.pesticideinfo.org/> ECOTOX database; ⁽¹⁾ (EPA, 2002); ⁽²⁾ (Moore et al., 1998); ⁽³⁾ (Mayer y Eilersieck, 1986); ⁽⁴⁾ (Montagna, 2010); ⁽⁵⁾ (Buckler et al., 2003); ⁽⁶⁾ (Munn y Gilliom, 2001); ⁽⁷⁾ (Sotomayor et al., 2012); ⁽⁸⁾ (Liendro et al., 2015); ⁽⁹⁾ (CCME, 2008)

Si se comparan las curvas de Distribución de Sensibilidad de Especies para todos los organismos en general contra los organismos autóctonos o presentes en Argentina, se observa prácticamente la misma distribución (Figura 5.2). Los ajustes de modelos log Probit permiten determinar una HC5 de 10 ng/L para la protección de los organismos acuáticos autóctonos, es decir un nivel de clorpirifos que podría afectar al 5% de las especies más sensibles, y se observa que las especies autóctonas coinciden con la parte más extensa general de la distribución para todas las especies, probablemente por la escasa cantidad de macroinvertebrados relevados en nuestro país y que tienen una mayor sensibilidad en general a los

organofosforados. De esta manera, el ajuste de una única distribución Probit para los efectos agudos de clorpirifos para todas las especies en general arroja un valor de HC5 de 14 ng/L, similar al estimado para las especies locales. El ajuste de un modelo bi-Probit permite corregir ese valor de HC5 a 60 ng/L cuando se considera particularmente a las especies más sensibles. Para visualizar los taxones que involucran los distintos grados de sensibilidad, se han presentado los datos discriminados en la Figura 5.3. Se puede observar que los macroinvertebrados pertenecientes a Cladocera (*Daphnia*), Amphipoda y Caridea (camarones) y algunos insectos se encuentran entre los organismos más sensibles a efectos tóxicos agudos de clorpirifos, mientras que moluscos y vertebrados son menos sensibles.

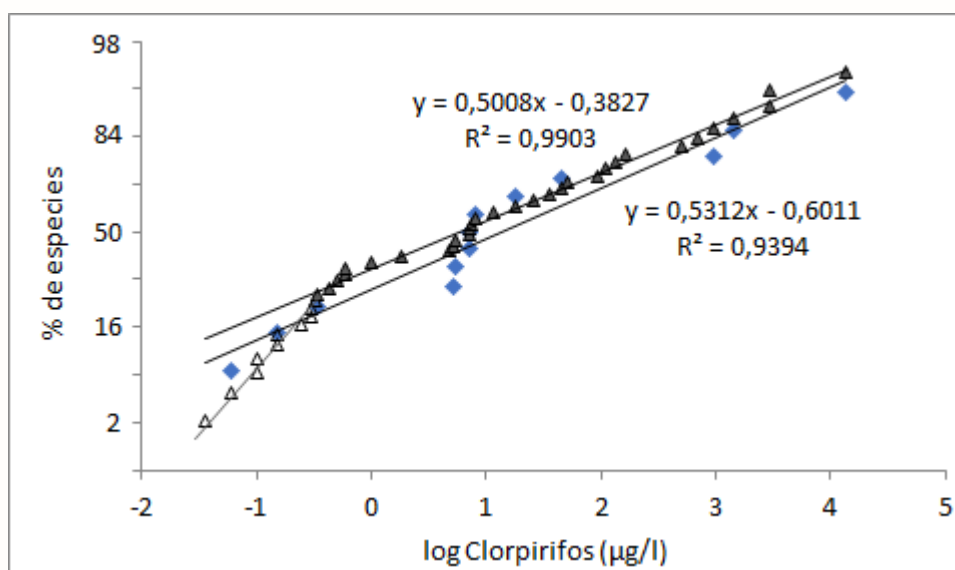


Figura 5.2 Curvas de Distribución de Sensibilidad de Especies para organismos acuáticos en Argentina y a escala global. Efectos agudos de clorpirifos

Especies locales: rombos en azul; especies a escala global: triángulos abiertos y en gris para diferentes respuestas de sensibilidad. Figura elaborada en base a la información de Tabla 5.7.

Para el análisis de los efectos tóxicos crónicos de clorpirifos, se observa primeramente una escasa cantidad de información para las especies locales. Esto imposibilita realizar un ajuste de la Distribución de Sensibilidad. Si se compara la situación de especies locales y autóctonas de Argentina con las especies a escala global, se puede observar en principio que abarcan un rango semejante de sensibilidades (Figura 5.4). Los valores de puntos finales de toxicidad crónica utilizados para el ajuste de la Distribución de Sensibilidad se muestran en la Tabla 5.8.

Tabla 5.8 Valores de toxicidad crónica para clorpirifos en especies acuáticas

Grupo	Especie	Punto final	Referencia
Taxonómico		(µg/ml)	
Cladocera	<i>Daphnia magna</i>	0,00021	(Printes y Callaghan, 2004)
Amphipoda	<i>Hyalella azteca</i>	0,0003	(Anderson y Lydy, 2002)

Pez	<i>Poecilia reticulata</i>	0,002	(De Silva y Samayawardhena, 2005)
Cladocera	<i>Daphnia carinata</i>	0,005	(Zalizniak y Nugegoda, 2006)
Pez	<i>Chirostoma jordani</i>	0,007	(Dzul-Caamal et al., 2012)
Caridea	<i>Americamysis bahia</i>	0,02	(EPA, 1994)
Insecta	<i>Chironomus tentans</i>	0,02	(Rakotondravelo et al., 2006)
Amphipoda	<i>Gammarus palustris</i>	0,02	(Leight y Van Dolah, 1999)
Amphipoda	<i>Gammarus pulex</i>	0,02	(van Wijngaarden et al., 1993)
Caridea	<i>Palaemonetes argentinus</i>	0,023	(Montagna y Collins, 2007)
Insecta	<i>Chironomus riparius</i>	0,032	(Hooftman et al., 1993)
Caridea	<i>Neomysis integer</i>	0,038	(Roast et al., 2000)
Caridea	<i>Paratya australiensis</i>	0,04	(Olima et al., 1997)
Cladocera	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	0,05	(Sherrard et al., 2002)
Cladocera	<i>Daphnia pulex</i>	0,052	(van der Hoeven y Gerritsen, 1997)
Insecta	<i>Cloeon dipterum</i>	0,1	(van Wijngaarden et al., 1993)
Caridea	<i>Palaemon serratus</i>	0,1	(Bellas et al., 2005)
Pez	<i>Pimephales promelas</i>	0,12	(Jarvinen et al., 1983)
Insecta	<i>Chaoborus obscuripes</i>	0,18	(van Wijngaarden et al., 1993)
Insecta	<i>Chironomus dilutus</i>	0,2	(Hasenbein et al., 2015)
Cladocera	<i>Daphnia longispina</i>	0,2	(van Wijngaarden et al., 1993)
Caridea	<i>Procambarus spec.</i>	0,2	(Rubach et al., 2011)
Caridea	<i>Palaemonetes pugio</i>	0,28	http://www.pesticideinfo.org/
Camarodonta	<i>Paracentrotus lividus</i>	0,29	(Buono et al., 2012)
Caridea	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	0,293	(Satapornvanit et al., 2009)
Insecta	<i>Caenis horaria</i>	0,3	(van Wijngaarden et al., 1993)
Cladocera	<i>Simocephalus vetulus</i>	0,3	(van Wijngaarden et al., 1993)
Pez	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	0,57	(Sandahl et al., 2004)
Insecta	<i>Sialis lutaria</i>	0,96	(Rubach et al., 2011)
Insecta	<i>Corixa punctata</i>	1	(van Wijngaarden et al., 1993)
Anura	<i>Rana sphenoccephala</i>	1	(Widder y Bidwell, 2008)
Anura	<i>Smilisca phaeota</i>	1	(Gallo-Delgado et al., 2006)
Isopoda	<i>Asellus aquaticus</i>	1,4	(van Wijngaarden et al., 1993)
Insecta	<i>Anax imperator</i>	1,63	(Rubach et al., 2011)

Pez	<i>Pungitius pungitius</i>	2,1	(van Wijngaarden et al., 1993)
Insecta	<i>Notonecta maculata</i>	2,78	(Rubach et al., 2011)
Insecta	<i>Parapoynx stratiotata</i>	2,86	(Rubach et al., 2011)
Insecta	<i>Ranatra linearis</i>	3,33	(Rubach et al., 2011)
Pez	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	3,8	(van Wijngaarden et al., 1993)
Anura	<i>Hyla chrysoscelis</i>	10	(Widder y Bidwell, 2008)
Mollusca	<i>Lampsilis siliquoidea</i>	15	(Bringolf et al., 2007)
Anura	<i>Xenopus laevis</i>	20	(El-Merhibi et al., 2004)
Anura	<i>Pseudacris regilla</i>	50	(Sparling y Fellers, 2009)
Anura	<i>Rana boylii</i>	50	(Sparling y Fellers, 2009)
Anura	<i>Bufo melanostictus</i>	50	(Jayawardena et al., 2011)
Caridea	<i>Artemia salina</i>	75	(Rao et al., 2007)
Mollusca	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	80	(Beiras y Bellas, 2008)
Anura	<i>Acris crepitans</i>	100	(Widder y Bidwell, 2008)
Anura	<i>Gastrophryne olivacea</i>	100	(Widder y Bidwell, 2008)
Mollusca	<i>Biomphalaria alexandrina</i>	125	(Ibrahim et al., 1992)
Caridea	<i>Neocaridina denticulata</i>	171	(Rubach et al., 2011)
Anura	<i>Rhinella arenarum</i> larva	500	(Liendro et al., 2015)
	embrión	8000	(Sotomayor et al., 2012)

Se marcan en color azul las especies autóctonas o introducidas que se encuentran en Argentina.

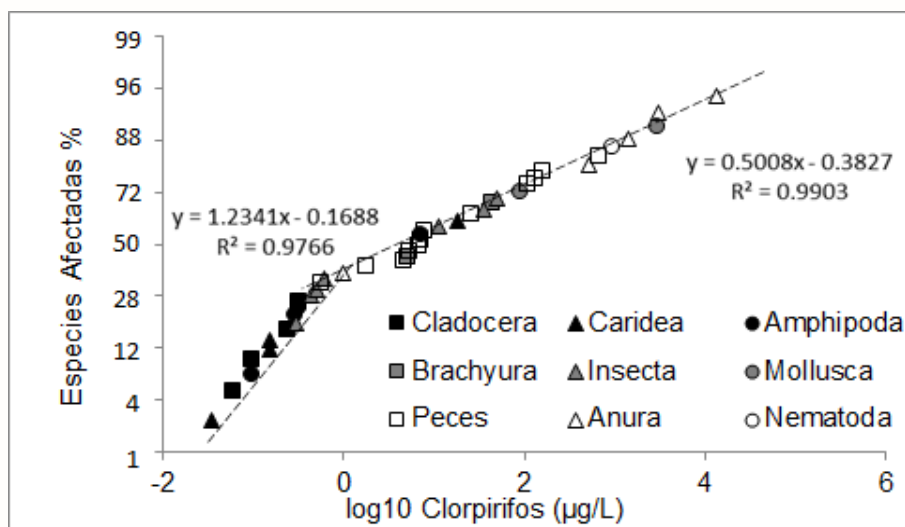


Figura 5.3 Distribución de Sensibilidad de Especies para toxicidad aguda de clorpirifos discriminada por grupo taxonómico

Información de Tabla 5.7. Modificada de Alvarez et al. (2019).

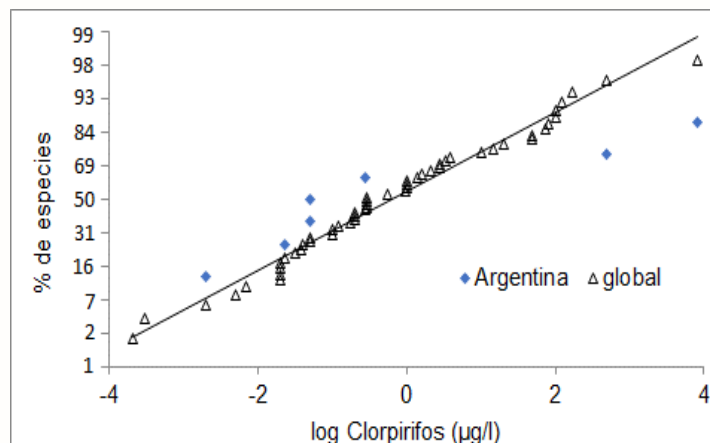


Figura 5.4 Distribución de Sensibilidad de Especies para efectos crónicos de clorpirifos en especies de Argentina y a escala global

Figura elaborada en base a la información de Tabla 5.8.

El análisis a nivel de taxones, mostrado en la Figura 5.5, permite observar que los macroinvertebrados acuáticos, junto con algunos peces, son los más sensibles a los efectos crónicos del clorpirifos (Alvarez et al., 2019). A partir del ajuste de un modelo Probit, se puede estimar un índice de riesgo crónico a partir del HC5 de 1,0 ng de clorpirifos/L. Considerando que los macroinvertebrados acuáticos son el grupo más sensible a clorpirifos, al igual que para otros plaguicidas organofosforados y compuestos orgánicos en general (van den Brink et al., 2002), es apropiado aplicar como nivel de riesgo para calidad de aguas el HC5 estimado para este grupo taxonómico, que arroja un valor de 0,7 ng/L según se muestra en la Figura 5.1. Dicho valor ha sido sugerido para establecer como límite máximo permitido en aguas para la protección de la vida acuática (Alvarez et al., 2019), reemplazando al antiguo Nivel Guía para clorpirifos establecido por la Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación (2005), de 6 ng/L. El límite propuesto de 0,7 ng/L como valor para el criterio de calidad de aguas para clorpirifos, es incluso menor que cualquier otro criterio establecido actualmente a nivel mundial (Alvarez et al., 2019).

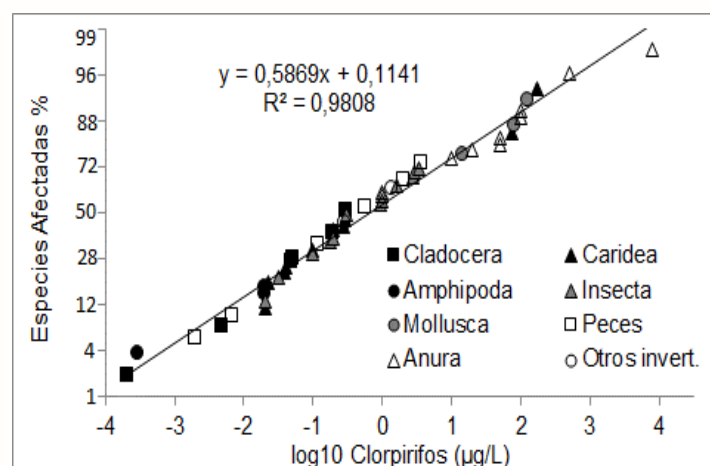


Figura 5.5 Efectos crónicos de clorpirifos por grupo taxonómico

Información de Tabla 5.8. Modificada de Alvarez et al. (2019).

A continuación, se debe comparar la Distribución de Sensibilidad de Especies para clorpirifos con los valores de concentración del tóxico que han sido descriptos en nuestro país. Para esta instancia de evaluación se dispone de una importante recolección de datos de concentración ambiental de clorpirifos enfocadas en una revisión sobre la región de la Pampa Húmeda (Alvarez et al., 2019), y un trabajo reciente sobre la región Norpatagónica del Alto Valle de Río Negro y Neuquén (Macchi et al., 2018). Puede observarse en la Figura 5.6 que las determinaciones realizadas en diferentes zonas del país muestran en algunos casos diferentes rangos de concentración hallados, que pueden deberse a distintos factores, como épocas y años de realización de los muestreos y metodologías de análisis químico. Sin embargo, algunas que tienen una mayor amplitud de rangos de concentración de clorpirifos en aguas, y que coincidentemente tienen una mayor cantidad de sitios muestreados y de determinaciones, cubren todo el espectro de concentraciones de clorpirifos para el país.

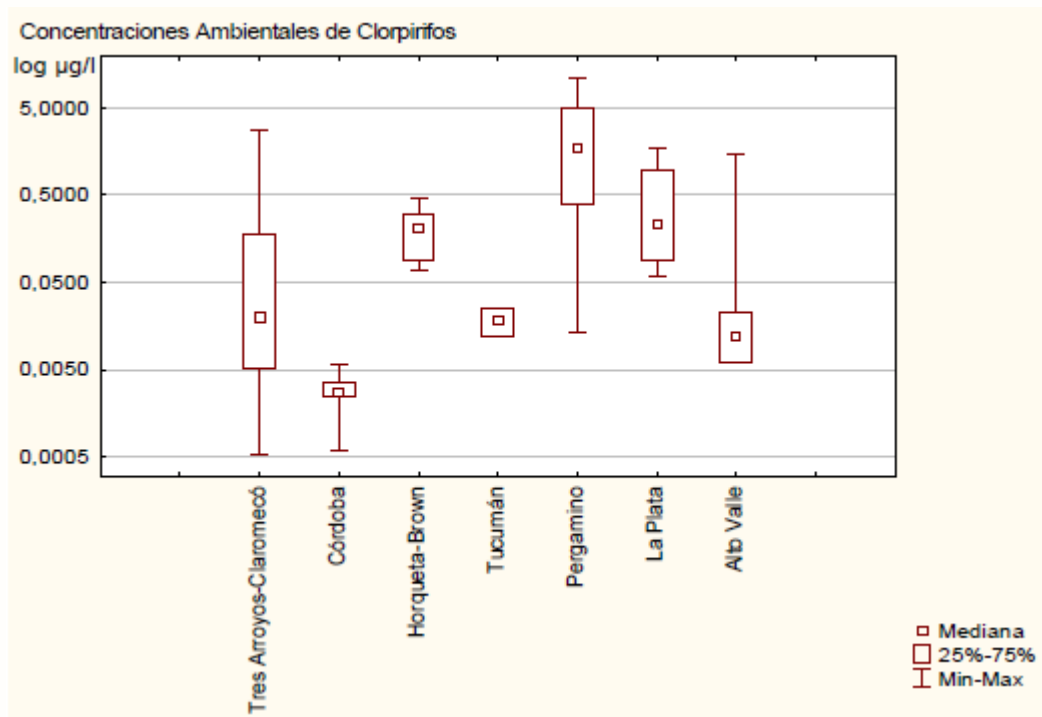


Figura 5.6 Rangos de concentración ambiental de clorpirifos en aguas de distintas regiones del país. Datos para cada zona reportados en: (Alvarez et al., 2019); (Bonansea et al., 2013); (Jergentz et al., 2005); (De Gerónimo et al., 2014); (Marino y Ronco, 2005; Ronco, 2015); (Demetrio, 2012); comunicación personal de (Macchi et al., 2018).

En el trabajo de (Alvarez et al., 2019) se comparan y reúnen las concentraciones ambientales para la zona de Pampa Húmeda, comparativamente con lo reportado para la región del Alto Valle del Río Negro y Neuquén, realizando el análisis probabilístico conjunto con las Distribuciones de Sensibilidad de Especies para clorpirifos, tanto para efectos agudos como crónicos. Los autores indican que las máximas concentraciones ambientales reportadas para clorpirifos afectarían a un 55% de las especies acuáticas en

forma aguda, mientras que este porcentaje se ubica en un 76% de especies afectadas en forma crónica. Más aún, comparando los valores límite recomendables para la protección de especies acuáticas con las concentraciones ambientales reportadas en Pampa Húmeda para clorpirifos, el 35% de las veces las concentraciones en agua excederían el HC5 para efectos agudos, es decir, se estaría excediendo el límite recomendable; para efectos crónicos de clorpirifos, el porcentaje de veces que las concentraciones en agua exceden el límite recomendable es inaceptable, alcanzando un 96%. Se presenta en la Figura 5.7 un gráfico de Probabilidad Conjunta para los riesgos agudos y crónicos debidos a clorpirifos en especies acuáticas y las concentraciones ambientales esperables de clorpirifos en base a los niveles reportados para la zona Pampa Húmeda (datos recolectados por Álvarez et al., 2019) y para la región frutícola del Alto Valle de Río Negro y Neuquén (datos provistos por Macchi et al., 2018).

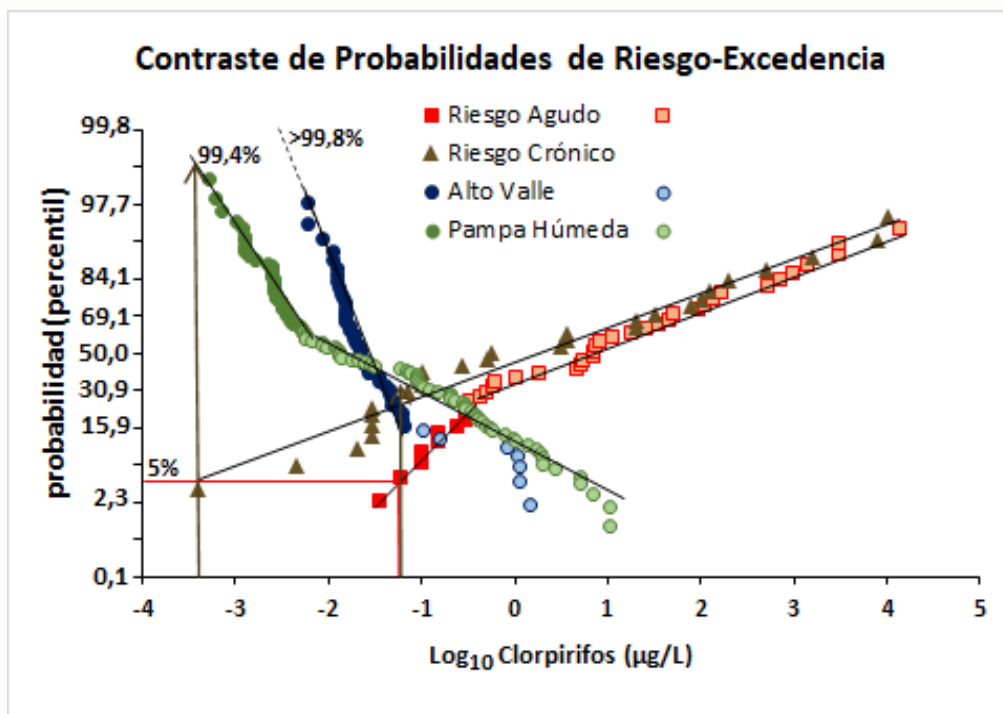


Figura 5.7 Probabilidad Conjunta para la Distribución de Sensibilidad de Especies acuáticas y Concentraciones Ambientales de clorpirifos en aguas de Argentina

Se marcan los niveles de excedencia del HC5 (flechas color marrón) para efectos agudos y crónicos (línea horizontal roja al 5%). Figura basada en la información de Tablas 5.7 y 5.8, Macchi et al. (2018) y Alvarez et al. (2019).

La información que brinda esta figura permite concluir que los riesgos de la exposición a clorpirifos son inaceptables para los organismos acuáticos, principalmente para aquellos efectos a largo plazo. Los niveles de clorpirifos hallados en agua superan cerca del 100% el nivel crítico de especies afectadas según la SSD para efectos crónicos, mientras que para los efectos agudos superan entre un 20 a 40% de las veces según las regiones. Por tanto, es conveniente pasar a una tercera etapa para refinar la Evaluación de Riesgo.

Para el tercer tier, se han considerado los efectos de la exposición a clorpirifos sobre el ensamble de la comunidad de macroinvertebrados bénticos. En este caso, existen varios niveles límite sugeridos para

clorpirifos con el fin de proteger la comunidad béntica. La Comisión Europea ha propuesto un valor límite de 0,1 µg/L para clorpirifos como protección de los ecosistemas acuáticos y de las comunidades de macroinvertebrados, tomando este valor como concentración predicha de no efecto (NOEC) para el ecosistema acuático (European Commission, 2005), indicando que concentraciones de clorpirifos desde 1 µg/L ya provocan efectos relevantes sobre los ecosistemas acuáticos de Europa. En consonancia, Brock et al., (2006) consideran este límite de protección de 0,1 µg/L para clorpirifos analizando la información de microcosmos y mesocosmos en un modelo ecosistémico utilizado como tier 3. Una revisión posterior de datos de ecotoxicidad en microcosmos y mesocosmos aplicados a la Evaluación de Riesgo de clorpirifos en EE. UU, tomando también en consideración el valor de HC5 de la Distribución de Sensibilidad de Especies como protector de los ecosistemas, mantiene el valor de 0,1 µg/L para clorpirifos como suficiente (Giddings et al., 2014). Este valor límite de 0,1 µg de clorpirifos/L estaría excedido un 31% de las veces en aguas de la región de la Pampa Húmeda según puede estimarse en el modelo ajustado de la Figura 5.7. Una medida más conservativa como límite propone el uso de la CL50 para la especie más sensible del ensamble de macroinvertebrados o del ecosistema, multiplicado por un factor de 0,05 (van den Brink et al., 2002). Esta aproximación, utilizando la CL50 para *Daphnia magna*, arroja un valor límite de 0,05 µg/L, y se encuentra excedido en 41% de probabilidad en aguas de la Pampa Húmeda. Sin embargo, un estudio basado en la recopilación de los efectos de plaguicidas en comunidades de invertebrados acuáticos de diferentes partes del mundo encuentra efectos significativos muy por debajo del límite sugerido en los Principios Uniformes de la Unión Europea para el registro de plaguicidas únicos, de 1/100 de la CE50 para *Daphnia magna*. En consecuencia, un valor límite de 1/1000 de la CE50 aguda para *Daphnia magna* es sugerido para la derivación de Estándares de Calidad Ambiental (Schäfer et al., 2012). Este es el valor límite más conservativo y apropiado a aplicar para la protección del ensamble de macroinvertebrados bentónicos, dando una concentración máxima de 1 ng/L para clorpirifos en aguas. Este límite máximo, aplicado a las concentraciones ambientales registradas para clorpirifos en aguas superficiales de Argentina demuestra ser excedido en el 95,6% de los casos, lo cual es también inaceptable desde el punto de vista de los impactos ambientales esperados. Por otra parte, este valor límite para los efectos sobre la comunidad béntica es muy cercano al límite de protección de efectos crónicos para especies acuáticas determinado en la Distribución de Sensibilidad de Especies a través del parámetro HC5 que protege al 95% de las especies (Alvarez et al., 2019).

Dado que el límite de protección para la comunidad de invertebrados acuáticos está ampliamente excedido por las concentraciones ambientales registradas de clorpirifos en aguas, es necesario pasar a la última etapa de refinamiento en la Evaluación de Riesgo, que considera los efectos en estudios realizados a campo sobre organismos, poblaciones y ecosistema en general, además de otros aspectos como la posibilidad de recuperación de los mismos a través de distintos mecanismos. En este aspecto, no son muchos los estudios que se han abocado a esta problemática en Argentina. Varios de estos estudios se han descrito

en el punto previo sobre los efectos del clorpirifos sobre los macroinvertebrados acuáticos y el ensamble de las comunidades bénticas. En forma resumida, se han reportado tasas de mortalidad que van del 30 al 100% para *Hyalella curvispina* en arroyos contaminados con clorpirifos (Jergentz et al., 2004; Mugni et al., 2011). Los ensambles comunitarios de macroinvertebrados se afectan estacionalmente en cursos de agua de la Pampa Húmeda, incrementándose la abundancia relativa de los taxones más resistentes y disminuyendo la abundancia de aquellos grupos sensibles (Crettaz-Minaglia et al., 2014), lo que altera profundamente el equilibrio comunitario ecosistémico. Estos cambios en la estructura de la comunidad béntica están correlacionados con las concentraciones de insecticidas en aguas, siendo clorpirifos uno de los principales (Hunt et al., 2017). Las comunidades bénticas en los canales, arroyos y ríos en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén se ven afectadas estacionalmente por las contaminaciones derivadas del uso de plaguicidas en los tratamientos fitosanitarios de la producción frutícola. Dichas comunidades se impactan negativamente en forma correlativa con la detección de picos de contaminación principalmente por clorpirifos durante las aplicaciones, disminuyendo significativamente la abundancia y la riqueza taxonómica, con un desbalance también hacia la predominancia de especies resistentes en detrimento de las especies más sensibles (Macchi et al., 2018). Estos cambios en la estructura comunitaria también se pueden ver reforzados a largo plazo, por la aparición de poblaciones resistentes en algunas especies, como la resistencia reportada para poblaciones de *Hyalella curvispina* en canales de riego, drenajes y arroyos contaminados en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén (Anguiano et al., 2014; del Brio et al., 2018).

Finalmente, puede concluirse que el clorpirifos impacta profundamente en las especies acuáticas de la República Argentina. Si bien no está establecido el grado de afectación o un mapeo de la situación actual, los riesgos ambientales del uso frecuente y excesivo de clorpirifos y/o los modos de su aplicación que pueden implicar una mayor transferencia indeseada a los cursos de agua, significan una seria preocupación por las consecuencias que puedan generar en el mediano plazo.

5.5 Conclusiones

Los trabajos analizados en este capítulo aportan evidencia clara respecto de la toxicidad que clorpirifos ejerce sobre organismos acuáticos, su transporte a largas distancias y su potencial de bioacumulación. Dichos trabajos aportan datos consistentes con los que recientemente ha postulado la Comisión de Compuestos Químicos de la Unión Europea, ECHA, para sustentar la propuesta de incorporación de clorpirifos como COP ante el Convenio de Estocolmo (<https://echa.europa.eu/documents/10162/bb4342c2-64f1-d184-e8d8-334f02842f9b>).

El relevamiento bibliográfico demuestra que el clorpirifos ejerce múltiples efectos dañinos sobre los organismos acuáticos. Los efectos observados incluyen alteraciones del crecimiento, del desarrollo, de la

reproducción, del comportamiento, del sistema inmune y endocrino y de parámetros bioquímicos relacionados a esterasas y estrés oxidativo, entre otros procesos. A nivel histopatológico, clorpirifos afecta tejidos como gónadas, branquias, cerebro, intestino, hígado y riñones, lo cual afecta la respiración, la regulación iónica y osmótica, la capacidad de absorción y reserva de nutrientes, la capacidad de detoxificación, el crecimiento y la reproducción, entre otros procesos.

Los efectos neurotóxicos subletales observados a nivel individual (que en peces se manifiestan desde concentraciones que son de 1 a 3 órdenes de magnitud inferiores a la CL50) podrían afectar la supervivencia de los individuos expuestos y tener repercusiones a nivel poblacional, ya que pueden afectar la capacidad de selección de hábitat, la conducta migratoria, la respuesta de escape frente a predadores y/o la capacidad para capturar presas, la comunicación entre individuos, la respuesta frente a enfermedades infecciosas, etc.

A nivel de comunidad, se ha comprobado que la exposición a clorpirifos altera la composición taxonómica y estructura de las comunidades de macroinvertebrados, siendo este grupo considerado como el más sensible frente a plaguicidas organofosforados.

Los niveles ambientales esperados de clorpirifos en aguas superficiales prácticamente de toda la República Argentina y las frecuencias de detección que han sido observadas en las últimas décadas sugieren que los riesgos y los niveles de daño sobre los organismos acuáticos son elevados, calificándolos como inaceptables.

5.6 Referencias Bibliográficas

- Agostini M, Kacolis F, Demetrio P, Natale G, Bonetto C, Ronco A. 2013. Abnormalities in amphibian populations inhabiting agroecosystems in northeastern Buenos Aires Province, Argentina. *Dis. Aquat. Organ.* 104, 163–171. <https://doi.org/10.3354/dao02592>
- Agostini MG, Roesler I, Bonetto C, Ronco AE, Bilenca D. 2020. Pesticides in the real world: The consequences of GMO-based intensive agriculture on native amphibians. *Biol. Conserv.* 241, 108355. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.108355>
- Aitte SA. 2018. Study the Effect of the Duration Exposure for Lethal and Sub-Lethal Concentrations of Organophosphorus Chlorpyrifos Pesticide for Freshwater Fish Common Carp (*Cyprinus carpio*) (Linn) and Liza abu (Haeckel) Fishes. *J. Chem. Pharm. Res.* 10 (6), 48-57.
- Ali M, Majid M, Hussain I, Kali S, Naz T, Niazi MBK, Khan MRA, Zafar MI. 2020. Chlorpyrifos mediated oxidative damage and histopathological alterations in freshwater fish *Oncorhynchus mykiss* in Northern Pakistan. *Aquaculture Research.* 51 (11), 4583-4594. DOI: 10.1111/are.14804
- Altun S, Ozdemir S, Arslan H. 2017. Histopathological effects, responses of oxidative stress, inflammation, apoptosis biomarkers and alteration of gene expressions related to apoptosis, oxidative stress, and reproductive system in chlorpyrifos exposed common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Environ. Pollut.* 230, 432-443. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2017.06.085>
- Alvarez M, Du Mortier C, Jaureguiberry S, Venturino A. 2019. Joint probabilistic analysis of risk for aquatic species and exceedence frequency for the agricultural use of chlorpyrifos in the Pampean region, Argentina. *Environ. Toxicol. Chem.* 38, 1748–1755. <https://doi.org/10.1002/etc.4441>
- Alvarez M. 2014. Estudios tendientes a establecer el comportamiento ambiental del insecticida clorpirifos en ambientes acuáticos de Tres Arroyos, Prov. de Buenos Aires. Tesis doctoral. Fac. Ciencias Vet. Univ. Buenos Aires, Argentina.
- Anderson BS, Phillips BM, Hunt JW, Connor V, Richard N, Tjeerdema RS. 2006. Identifying primary stressors impacting macroinvertebrates in the Salinas River (California, USA): Relative effects of pesticides and suspended particles. *Environ. Pollut.* 141, 402-408. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.08.056>
- Anderson T, Liu J, McMurry S, Pope C. 2018. Comparative in vitro and in vivo effects of chlorpyrifos oxon in the outbred CD-1 mouse (*Mus musculus*) and great plains toad (*Anaxyrus cognatus*). *Environ. Toxicol. Chem.* 37, 1898–1906. <https://doi.org/10.1002/etc.4139>
- Anderson T, Lydy M. 2002. Increased toxicity to invertebrates associated with a mixture of atrazine and organophosphate insecticides. *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 1507–1514.
- Anguiano OL, Caballero de Castro A, Pechen de D'Angelo AM. 2001. The role of glutathion conjugation in the regulation of early toad embryos' tolerance to pesticides. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* 128, 35–43. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(00\)00174-5](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(00)00174-5)
- Anguiano OL, Castro C, Venturino A, Ferrari A. 2014. Acute toxicity and biochemical effects of azinphos methyl in the amphipod *Hyalella curvispina*. *Environ. Toxicol.* 29, 1043-1053.
- Argemi F. 2020. Efectos letales y subletales en peces por la exposición a agroquímicos empleados en cultivos de la provincia de Buenos Aires. Tesis doctoral. Fac. Ciencias Exactas y Naturales. Univ. Buenos Aires, Argentina.
- Attademo AM, Peltzer PM, Lajmanovich RC, Cabagna-Zenkhusen M, Junges CM, Lorenzatti E, Aró C, Grenón P. 2015. Biochemical changes in certain enzymes of *Lysapsus limellium* (Anura: Hylidae) exposed to chlorpyrifos. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 113, 287–294. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.021>
- Attademo AM, Sanchez-Hernandez JC, Lajmanovich RC, Peltzer PM, Junges C. 2017. Effect of diet on carboxylesterase activity of tadpoles (*Rhinella arenarum*) exposed to chlorpyrifos. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 135, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.09.012>
- Banaee M, Haghi BN, Ibrahim ATA. 2013. Sub-lethal toxicity of chlorpyrifos on Common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758): biochemical response. *Int. J. Aquat. Biol.* 1(6), 281-288. DOI: <https://doi.org/10.22034/ijab.v1i6.144>
- Bandara MGDK, Wijesinghe MR, Ratnasooriya WD, Priyani AAH. 2012. Chlorpyrifos-induced Histopathological Alterations in *Duttaphrynus melanostictus* (Schneider 1799) Tadpoles: Evidence from Empirical Trials. *J. Trop. For. Environ.* 2, 27–36. <https://doi.org/10.31357/jtfe.v2i2.592>
- Barbour MT, Stribling JB, Verdonschot PFM. 2006. The multihabitat approach of USEPA's rapid bioassessment protocols: Benthic macroinvertebrates. *Limnetica* 25, 839-850.

- Barreto E, Salgado Costa C, Demetrio P, Lascano C, Venturino A, Natale GS. 2020. Sensitivity of *Boana pulchella* (Anura: Hylidae) Tadpoles to Environmentally Relevant Concentrations of Chlorpyrifos: Effects at the Individual and Biochemical Levels. *Environ. Toxicol. Chem.* 39, 834–841. <https://doi.org/10.1002/etc.4664>
- Beiras R, Bellas J. 2008. Inhibition of embryo development of the *Mytilus galloprovincialis* marine mussel by organic pollutants; assessment of risk for its extensive culture in the Galician Rias. *Aquaculture* 277, 208–212. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.03.002>
- Bellas J, Beiras R, Mariño-Balsa JC, Fernández N. 2005. Toxicity of organic compounds to marine invertebrate embryos and larvae: A comparison between the sea urchin embryogenesis bioassay and alternative test species. *Ecotoxicology* 14, 337-353. <https://doi.org/10.1007/s10646-004-6370-y>
- Berenzen N, Kumke T, Schulz HK, Schulz R. 2005. Macroinvertebrate community structure in agricultural streams: Impact of runoff-related pesticide contamination. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60, 37-46. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.10.010>
- Bernabò I, Gallo L, Sperone E, Tripepi S, Brunelli E. 2011a. Survival, development, and gonadal differentiation in *Rana dalmatina* chronically exposed to chlorpyrifos. *J. Exp. Zool. Part A Ecol. Genet. Physiol.* 315A, 314–327. <https://doi.org/10.1002/jez.678>
- Bernabò I, Sperone E, Tripepi S, Brunelli E. 2011b. Toxicity of Chlorpyrifos to Larval *Rana dalmatina*: Acute and Chronic Effects on Survival, Development, Growth and Gill Apparatus. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 61, 704–718. <https://doi.org/10.1007/s00244-011-9655-1>
- Bernal-Rey DL, Cantera CG, dos Santos Afonso M, Menéndez-Helman RJ. 2020. Seasonal variations in the dose-response relationship of acetylcholinesterase activity in freshwater fish exposed to chlorpyrifos and glyphosate. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 187, 109673. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109673>
- Bernal-Rey DL, Dos Santos Afonso M, Menendez-Helman RJ. 2017. Effects of chlorpyrifos on acetylcholinesterase activity in two freshwater fish species (*Cnesterodon decemmaculatus* and *Gambusia affinis*). *Int. J. Environ. Heal.* 8, 316-330. <https://doi.org/10.1504/IJENVH.2017.088113>
- Bertucci F, Jacob H, Mignucci A, Gache C, Roux N, Besson M, Berthe C, Metian M, Lecchini D. 2018. Decreased retention of olfactory predator recognition in juvenile surgeon fish exposed to pesticide. *Chemosphere* 208, 469-475. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.017>
- Besson M, Gache C, Bertucci F, Brooker RM, Roux N, Jacob H, Berthe C, Sovrano VA, Dixon DL, Lecchini D. 2017. Exposure to agricultural pesticide impairs visual lateralization in a larval coral reef fish. *Sci. Rep.* 7, 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09381-0>
- Bhatnagar A, Yadav AS, Cheema N. 2016. Genotoxic Effects of Chlorpyrifos in Freshwater Fish *Cirrhinus mrigala* Using Micronucleus Assay. *Adv. Biol.* 2016, Article ID 9276963, 6 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9276963>
- Bishop CA, Ashpole SL, Edwards AM, van Aggelen G, Elliott JE. 2010. Hatching success and pesticide exposures in amphibians living in agricultural habitats of the South Okanagan Valley, British Columbia, Canada (2004-2006). *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 1593–1603. <https://doi.org/10.1002/etc.202>
- Bonada N, Rieradevall M, Prat N, Resh VH. 2006. Benthic macroinvertebrate assemblages and macrohabitat connectivity in Mediterranean-climate streams of northern California. *J. North Am. Benthol. Soc.* 25, 32-43. [https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1899/0887-3593\(2006\)25\[32:BMAAMC\]2.0.CO;2](https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1899/0887-3593(2006)25[32:BMAAMC]2.0.CO;2)
- Bonada N, Rieradevall M, Prat N. 2007. Macroinvertebrate community structure and biological traits related to flow permanence in a Mediterranean river network. *Hydrobiologia* 589, 91-106. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-0723-5>
- Bonansea RI, Amé MV, Wunderlin DA. 2013. Determination of priority pesticides in water samples combining SPE and SPME coupled to GC-MS. A case study: Suquia River basin (Argentina). *Chemosphere* 90, 1860-1869. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.10.007>
- Bonansea RI, Marino DJG, Bertrand L, Wunderlin DA, Amé MV. 2016a. Tissue-specific bioconcentration and biotransformation of cypermethrin and chlorpyrifos in a native fish (*Jenynsia multidentata*) exposed to these insecticides singly and in mixtures. *Environ Toxicol Chem.* 36 (7), 1764-1774. <https://doi.org/10.1002/etc.3613>
- Bonansea RI, Wunderlin DA, Amé MV. 2016b. Behavioral swimming effects and acetylcholinesterase activity changes in *Jenynsia multidentata* exposed to chlorpyrifos and cypermethrin individually and in mixtures. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 129, 311-319. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.03.043>
- Bonfanti P, Colombo A, Orsi F, Nizzetto I, Andrioletti M, Bacchetta R, Mantecca P, Fascio U, Vailati G, Vismara C. 2004. Comparative teratogenicity of Chlorpyrifos and Malathion on *Xenopus laevis* development. *Aquat. Toxicol.* 70, 189–200. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.09.007>



- Bonifacio AF, Ballesteros ML, Bonansea RI, Filippi I, Amé MV, Hued AC. 2017. Environmental relevant concentrations of a chlorpyrifos commercial formulation affect two neotropical fish species, *Cheirodon interruptus* and *Cnesterodon decemmaculatus*. *Chemosphere* 188, 486-493. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.156>
- Bonifacio AF, Cazenave J, Bacchetta C, Ballesteros ML, De Los Ángeles Bistoni M, Amé MV, Bertrand L, Hued AC. 2016. Alterations in the general condition, biochemical parameters and locomotor activity in *Cnesterodon decemmaculatus* exposed to commercial formulations of chlorpyrifos, glyphosate and their mixtures. *Ecol. Indic.* 67, 88-97. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.02.011>
- Bonifacio AF, Zambrano MJ, Hued AC. 2020. Integrated ecotoxicological assessment of the complex interactions between chlorpyrifos and glyphosate on a non-target species *Cnesterodon decemmaculatus* (Jenyns, 1842). *Chemosphere*. 261, Article 127782. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127782>
- Boone JS, Chambers UE. 1996. Time course of inhibition of cholinesterase and aliesterase activities, and nonprotein sulfhydryl levels following exposure to organophosphorus insecticides in mosquitofish (*Gambusia affinis*). *Fundam. Appl. Toxicol.* 29, 202-207. <https://doi.org/10.1006/faat.1996.0023>
- Bringolf RB, Cope WG, Barnhart MC, Mosher S, Lazaro PR, Shea D. 2007. Acute and chronic toxicity of pesticide formulations (atrazine, chlorpyrifos, and permethrin) to glochidia and juveniles of *Lampsilis siliquoidea*. *Environ. Toxicol. Chem.* 26(10), 2101-2107. <https://doi.org/10.1897/06-555R.1>
- Brock TC, Arts GH, Maltby L, Van den Brink PJ. 2006. Aquatic risks of pesticides, ecological protection goals, and common aims in European Union Legislation. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 2, 20-46. <https://doi.org/10.1002/ieam.5630020402>
- Brodeur JC, Suarez RP, Natale GS, Ronco AE, Elena Zaccagnini M. 2011. Reduced body condition and enzymatic alterations in frogs inhabiting intensive crop production areas. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74, 1370–1380. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.04.024>
- Buchwalter DB, Jenkins JJ, Curtis LR. 2002. Respiratory strategy is a major determinant of [3H]water and [14C]chlorpyrifos uptake in aquatic insects. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 59, 1315-1322. <https://doi.org/10.1139/f02-107>
- Buckler D, Mayer F, Eilersieck M, Asfaw A. 2003. Evaluation of minimum data requirements for acute toxicity value extrapolation with aquatic organisms : final report. U.S. Environmental Protection Agency, National Health and Environmental Effects Research Laboratory, Gulf Ecology Division
- Buono S, Manzo S, Maria G, Sansone G. 2012. Toxic effects of pentachlorophenol, azinphos-methyl and chlorpyrifos on the development of *Paracentrotus lividus* embryos. *Ecotoxicology* 21, 688-697. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0827-6>
- California Department of Pesticide Regulation. 2000. Report: Summary of Pesticide Use Report Data Indexed by Chemical. Sacramento, CA.
- Calumpang SMF, Medina MJB, Tejada AW, Medina JR. 1997. Toxicity of Chlorpyrifos, Fenubucarb, Monocrotophos, and Methyl Parathion to Fish and Frogs After a Simulated Overflow of Paddy Water. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 58, 909–914. <https://doi.org/10.1007/s001289900420>
- Canadian Council of Ministers of the Environment. 2008. Canadian environmental quality guidelines for the protection of aquatic life: Chlorpyrifos. *Can. Environ. Qual. Guidel.* 1999, Canadian Counc. Minist. Environ. Winnipeg 1-9.
- Caramello CS, Cowper CF, Jorge MJ, Pérez JE, Jorge LC. 2019. Anormalidades morfológicas nucleares en hematías del pez *Prochilodus lineatus* expuesto al clorpirifos. *Rev. Vet.* 30, 64. <https://doi.org/10.30972/vet.3024136>
- Carriquiriborde P. 2010. Toxicidad de Glifosato en Peces Autóctonos: Estudios de Laboratorio y Campo. *Taller Asp. Ambient. del Uso Glifosato.* 53-64.
- CCME. 2008. Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. Chlorpyrifos. Technical Report, Canadian Council of Ministers of the Environment.
- Ceschin DG. 2017. Toxicogenomics: new strategies for ecotoxicology studies in autochthonous species II. The “omic” era in non-model species. Transcriptome analysis for biomarker screening. *Int. J. Environ. Heal.* 8, 213. <https://doi.org/10.1504/IJENVH.2017.086180>
- Ceschin DG, Pires NS, Mardirosian MN, Lascano CI, Venturino A. 2020. The *Rhinella arenarum* transcriptome: de novo assembly, annotation and gene prediction. *Sci. Rep.* 10, 1053. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57961-4>

- Colombo A, Orsi F, Bonfanti P. 2005. Exposure to the organophosphorus pesticide chlorpyrifos inhibits acetylcholinesterase activity and affects muscular integrity in *Xenopus laevis* larvae. *Chemosphere* 61, 1665–1671. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.04.005>
- Cornejo A, Tonin AM, Checa B, Tuñón AR, Pérez D, Coronado E, González S, Ríos T, Macchi P, Correa-Araneda F, Boyero L. 2019. Effects of multiple stressors associated with agriculture on stream macroinvertebrate communities in a tropical catchment. *PLoS One* 14, 1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220528>
- Cothran RD, Brown JM, Relyea RA. 2013. Proximity to agriculture is correlated with pesticide tolerance: evidence for the evolution of amphibian resistance to modern pesticides. *Evol. Appl.* 6, 832–841. <https://doi.org/10.1111/eva.12069>
- Crettaz-Minaglia M, Juárez R, Aguer I, Borro E, Peruzzo R. 2014. Aplicación de índices de calidad de agua en un arroyo pampeano utilizando macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores (Gualeguaychú, Entre Ríos, Argentina). *Biol. Acuática* 30, 93-105.
- Cuppen JGM, Crum SJH, Van Den Heuvel HH, Smidt RA, Van Den Brink PJ. 2002. Effects of a mixture of two insecticides in freshwater microcosms: I. Fate of chlorpyrifos and lindane and responses of macroinvertebrates. *Ecotoxicology* 11, 165-180. <https://doi.org/10.1023/A:1015470731330>
- Cuzziol Boccioni AP, Lajmanovich RC, Peltzer PM, Attademo AM, Martinuzzi CS. 2020. Toxicity assessment at different experimental scenarios with glyphosate, chlorpyrifos and antibiotics in *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) tadpoles. *Chemosphere. Article* 128475. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128475>
- Da Rosa G. 2019. Determinación de la Presencia de Contaminantes en Sedimentos y Peces del Río de La Plata. *Inf. Práctica Prof. Supervisada. UTN La Plata*, 1-10.
- da Silva MB, Fraga RE, Nishiyama PB, Costa NLB, da Silva ISS, Queiroz TS, Rocha MA, Juncá FA. 2020a. Genotoxic effect of the insecticide Chlorpyrifos on the erythrocytes of *Odontophrynus carvalhoi* tadpoles (Amphibia: Odontophrynidae). *Ecotoxicol. Environ. Contam.* 15, 9–13. <https://doi.org/10.5132/eec.2020.01.02>
- da Silva MB, Fraga RE, Nishiyama PB, da Silva ISS, Costa NL., de Oliveira LAA, Rocha MA, Juncá FA. 2020b. Leukocyte Profiles in *Odontophrynus carvalhoi* (Amphibia: Odontophrynidae) Tadpoles Exposed to Organophosphate Chlorpyrifos Pesticides. *Water, Air, Soil Pollut.* 231, 372. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04726-4>
- Datta S, Hansen L, McConnell L, Baker J, LeNoir J, Seiber JN. 1998. Pesticides and PCB Contaminants in Fish and Tadpoles from the Kaweah River Basin, California. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60, 829–836. <https://doi.org/10.1007/s001289900702>
- Davidson C, Stanley K, Simonich SM. 2012. Contaminant residues and declines of the Cascades frog (*Rana cascadae*) in the California Cascades, USA. *Environ. Toxicol. Chem.* 31, 1895–1902. <https://doi.org/10.1002/etc.1902>
- Davidson C. 2004. Declining downwind: amphibian population declines in California and historical pesticide use. *Ecol. Appl.* 14, 1892–1902. <https://doi.org/10.1890/03-5224>
- De Anna JS. 2019. Efectos de la interacción entre compuestos tóxicos en Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Tesis doctoral. CRUB. Univ. Nac. del Comahue. Bariloche, Argentina.
- De Gerónimo E, Aparicio VC, Bárbaro S, Portocarrero R, Jaime S, Costa JL. 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>
- De Silva PMCS, Samayawardhena LA. 2005. Effects of chlorpyrifos on reproductive performances of guppy (*Poecilia reticulata*). *Chemosphere* 58, 1293-1299. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.030>
- del Brio J, Montagna CM, Lares BA, Parolo ME, Venturino A. 2018. Chemical characterization and toxicity of water-accommodated fraction of oil on the South American native species *Hyalella curvispina*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 60. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.04.022>
- Demetrio P. 2012. Estudio de efectos biológicos de plaguicidas utilizados en cultivos de soja RR y evaluación de impactos adversos en ambientes acuáticos de agroecosistemas de la región pampeana. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Exactas.
- Díaz S, Settele J, Brondízio ES, Ngo HT, Agard J, Arneth A, Balvanera P, Brauman KA, Butchart SHM, Chan KMA, Garibaldi LA, Ichii K, Liu J, Subramanian SM, Midgley GF, Miloslavich P, Molnár Z, Obura D, Pfaff A, Polasky S, Purvis A, Razzaque J, Reyers B, Chowdhury RR, Shin Y-J, Visseren-Hamakers I, Willis KJ, Zayas CN. 2019. Pervasive human-driven decline of life on Earth points to the need for transformative change. *Science* (80-.). 366, eaax3100. <https://doi.org/10.1126/science.aax3100>

- Dimitrie DA, Sparling DW. 2014. Joint Toxicity of Chlorpyrifos and Endosulfan to Pacific Treefrog (*Pseudacris regilla*) Tadpoles. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 67, 444–452. <https://doi.org/10.1007/s00244-014-0062-2>
- Dzul-Caamal R, Lilia Domínguez-López M, García-Latorre E, Vega-López A. 2012. Implications of cytochrome 450 isoenzymes, aryl-esterase and oxonase activity in the inhibition of the acetylcholinesterase of *Chiostoma jordani* treated with phosphorothionate pesticides. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 84, 199-206. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.07.008>
- ECOFRAM. 1999. Ecological committee on FIFRA risk assessment methods: report of the aquatic workgroup. Washington, D.C.
- Eder KJ, Köhler HR, Werner I. 2007. Pesticide and pathogen: Heat shock protein expression and acetylcholinesterase inhibition in juvenile Chinook salmon in response to multiple stressors. *Environ. Toxicol. Chem.* 26, 1233-1242. <https://doi.org/10.1897/05-462R2.1>
- Edwin T, Ihsan T, Rahmatika A, Darlis N. 2019. Impact of chlorpyrifos toxicity on gill damage of two species of freshwater fish in Lake Diatas. *Environ. Health Eng. Manag.* 6 (4), 241–246. doi: 10.15171/EHEM.2019.27.
- Egler M, Buss D, Moreira J, Baptista D. 2012. Influence of agricultural land-use and pesticides on benthic macroinvertebrate assemblages in an agricultural river basin in southeast Brazil. *Brazilian J. Biol.* 72, 437-443. <https://doi.org/10.1590/s1519-69842012000300004>
- El-Amrani S, Pena-Abaurrea M, Sanz-Landaluze J, Ramos L, Guinea J, Cámara C. 2012. Bioconcentration of pesticides in Zebrafish eleutheroembryos (*Danio rerio*). *Sci. Total Environ.* 425, 184–190. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.02.065
- El-Merhibi A, Kumar A, Smeaton T. 2004. Role of piperonyl butoxide in the toxicity of chlorpyrifos to *Ceriodaphnia dubia* and *Xenopus laevis*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 57, 202–212. [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(03\)00082-4](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(03)00082-4)
- EPA U. 1994. US Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs. Data Evaluation Record. MRID No. 426649-01. Mysis Chlorpyrifos Chronic.
- EPA U. 2002. Interim Reregistration Eligibility Decision for Chlorpyrifos. EPA 738-R-01-007. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. WASHINGTON D.C. http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/chlorpyrifos_ired.pdf, EPA/IREDD.
- EPA U. 2017. Technical Overview of Ecological Risk Assessment: Risk Characterization [WWW Document]. US Environ. Prot. Agency Off. Pestic. URL <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/technical-overview-ecological-risk-assessment-risk>
- European Commission. 2005. Common implementation strategy for the Water Framework Directive. Environmental quality standards (EQS) substance datasheet. Priority substance no. 9, chlorpyrifos. CAS no. 2921-88-2. Brussels, Belgium. <https://circabc.europa.eu/sd/d/b19baa2f-04e6-4c23-ab>.
- Fellers GM, McConnell LL, Pratt D, Datta S. 2004. Pesticides in mountain yellow-legged frogs (*Rana muscosa*) from the Sierra Nevada mountains of California, USA. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 2170. <https://doi.org/10.1897/03-491>
- Ferrari A, Anguiano L, Lascano C, Sotomayor V, Rosenbaum E, Venturino A. 2008. Changes in the antioxidant metabolism in the embryonic development of the common South American toad *Bufo arenarum*: Differential responses to pesticide in early embryos and autonomous-feeding larvae. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 22, 259–267. <https://doi.org/10.1002/jbt.20236>
- Ferrari A. 2009. Chapter 2: Primary and secondary targets of action-response to AChE pesticide exposure in fish: Trends in underlying molecular mechanisms, en: Kanzantzakis, C.M. (Ed.), *Progress in Pesticides Research*, Kanzantzakis, C.M. (Ed.). pp. 357-369. <https://doi.org/10.1002/mrdd>
- Fulton MH, Key PB. 2001. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environ. Toxicol. Chem.* 20, 37-45. <https://doi.org/10.1002/etc.5620200104>
- Gaizick L, Gupta G, Bass E. 2001. Toxicity of Chlorpyrifos to *Rana pipiens* Embryos. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 66, 386–391. <https://doi.org/10.1007/s001280017>
- Galdean N, Callisto M, Barbosa FA. 2001. Biodiversity assessment of benthic macroinvertebrates in altitudinal lotic ecosystems of Serra do Cipó (MG, Brazil). *Braz. J. Biol.* 61, 239-248. <https://doi.org/10.1590/s0034-71082001000200006>
- Gallo-Delgado SM, Palacio-Baena JA, Gutiérrez-C P. 2006. Efectos del insecticida clorpirifos sobre la tasa de crecimiento y la metamorfosis de *Smilisca phaeota* (Cope, 1862) (Anura: Hylidae). *Actual Biol* 28, 51-58.

- Gebremariam SY, Beutel MW, Yonge DR, Flury M, Harsh JB. 2012. Adsorption and Desorption of Chlorpyrifos to Soils and Sediments. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 215. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1463-6>
- Giddings JM, Williams MW, Solomon KR, Giesy JP. 2014. Risks to Aquatic Organisms from Use of Chlorpyrifos in the United States, en: *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Risks to aquatic organisms from use of chlorpyrifos in the United States.* pp. 119-162. https://doi.org/10.1007/978-3-319-03865-0_5
- Gutierrez MF, Molina FR, Frau D, Mayora G, Battauz Y. 2020. Interactive effects of fish predation and sublethal insecticide concentrations on freshwater zooplankton communities. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 196, 110497. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110497>
- Hasenbein S, Connon RE, Lawler SP, Geist J. 2015. A comparison of the sublethal and lethal toxicity of four pesticides in *Hyalella azteca* and *Chironomus dilutus*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 11327-11339. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4374-1>
- Hasenbein S, Lawler SP, Geist J, Connon RE. 2016. A long-term assessment of pesticide mixture effects on aquatic invertebrate communities. *Environ. Toxicol. Chem.* 35, 218-232. <https://doi.org/10.1002/etc.3187>
- Hoffmann M, Hilton-Taylor C, Angulo A, Böhm M, Brooks TM, Butchart SHM, Carpenter KE, Chanson J, Collen B, Cox NA, Darwall WRT, Dulvy NK, Harrison LR, Katariya V, Pollock CM, Quader S, Richman NI, Rodrigues ASL, Tognelli MF, Vié J-C, Aguiar JM, Allen DJ, Allen GR, Amori G, Ananjeva NB, Andreone F, Andrew P, Ortiz ALA, Baillie JEM, Baldi R, Bell BD, Biju SD, Bird JP, Black-Decima P, Blanc JJ, Bolaños F, Bolivar-G. W, Burfield IJ, Burton JA, Capper DR, Castro F, Catullo G, Cavanagh RD, Channing A, Chao NL, Chenery AM, Chiozza F, Clausnitzer V, Collar NJ, Collett LC, Collette BB, Fernandez CFC, Craig MT, Crosby MJ, Cumberlidge N, Cuttelod A, Derocher AE, Diesmos AC, Donaldson JS, Duckworth JW, Dutson G, Dutta SK, Emslie RH, Farjon A, Fowler S, Freyhof J, Garshelis DL, Gerlach J, Gower DJ, Grant TD, Hammerson GA, Harris RB, Heaney LR, Hedges SB, Hero J-M, Hughes B, Hussain SA, Icochea M. J, Inger RF, Ishii N, Iskandar DT, Jenkins RKB, Kaneko Y, Kottelat M, Kovacs KM, Kuzmin SL, La Marca E, Lamoreux JF, Lau MWN, Lavilla EO, Leus K, Lewison RL, Lichtenstein G, Livingstone SR, Lukoschek V, Mallon DP, McGowan PJK, McIvor A, Moehlman PD, Molur S, Alonso AM, Musick JA, Nowell K, Nussbaum RA, Olech W, Orlov NL, Papenfuss TJ, Parra-Olea G, Perrin WF, Polidoro BA, Pourkazemi M, Racey PA, Ragle JS, Ram M, Rathbun G, Reynolds RP, Rhodin AGJ, Richards SJ, Rodríguez LO, Ron SR, Rondinini C, Rylands AB, Sadovy de Mitcheson Y, Sanciangco JC, Sanders KL, Santos-Barrera G, Schipper J, Self-Sullivan C, Shi Y, Shoemaker A, Short FT, Sillero-Zubiri C, Silvano DL, Smith KG, Smith AT, Snoeks J, Stattersfield AJ, Symes AJ, Taber AB, Talukdar BK, Temple HJ, Timmins R, Tobias JA, Tsytsulina K, Tweddle D, Ubeda C, Valenti S V., Paul van Dijk P, Veiga LM, Veloso A, Wege DC, Wilkinson M, Williamson EA, Xie F, Young BE, Akçakaya HR, Bennun L, Blackburn TM, Boitani L, Dublin HT, da Fonseca GAB, Gascon C, Lacher TE, Mace GM, Mainka SA, McNeely JA, Mittermeier RA, Reid GM, Rodriguez JP, Rosenberg AA, Samways MJ, Smart J, Stein BA, Stuart SN. 2010. The Impact of Conservation on the Status of the World's Vertebrates. *Science* (80-.). 330, 1503–1509. <https://doi.org/10.1126/science.1194442>
- Hooftman R, van de Gutche K, Roghair C. 1993. Development of ecotoxicological test systems to assess contaminated sediments. Joint Report N° 1: Acute and (sub)chronic tests with the model compound chlorpyrifos. <https://rivm.openrepository.com/bitstream/handle/10029/10412/719102022.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Hua J, Jones DK, Relyea RA. 2014. Induced Tolerance from a Sublethal Insecticide Leads to Cross-Tolerance to Other Insecticides. *Environ. Sci. Technol.* 48, 4078–4085. <https://doi.org/10.1021/es500278f>
- Hua J, Morehouse NI, Relyea R. 2013. Pesticide tolerance in amphibians: induced tolerance in susceptible populations, constitutive tolerance in tolerant populations. *Evol. Appl.* 6, 1028–1040. <https://doi.org/10.1111/eva.12083>
- Huang X, Cui H, Duan W. 2020. Ecotoxicity of chlorpyrifos to aquatic organisms: A review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 200. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110731>
- Huespe I, Cabagna-Zenklusen M, Curi LM, Peltzer P, Attademo MA, Villafañe N, Lajmanovich RC. 2017. Melanomacrófagos hepáticos y actividad de la enzima Glutathion S-Transferasa en *Leptodactylus chaquensis* (Anura, Leptodactylidae) como biomarcadores de estrés oxidativo por la exposición a clorpirifos. *Acta Biológica Colomb.* 22, 234–237. <https://doi.org/10.15446/abc.v22n2.60823>
- Humphrey C, Klumpp DW. 2003. Toxicity of Chlorpyrifos to the Early Life History Stages of Eastern Rainbowfish *Melanotaenia splendida splendida* (Peters 1866) in Tropical Australia. *Environ. Toxicol.* 18, 418–427. DOI 10.1002/tox.10144
- Hunt L, Bonetto C, Marrochi N, Scalise A, Fanelli S, Liess M, Lydy MJ, Chiu MC, Resh VH. 2017. Species at Risk (SPEAR) index indicates effects of insecticides on stream invertebrate communities in soy production

- regions of the Argentine Pampas. *Sci. Total Environ.* 580, 699-709. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.016>
- Ibrahim W, Furu P, Ibrahim AM, Christensen NO. 1992. Effect of the organophosphorous insecticide, chlorpyrifos (Dursban), on growth, fecundity and mortality of *Biomphalaria alexandrina* and on the production of *Schistosoma mansoni* cercariae in the snail. *J. Helminthol.* 66, 79-88. <https://doi.org/10.1017/S0022149X00012633>
- Ismail M, Ali R, Shahid M, Khan MA, Zubair M, Ali T, Khan QM. 2017. Genotoxic and hematological effects of chlorpyrifos exposure on freshwater fish *Labeo rohita*. *Drug Chem. Toxicol.* 1-5. DOI: 10.1080/01480545.2017.1280047
- Jarvinen AW, Nordling BR, Henry ME. 1983. Chronic toxicity of Dursban (Chlorpyrifos) to the fathead minnow (*Pimephales promelas*) and the resultant acetylcholinesterase inhibition. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 7, 423-434. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(83\)90008-8](https://doi.org/10.1016/0147-6513(83)90008-8)
- Jayawardena UA, Navaratne AN, Amerasinghe PH, Rajakaruna RS. 2011. Acute and chronic toxicity of four commonly used agricultural pesticides on the Asian common toad, *Bufo melanostictus schneideri*. *J. Natl. Sci. Found. Sri Lanka* 39, 267-276. <https://doi.org/10.4038/jnsfsr.v39i3.3631>
- 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, 817-826. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.04.036>
- Jergentz S, Pessacq P, Mugni H, Bonetto C, Schulz R. 2004. Linking in situ bioassays and population dynamics of macroinvertebrates to assess agricultural contamination in streams of the Argentine pampa. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 59, 133-141. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.007>
- Khalil F, Kang IJ, Undap S, Tasmin R, Qiu X, Shimasaki Y, Oshima Y. 2013. Alterations in social behavior of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) in response to sublethal chlorpyrifos exposure. *Chemos.* 92, 125-130. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.02.042
- Kharkongor M, Hooroo RNK, Dey S. 2018. Effects of the insecticide chlorpyrifos, on hatching, mortality and morphology of *Duttaphrynus melanostictus* embryos. *Chemosphere* 210, 917-921. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.097>
- Khatun N, Rahman T, Mahanta R. 2016. Histopathological Studies of Chlorpyrifos Toxicity in Catfish. *Glob. J. Med. Res. C.* 16, 3, 49-54.
- Lajmanovich RC, Attademo AM, Simoniello MF, Poletta GL, Junges CM, Peltzer PM, Grenón P, Cabagna-Zenkhusen MC. 2015. Harmful Effects of the Dermal Intake of Commercial Formulations Containing Chlorpyrifos, 2,4-D, and Glyphosate on the Common Toad *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae). *Water, Air, Soil Pollut.* 226, 427. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2695-9>
- Lajmanovich RC, Peltzer PM, Attademo AM, Colussi CL, Martinuzzi CS. 2018. Blood biomarkers of common toad *Rhinella arenarum* following chlorpyrifos dermal exposure. *Interdiscip. Toxicol.* 11, 148-154. <https://doi.org/10.2478/intox-2018-0011>
- Leight AK, Van Dolah RF. 1999. Acute toxicity of the insecticides endosulfan, chlorpyrifos, and malathion to the epibenthic estuarine amphipod *Gammarus palustris* (Bousfield). *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 958-964. <https://doi.org/10.1002/etc.5620180521>
- Li L, Zheng B, Liu L. 2010. Biomonitoring and bioindicators used for river ecosystems: Definitions, approaches and trends. *Procedia Environ. Sci.* 2, 1510-1524. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2010.10.164>
- Liendro N, Ferrari A, Mardirosian M, Lascano CI, Venturino A. 2015. Toxicity of the insecticide chlorpyrifos to the South American toad *Rhinella arenarum* at larval developmental stage. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 39, 525-535. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.12.022>
- Liess M, Ohe PC Von Der. 2005. Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. *Environ. Toxicol. Chem.* 24, 954-965. <https://doi.org/10.1897/03-652.1>
- Loeb S, Spacie A. 1994. *Biological Monitoring of Aquatic Systems*. CRC Press.
- López Aca V, Gonzalez PV, Carriquiriborde P. 2018. Lethal and sublethal responses in the fish, *Odontesthes bonariensis*, exposed to chlorpyrifos alone or under mixtures with endosulfán and lambda-cyhalothrin. *Ecotoxicology* 27, 968-979. <https://doi.org/10.1007/s10646-018-1941-5>
- Ma J, Liu Y, Niu D, Li X. 2013. Effects of Chlorpyrifos on the Transcription of CYP3A cDNA, Activity of Acetylcholinesterase, and Oxidative Stress Response of Goldfish (*Carassius auratus*). *Environ. Toxicol.* 30 (4), 422-9. doi: 10.1002/tox.21918
- Mac Loughlin TM, Peluso L, Marino DJG. 2017. Pesticide impact study in the peri-urban horticultural area of Gran La Plata, Argentina. *Sci. Total Environ.* 598, 572-580. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.116>

- Macchi P, Loewy RM, Lares B, Latini L, Monza L, Guiñazú N, Montagna CM. 2018. The impact of pesticides on the macroinvertebrate community in the water channels of the Río Negro and Neuquén Valley, North Patagonia (Argentina). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25, 10668-10678. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1330-x>
- Manjunatha B, Philip GH. 2015. Reproductive toxicity of chlorpyrifos tested in zebrafish (*Danio rerio*): Histological and hormonal end points. *Toxicol. Ind. Health*, 1-9. Doi: 10.1177/0748233715589445
- Mardirosian MN. 2015. Ecotoxicología del arsénico y mecanismos de acción en el desarrollo del anfibio *Rhinella arenarum*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.
- Marigoudar SR, Nagarjuna A, Karthikeyan P, Mohan D, Sharma KV. 2018. Comparative toxicity of chlorpyrifos: Sublethal effects on enzyme activities and histopathology of *Mugil cephalus* and *Chanos chanos*. *Chemosphere*, 211, 89-101. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.137>
- Marino D, Ronco A. 2005. Cypermethrin and chlorpyrifos concentration levels in surface water bodies of the Pampa Ondulada, Argentina. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 75, 820-826. <https://doi.org/10.1007/s00128-005-0824-7>
- Marrochi MN. 2018. Impacto de agroquímicos sobre los ensambles de macroinvertebrados en arroyos rurales. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/67760>
- Maryoung LA, Lavado R, Schlenk D. 2014. Impacts of hypersaline acclimation on the acute toxicity of the organophosphate chlorpyrifos to salmonids. *Aquat. Toxicol.* 152, 284–290. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.04.017>
- Mayer F, Eilersieck M. 1986. Manual of acute toxicity : interpretation and data base for 410 chemicals and 66 species of freshwater animals. U.S. Dept. of the Interior, Fish and Wildlife Service, Washington, D.C.
- McClelland SJ, Bendis RJ, Relyea RA, Woodley SK. 2018. Insecticide-induced changes in amphibian brains: How sublethal concentrations of chlorpyrifos directly affect neurodevelopment. *Environ. Toxicol. Chem.* 37, 2692–2698. <https://doi.org/10.1002/etc.4240>
- Mhadhbi L, Beiras R. 2012. Acute toxicity of seven selected pesticides (alachlor, atrazine, dieldrin, diuron, pirimiphos-methyl, chlorpyrifos, diazinon) to the marine fish (turbot, *Psetta maxima*). *Water. Air. Soil Pollut.* 223, 5917-5930. <https://doi.org/10.1007/s11270-012-1328-9>
- Montagna MC, Collins PA. 2007. Survival and growth of *Palaemonetes argentinus* (Decapoda; Caridea) exposed to insecticides with chlorpyrifos and endosulfan as active element. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 53, 371-378. <https://doi.org/10.1007/s00244-006-0209-x>
- Montagna MC. 2010. Toxicidad de clorpirifos como elemento activo de un formulado comercial en juveniles del cangrejo *Trichodactylus borellianus*. *Nat. Neotrop.* 41, 31-43. <https://doi.org/https://doi.org/10.14409/natura.v1i41.3884>
- Moore MT, Huggett DB, Gillespie WB, Rodgers JH, Cooper CM. 1998. Comparative toxicity of chlordane, chlorpyrifos, and aldicarb to four aquatic testing organisms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34, 152-157. <https://doi.org/10.1007/s002449900299>
- Mugni H, Ronco A, Bonetto C. 2011. Insecticide toxicity to *Hyaella curvispina* in runoff and stream water within a soybean farm (Buenos Aires, Argentina). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74, 350-354. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.07.030>
- Munn M, Gilliom R. 2001. Pesticide toxicity index for freshwater aquatic organisms: U.S. Geological Survey. Water-Resources Investigations Report 01-4077, 55 p. <http://pubs.water.usgs.gov/wri014077>
- Namdeo A, Tembhre M, Sharma R. 2020. Assessment of *Datura stramonium* and Chlorpyrifos-Induced Cytotoxicity in Liver of *Catla catla*. *Asian J. Exp. Sci.* 34, 2, 25-29.
- Nozdrenko DM, Miroshnychenko MS, Soroca VM. 2016. The effect of chlorpyrifos upon ATPase activity of sarcoplasmic reticulum and biomechanics of skeletal muscle contraction. *Ukr. Biochem. J.* 88, 82–88. <https://doi.org/10.15407/ubj88.02.082>
- Olima C, Pablo F, Lim RP. 1997. Comparative tolerance of three populations of the freshwater shrimp (*Paratya australiensis*) to the organophosphate pesticide, chlorpyrifos. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 59, 321-328. <https://doi.org/10.1007/s001289900482>
- Olsvik PA, Larsen AK, Berntssen MHG, Goksøyr A, Karlsen OA, Yadetie F, Sanden M, Kristensen T. 2019. Effects of agricultural pesticides in aquafeeds on wild fish feeding on leftover pellets near fish farms. *Front. Genet.* 10:794. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00794>
- Ortiz-Santaliestra ME, Maia JP, Egea-Serrano A, Brühl CA, Lopes I. 2017. Biological relevance of the magnitude of effects (considering mortality, sub-lethal and reproductive effects) observed in studies with

- amphibians and reptiles in view of population level impacts on amphibians and reptiles. EFSA Support. Publ. 14(7), 1251E. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2017.EN-1251>
- Overmyer JP, Noblet R, Armbrust KL. 2005. Impacts of lawn-care pesticides on aquatic ecosystems in relation to property value. *Environ. Pollut.* 137, 263-272. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.02.006>
- Paracampo A, Solis M, Bonetto C, Mugni H. 2014. Acute toxicity of chlorpyrifos to the non-target organism *Cnesterodon decemmaculatus*. *Int. J. Environ. Health Res.* 25, 96-103. <https://doi.org/10.1080/09603123.2014.903903>
- Patra RW, Chapman JC, Lim RP, Gehrke PC, Sunderam RM. 2015. Interactions between water temperature and contaminant toxicity to freshwater fish. *Environ. Toxicol. Chem.* 34, 1809-1817. <https://doi.org/10.1002/etc.2990>
- Peltzer PM, Lajmanovich RC, Attademo AM, Junges CM, Cabagna-Zenklusen MC, Repetti MR, Sigrist ME, Beldoménico H. 2013. Effect of exposure to contaminated pond sediments on survival, development, and enzyme and blood biomarkers in veined treefrog (*Trachycephalus typhonius*) tadpoles. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 98, 142–151. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.09.010>
- Peltzer PM, Lajmanovich RC, Sánchez-Hernandez JC, Cabagna MC, Attademo AM, Bassó A. 2008. Effects of agricultural pond eutrophication on survival and health status of *Scinax nasicus* tadpoles. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 70, 185–197. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.06.005>
- Pires N, Maiale S, Venturino A, Lascano C. 2020. Differential effects of azinphos-methyl and chlorpyrifos on polyamine oxidative metabolism during the embryonic development of *Rhinella arenarum* and its relation to oxidative stress. *Pestic. Biochem. Physiol.* 163, 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.10.007>
- Portolés T, Ibáñez M, Garlito B, Nácher-Mestre J, Karalazos V, Silva J, Alm M, Serrano R, Pérez-Sánchez J, Hernández F, Berntssen MHG. 2017. Comprehensive strategy for pesticide residue analysis through the production cycle of gilthead sea bream and Atlantic salmon. *Chemosphere* 179, 242-253. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.099>
- Printes LB, Callaghan A. 2004. A comparative study on the relationship between acetylcholinesterase activity and acute toxicity in *Daphnia magna* exposed to anticholinesterase insecticides. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 1241-1247. <https://doi.org/10.1897/03-202>
- Quiroga LB, Sanabria EA, Fornés MW, Bustos DA, Tejedo M. 2019. Sublethal concentrations of chlorpyrifos induce changes in the thermal sensitivity and tolerance of anuran tadpoles in the toad *Rhinella arenarum*? *Chemosphere* 219, 671–677. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.059>
- Raibeemol KP, Chitra KC. 2020. Induction of immunological, hormonal and histological alterations after sublethal exposure of chlorpyrifos in the freshwater fish, *Pseudotroplus maculatus* (Bloch, 1795). *Fish Shellfish Immunol.* 102, 1-12
- Rakotondravelo ML, Anderson TD, Charlton RE, Zhu KY. 2006. Sublethal effects of three pesticides on larval survivorship, growth, and macromolecule production in the aquatic midge, *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 51, 352-359. <https://doi.org/10.1007/s00244-005-0219-0>
- Rao J, Begum G, Pallela R, Usman PK, Nageswara Rao R. 2005. Changes in behavior and brain acetylcholinesterase activity in mosquito fish, *Gambusia affinis* in response to the sub-lethal exposure to chlorpyrifos. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2, 478-483. <https://doi.org/10.3390/ijerph2005030013>
- Rao JV, Kavitha P, Jakka NM, Sridhar V, Usman PK. 2007. Toxicity of Organophosphates on Morphology and Locomotor Behavior in Brine Shrimp, *Artemia salina* 232, 227-232. doi.org/10.1007/s00244-006-0226-9
- Relyea RA. 2009. A cocktail of contaminants: how mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities. *Oecologia* 159, 363–376. <https://doi.org/10.1007/s00442-008-1213-9>
- Richards S, Kendall R. 2003. Physical Effects of Chlorpyrifos on two Stages of *Xenopus Laevis*. *J. Toxicol. Environ. Heal. Part A* 66, 75–91. <https://doi.org/10.1080/15287390306461>
- Richards SM, Kendall RJ. 2002. Biochemical effects of chlorpyrifos on two developmental stages of *Xenopus laevis*. *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 1826–35.
- Roast SD, Widdows J, Jones MB. 2000. Disruption of swimming in the hyperbenthic mysid *Neomysis integer* (Peracarida: Mysidacea) by the organophosphate pesticide chlorpyrifos. *Aquat. Toxicol.* 47, 227-241. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(99\)00016-8](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(99)00016-8)
- Ronco A. 2015. Algunas respuestas sobre los impactos del uso de plaguicidas para el control de plagas en agroecosistemas de la Región Pampeana. *Cienc. Invest.* 65, 63-71.
- Rosenberg D, Resh V. 1993. Introduction to freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates, en: Rosenberg, D., Resh, V. (Eds.), *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. Chapman/Hall, New York, pp. 1-9.

- Rubach MN, Crum SJH, Van Den Brink PJ. 2011. Variability in the dynamics of mortality and immobility responses of freshwater arthropods exposed to chlorpyrifos. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 60, 708-721. <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9582-6>
- Rutkoski CF, Macagnan N, Folador A, Skovronski VJ, do Amaral AMB, Leitemperger J, Costa MD, Hartmann PA, Müller C, Loro VL, Hartmann MT. 2020. Morphological and biochemical traits and mortality in *Physalaemus gracilis* (Anura: Leptodactylidae) tadpoles exposed to the insecticide chlorpyrifos. *Chemosphere* 250, 126162. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126162>
- Salgado Costa C, Ronco AE, Trudeau VL, Marino D, Natale GS. 2018. Tadpoles of the horned frog *Ceratophrys ornata* exhibit high sensitivity to chlorpyrifos for conventional ecotoxicological and novel bioacoustic variables. *Environ. Pollut.* 235, 938–947. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.096>
- San Segundo L, Martini F, Pablos MV. 2013. Gene expression responses for detecting sublethal effects of xenobiotics and whole effluents on a *Xenopus laevis* embryo assay. *Environ. Toxicol. Chem.* 32, 2018–2025. <https://doi.org/10.1002/etc.2267>
- Sandahl JF, Baldwin DH, Jenkins JJ, Scholz NL. 2004. Odor-evoked field potentials as indicators of sublethal neurotoxicity in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) exposed to copper, chlorpyrifos, or esfenvalerate. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 61, 404-413. <https://doi.org/10.1139/f04-011>
- Sansiñena JA, Peluso L, Salgado Costa C, Demetrio PM, Mac Loughlin TM, Marino DJG, Alcalde L, Natale GS. 2018. Evaluation of the toxicity of the sediments from an agroecosystem to two native species, *Hyalella curvispina* (CRUSTACEA: AMPHIPODA) and *Boana pulchella* (AMPHIBIA: ANURA), as potential environmental indicators. *Ecol. Indic.* 93, 100–110. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.04.061>
- Satapornvanit K, Baird DJ, Little DC. 2009. Laboratory toxicity test and post-exposure feeding inhibition using the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Chemosphere* 74, 1209-1215. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.033>
- Schäfer RB, Pettigrove V, Rose G, Allinson G, Wightwick A, Von Der Ohe PC, Shimeta J, Kühne R, Kefford BJ. 2011. Effects of pesticides monitored with three sampling methods in 24 sites on macroinvertebrates and microorganisms. *Environ. Sci. Technol.* 45, 1665-1672. <https://doi.org/10.1021/es103227q>
- Schäfer RB, Von Der Ohe PC, Rasmussen J, Kefford BJ, Beketov MA, Schulz R, Liess M. 2012. Thresholds for the effects of pesticides on invertebrate communities and leaf breakdown in stream ecosystems. *Environ. Sci. Technol.* 46, 5134-5142. <https://doi.org/10.1021/es2039882>
- Schlenk D, Lavado R. 2011. Impacts of climate change on hypersaline conditions of estuaries and xenobiotic toxicity. *Aquat. Toxicol.* 105, 78-82. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.06.023>
- Sharbidre AA, Metkari V, Patode P. 2011. Effect of methyl parathion and chlorpyrifos on certain biomarkers in various tissues of guppy fish, *Poecilia reticulata*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 101, 132-141. [doi:10.1016/j.pestbp.2011.09.002](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.09.002)
- Sherrard RM, Murray-Gulde CL, Rodgers JH, Shan YT. 2002. Comparative toxicity of chlorothalonil and chlorpyrifos: *Ceriodaphnia dubia* and *Pimephales promelas*. *Environ. Toxicol.* 17, 503-512. <https://doi.org/10.1002/tox.10091>
- Sherratt T, Roberts G, Williams P, Whitfield M, Biggs J, Shillabeer N, Maund S. 1999. A life-history approach to predicting the recovery of aquatic invertebrate populations after exposure to xenobiotic chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 2512-2518.
- Solis M, Mugni H, Fanelli S, Bonetto C. 2017. Effect of agrochemicals on macroinvertebrate assemblages in Pampasic streams, Buenos Aires, Argentina. *Environ. Earth Sci.* 76, 180. <https://doi.org/10.1007/s12665-017-6476-1>
- Solis M, Mugni H, Hunt L, Marrochi N, Fanelli S, Bonetto C. 2016. Land use effect on invertebrate assemblages in Pampasic streams (Buenos Aires, Argentina). *Environ. Monit. Assess.* 188, 539. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5545-3>
- Solis M. 2017. Impacto de agroquímicos en arroyos de cuencas rurales. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/58758>
- Sotomayor V, Chiriotto TS, Pechen AM, Venturino A. 2015. Biochemical biomarkers of sublethal effects in *Rhinella arenarum* late gastrula exposed to the organophosphate chlorpyrifos. *Pestic. Biochem. Physiol.* 119, 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.02.006>
- Sotomayor V, Lascano C, de D'Angelo AMP, Venturino A. 2012. Developmental and polyamine metabolism alterations in *Rhinella arenarum* embryos exposed to the organophosphate chlorpyrifos. *Environ. Toxicol. Chem.* 31, 2052–2058. <https://doi.org/10.1002/etc.1921>

- Sparling D, Fellers G. 2009. Toxicity of two insecticides to California, USA, anurans and its relevance to declining amphibian populations. *Environ. Toxicol.* 28(8), 1696-1703. <https://doi.org/10.1897/08-336.1>
- Sparling DW, Fellers G. 2007. Comparative toxicity of chlorpyrifos, diazinon, malathion and their oxon derivatives to larval *Rana boylei*. *Environ. Pollut.* 147, 535-539. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.10.036>
- Sparling DW, Fellers GM, McConnell LL. 2001. Pesticides and amphibian population declines in California, USA. *Environ. Toxicol. Chem.* 20, 1591-1595. <https://doi.org/10.1002/etc.5620200725>
- Stuart SN, Chanson JS, Cox NA, Young BE, Rodrigues ASL, Fischman DL, Waller RW. 2004. Status and Trends of Amphibian Declines and Extinctions Worldwide. *Science* (80-.). 306, 1783-1786. <https://doi.org/10.1126/science.1103538>
- Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación. 2005. Desarrollos de niveles guía nacionales de calidad de agua ambiente correspondientes a clorpirifos. Buenos Aires, Argentina. <https://www.mininterior.gov.ar/obras-publicas/pdf/DOCUMENTO35.pdf>.
- Sumon KA, Yesmin MF, Van den Brink PJ, Bosma RH, Peeters ETHM, Rashid H. 2019. Effects of long-term chlorpyrifos exposure on mortality and reproductive tissues of Banded Gourami (*Trichogaster fasciata*). *J. Environ. Sci. Health, B*, 54:7, 549-559. DOI: 10.1080/03601234.2019.1614399
- Sun F, Chen H. 2008. Monitoring of pesticide chlorpyrifos residue in farmed fish: Investigation of possible sources. *Chemosphere.* 71 (10) 1866-1869. 10.1016/j.chemosphere.2008.01.034
- Swann JM, Schultz TW, Kennedy JR. 1996. The effects of the organophosphorous insecticides DursbanTM and LorsbanTM on the ciliated epithelium of the frog palate In Vitro. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 30, 188-194. <https://doi.org/10.1007/BF00215797>
- Tapia Vilchez FJ. 2017. Interacción de temperatura y Clorpirifos (PYRINEX®) sobre la estabilidad genética de *Poecilia reticulata* "GUPI". Tesis doctoral. Fac. de Ciencias biológicas. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima. Perú.
- Tilton FA, Bammler TK, Gallagher EP. 2011. Swimming impairment and acetylcholinesterase inhibition in zebrafish exposed to copper or chlorpyrifos separately, or as mixtures. *Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol.* 153, 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2010.07.008>
- Tussellino M, Ronca R, Carotenuto R, Pallotta MM, Furia M, Capriglione T. 2016. Chlorpyrifos exposure affects *fgf8*, *sox9*, and *bmp4* expression required for cranial neural crest morphogenesis and chondrogenesis in *Xenopus laevis* embryos. *Environ. Mol. Mutagen.* 57, 630-640. <https://doi.org/10.1002/em.22057>
- USEPA. 2002. Interim Reregistration eligibility decision for chlorpyrifos. United States Environ. Prot. Agency.
- Vaira M, Akmentins M, Attademo M, Baldo D, Barrasso D, Barrionuevo S, Basso N, Blotto B, Cairo S, Cajade R, Céspedes J, Corbalán V, Chilote P, Duré M, Falcione C, Ferraro D, Gutierrez R, Marangoni F, Ingaramo R, Junges C, Lajmanovich R, Lescano J, Martinazzo L, Marti R, Moreno L, Natale GS, Pérez Iglesias JM, Peltzer P, Quiroga L, Rosset S, Sanabria E, Sanchez L, Schaefer E, Úbeda C, Zaracho V. 2012. Categorización del estado de conservación de los anfibios de la República Argentina. *Cuad. Herpetol.* 26, 131-159.
- Vaira M, Akmentins MS, Lavilla EO. 2018. Plan de Acción para la Conservación de los Anfibios de la República Argentina, Cuadernos de Herpetología. [https://doi.org/10.31017/CdH.2018.\(2018-s1\)](https://doi.org/10.31017/CdH.2018.(2018-s1))
- van den Brink PJ, Hartgers EM, Gylstra R, Bransen F, Brock TCM. 2002. Effects of a mixture of 2 insecticides in freshwater microcosms, Responses of plankton and Ecological Risk Assessment. *Ecotoxicology* 11 181-197
- van den Brink PJ, van Wijngaarden R, Lucassen W, Brock T, Leeuwangh P. 1996. Effects of the insecticide Dursban 4E (active ingredient chlorpyrifos) in outdoor experimental ditches: II. Invertebrate community responses and recovery. *Environ. Toxicol. Chem.* 15, 1143-1153.
- van der Hoeven N, Gerritsen AAM. 1997. Effects of Chlorpyrifos on Individuals and Populations of *Daphnia Pulex* in the Laboratory and Field. *Environ. Toxicol. Chem.* 16, 2438. <https://doi.org/10.1002/etc.5620161202>
- van Wijngaarden R, Leeuwangh P, Lucassen W, Romijn K, Ronday R, van der Velde R, Willigenburg W. 1993. Acute toxicity of chlorpyrifos to fish, a newt, and aquatic invertebrates. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51, 716-723.
- van Wijngaarden R. 1993. Comparison of response of the mayfly *Cloeon dipterum* to chlorpyrifos in a single species toxicity test, laboratory microcosms, outdoor ponds and experimental ditches. *Sci. Total Environ.* 134, 1037-1046. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(05\)80109-3](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(05)80109-3)

- van Wijngaarden RPA, Brock TCM, Van Den Brink PJ. 2005. Threshold levels for effects of insecticides in freshwater ecosystems: A review. *Ecotoxicology* 14, 355-380. <https://doi.org/10.1007/s10646-004-6371-x>
- Venturino A. 2017. Toxicogenomics: new strategies for ecotoxicology studies in autochthonous species I. A glade in the entangled path towards the "fingerprint" of environmental impact? *Int. J. Environ. Heal.* 8, 203. <https://doi.org/10.1504/IJENVH.2017.086179>
- Venturino A, Anguiano OL, Gauna L, Cocca C, Bergoc RM, Pechen de D'Angelo AM. 2001. Thiols and polyamines in the potentiation of malathion toxicity in larval stages of the toad *Bufo arenarum*. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* 130, 191-198. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(01\)00241-1](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(01)00241-1)
- Venturino A, Rosenbaum E, Caballero De Castro A, Anguiano OL, Gauna L, Fonovich De Schroeder T, Pechen De D'Angelo AM. 2003. Biomarkers of effect in toads and frogs. *Biomarkers* 8, 167-186. <https://doi.org/10.1080/1354700031000120116>
- Vera-Candioti J, Soloneski S, Larramendy ML. 2013. Chlorpyrifos-Based Insecticides Induced Genotoxic and Cytotoxic Effects in the Ten Spotted Live-Bearer Fish, *Cnesterodon decemmaculatus* (Jenyns, 1842). *Wiley Period. Inc. Env. Toxicol* 1-9. <https://doi.org/10.1002/tox.21869>
- Wang Y, Lv L, Yu Y, Yang G, Xu Z, Wang Q, Cai L. 2017. Single and joint toxic effects of five selected pesticides on the early life stages of zebrafish (*Denio rerio*). *Chemosphere* 170, 61-67. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.025>
- Ward S, Arthington AH, Pusey BJ. 1995. The effects of a chronic application of chlorpyrifos on the macroinvertebrate fauna in an outdoor artificial stream system: Species responses. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 30, 2-23. <https://doi.org/10.1006/eesa.1995.1002>
- Watson FL, Schmidt H, Turman ZK, Hole N, Garcia H, Gregg J, Tilghman J, Fradinger E a. 2014. Organophosphate pesticides induce morphological abnormalities and decrease locomotor activity and heart rate in *Danio rerio* and *Xenopus laevis*. *Environ. Toxicol. Chem.* 33, 1337-1345. <https://doi.org/10.1002/etc.2559>
- Watts M. 2012. Technical Report: Chlorpyrifos as a possible global POP. Pesticide Action Network North America. Oakland, CA. *Pestic. Action Netw. North Am.* 1-34.
- Widder PD, Bidwell JR. 2006. Cholinesterase activity and behavior in chlorpyrifos-exposed *Rana sphenoccephala* tadpoles. *Environ. Toxicol. Chem.* 25, 2446. <https://doi.org/10.1897/05-522R.1>
- Widder PD, Bidwell JR. 2008. Tadpole size, cholinesterase activity, and swim speed in four frog species after exposure to sub-lethal concentrations of chlorpyrifos. *Aquat. Toxicol.* 88, 9-18. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.02.008>
- Wijesinghe MR, Bandara MGDK, Ratnasooriya WD, Lakraj GP. 2011. Chlorpyrifos-Induced Toxicity in *Duttaphrynus melanostictus* (Schneider 1799) Larvae. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 60, 690-696. <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9577-3>
- Woodley SK, Mattes BM, Yates EK, Relyea RA. 2015. Exposure to sublethal concentrations of a pesticide or predator cues induces changes in brain architecture in larval amphibians. *Oecologia* 179, 655-665. <https://doi.org/10.1007/s00442-015-3386-3>
- Xing H, Li S, Wang Z, Gao X, Xu S, Wang X. 2012. Oxidative stress response and histopathological changes due to atrazine and chlorpyrifos exposure in common carp. *Pestic. Biochem. Physiol.* 103, 74-80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.03.007>
- Yin X, Zhu G, Li XB, Liu S. 2009. Genotoxicity evaluation of chlorpyrifos to amphibian Chinese toad (*Amphibian: Anura*) by Comet assay and Micronucleus test. *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* 680, 2-6. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2009.05.018>
- Ytrestøyl T, Aas TS, Åsgård T. 2015. UtiliSation of feed resources in production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Norway. *Aquaculture* 448, 365-374. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.023>
- Zalizniak L, Nugegoda D. 2006. Effect of sublethal concentrations of chlorpyrifos on three successive generations of *Daphnia carinata*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 64, 207-214. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.03.015>

6. IMPACTOS EN LA FAUNA TERRESTRE

Andrés Venturino y Laura Beatriz Parra Morales

6.1 Efectos sobre Vida Salvaje

Considerando las características fisicoquímicas del clorpirifos, como su logKow estimado entre 3,31 o 4,7 hasta 5,27 dependiendo de las fuentes de información (CCME, 2008; Watts, 2012), puede considerarse que el mismo posee un potencial de bioacumulación importante. Por lo tanto, debe tenerse en cuenta que existe una posibilidad real de intoxicación en especies de aves y mamíferos a través de la cadena trófica, como vía de entrada. Los factores de bioconcentración en peces, citados en la bibliografía, van desde valores relativamente bajos de 2,67 hasta otros valores altos de 6000 según el estudio (Watts, 2012). Se ha reportado también una bioacumulación con factores de 2 a 3 dígitos en bivalvos, caracoles y anfípodos, al igual que en plantas acuáticas. Por lo tanto, los predadores ictívoros están potencialmente expuestos a clorpirifos en aquellos ambientes donde la deriva aérea produce contaminación del hábitat acuático. Otra fuente de intoxicación derivada de la bioacumulación es la que están expuestos los animales carroñeros.

Otra vía de exposición de la fauna salvaje a clorpirifos es la que se produce en forma directa a través de las aplicaciones aéreas que tienen lugar en distintas regiones del país, y en menor medida a través del uso de maquinaria agrícola.

De acuerdo a los cocientes de riesgo calculados, se indica que clorpirifos presenta riesgos en pequeños mamíferos y aves, los cuales se incrementan por aplicaciones múltiples o exposiciones prolongadas (US EPA, 2006). Para animales terrestres, La US EPA sugiere Límites de Riesgo para los índices calculados a partir de los niveles ambientales esperados de clorpirifos y los respectivos parámetros de ecotoxicidad (Dosis Letal 50 aguda o Dosis Efectiva 50 crónica, Dosis de Efecto no Observado), que van desde valores de Cocientes de Riesgo mayores a 0,1 para especies en peligro, 0,2 para uso restringido, 0,5 para toxicidad aguda y 1,0 para efectos crónicos (Tabla 6.1). Estudios de hace un par de décadas en USA determinaron que los cocientes de riesgo eran mayores a 1,0 para la mayoría de los mamíferos pequeños y aves (US EPA, 2006).

6.1.1 Aves

El impacto a campo de clorpirifos sobre aves ha sido estudiado en algunos casos en Argentina, refiriendo no solo eventos accidentales sino también por su uso no autorizado para control de especies consideradas como plagas por los agricultores. Ese es el caso del tordo charlatán (*Dolichonyx oryzivorus*), especie migratoria que habita pastizales, bañados y arroceras del Noreste de Argentina; ya desde 1966 se vino registrando una disminución del 3,1% anual de su población. Aunque es una especie considerada en riesgo en el hemisferio norte, en algunas provincias de nuestro país se la considera plaga para los arrozales, por lo que en algunas zonas se la ataca mediante aplicaciones aéreas de clorpirifos, entre otros agroquímicos, causando mortandades junto a más de 20 especies, entre ellas el varillero Congo (*Chrysomus ruficapillus*), el tordo renegrado (*Molothrus bonariensis*) y varias especies de patos (López-Lanús et al., 2007).

Tabla 6.1 Valores Límite sugeridos para los Cocientes de Riesgo en animales terrestres

Tipo de Riesgo	Cociente de Riesgo	Límite (valor máximo)
Riesgo agudo para especie en peligro de extinción	CAE / DL50, DL50 por m ² o ingesta diaria	0,1
Riesgo agudo para uso restringido, o especie sensible a clorpirifos	CAE / DL50, DL50 por m ² o ingesta diaria	0,2
Riesgo agudo	CAE / DL50, DL50 por m ² o ingesta diaria	0,5
Riesgo crónico	CAE / NOEC o DE crónica	1,0

CAE: concentración ambiental esperada; DL50: dosis letal para 50% de la población; NOEC: concentración de efecto no observado; DE crónica: dosis efectiva para efectos crónicos. Modificado de US EPA, 2006.

Es un ejemplo sumamente interesante de la exposición de aves a aplicaciones a campo de clorpirifos, el reporte reciente de niveles de este insecticida en plumas de especies marinas costeras de Argentina, el albatros de ceja negra (*Thalassarche melanophris*) y el petrel damero (*Daption capense*), en niveles promedio de 49,56 y 84,88 ng/g respectivamente, 10 veces o más elevados que cualquiera de los otros contaminantes detectados (Quadri Adrogué et al., 2019).

Un reporte canadiense reúne información sobre la toxicidad oral de clorpirifos en 12 especies de aves, citando un rango que va desde 2 a 671 mg/kg (Grabuski et al., 2004). Sin embargo, refieren pocos o nulos efectos a nivel crónico, sobre todo en trabajos más antiguos de 1993 para atrás.

Estudios de laboratorio y de administración controlada de clorpirifos permiten evaluar los riesgos y daños potenciales en aves. La administración crónica de clorpirifos en el alimento (80 mg/kg) durante 18 semanas a patos reales causó una reducción del peso corporal, número de oviposiciones con menor grosor de la cáscara y menor número de crías exitosas, además de provocar alteraciones neurotóxicas a nivel de la Acetilcolinesterasa cerebral (Gile y Meyers, 1986). En pollas adultas, perdices chukar y codornices del Norte, la administración de 100 mg/kg de clorpirifos en el alimento durante 16 semanas causó una disminución significativa de la fertilidad y la eclosión de los huevos, encontrándose concentraciones de hasta 0,126 mg/kg del insecticida en la yema (Schom et al., 1973). La exposición a concentraciones de clorpirifos equivalentes a aplicaciones a campo de 840 g/ha, de huevos de codorniz (*Coturnix japonica*), causó el aumento significativo del tiempo necesario de incubación para la eclosión, presentando los polluelos deformidades en pies y patas, escoliosis y deformaciones del pico (Martin, 1990). Una revisión del año 1995 refiere efectos agudos del clorpirifos en la dieta que van desde 180 mg/kg diario (5 días) en el pato real hasta 1g/kg en el pato Pekín (Barron y Woodburn, 1995). La administración oral de clorpirifos a codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) como especie modelo, en forma sub-crónica (10 mg/kg alimento durante 4 semanas), causa una disminución de la capacidad metabólica y aeróbica (Narváez et al., 2016). Un estudio posterior encuentra

efectos genotóxicos de clorpirifos en esta misma especie, con un aumento de 4 veces en el número de micronúcleos y del doble de daño en ADN por ensayo cometa, a partir de los 15 días por la administración de 12 mg/kg/d, mientras que a 45 días ya se observa genotoxicidad a tan solo 3 mg/kg/d (Suliman et al., 2020). La administración de dosis subletales de clorpirifos en semillas (10% y 25% de DL50, 2,9 y 7,4 mg/kg peso corporal respectivamente) durante 3 días, afectó fuertemente la actividad migratoria y la capacidad de orientación de chingolos corona blanca (*Zonotrichia leucophrys*), efecto que se mantuvo hasta 14 días después de la intoxicación (Eng et al., 2017).

Otros estudios se basan en modelos de administración oral única, inyección o inmersión de huevos. La administración única de 2 mg de clorpirifos/kg peso causó una notoria toxicidad aguda en polluelos del tordo de alas rojas (*Agelaius phoeniceus*) de casi el 50% en 1 día y llegando al 72% de mortalidad en 1 semana, siendo menor su efecto en polluelos de estornino europeo (*Sturnus vulgaris*) que llegó a un 20% de mortalidad en 2 semanas (Meyers et al., 1992). Los polluelos sobrevivientes de tordo presentaron signos de letargia, pérdida de pedido de alimentación y falta de respuesta a estímulos. En el reporte de Barron y Woodburn de 1995, se citan efectos agudos de la administración oral de clorpirifos que se extienden desde 8,4 mg/kg de peso corporal en el faisán común, hasta 157 mg/kg de peso en la tórtola común, siendo para la mayoría de las especies del orden de la decena de mg/kg. La administración de 3 mg/kg de clorpirifos a palomas mensajeras es capaz de afectar su actividad motora aumentando los tiempos de vuelo en un 25%, que se correlaciona con la ventana temporal de inhibición de la colinesterasa plasmática (Moye y Pritsos, 2010). En la tabla 6.2 se reúnen valores de concentración de clorpirifos que caracterizan efectos tóxicos agudos y crónicos en aves.

6.1.2 Mamíferos

Son escasos los trabajos que describen efectos del clorpirifos sobre mamíferos, tanto a nivel de especies salvajes como también sobre especies domésticas. La vía principal de llegada de clorpirifos sobre las especies salvajes es a través del contacto directo en las aplicaciones (por ejemplo, en roedores y otros taxones que habitan en cuevas subterráneas en campos), como efectos indirectos a través de la dieta. Un estudio sobre la comunidad de pequeños roedores en zonas agrícolas del sur de la Provincia de Córdoba, comparando producción orgánica vs. producción convencional, encontró una mayor abundancia de especies como *Calomys musculus* (ratón maicero), *Calomys laucha* (laucha de campo) y *Akodon azarae* (ratón de Azara) en los bordes con mayor vegetación de los campos orgánicos. Además del manejo intencional sobre los bordes de la producción en los sistemas extensivos tradicionales, estas especies podrían verse afectadas por la aplicación a gran escala de herbicidas e insecticidas entre los que se cita al clorpirifos (Coda et al., 2015). Utilizando el análisis de “fluctuación de asimetrías” (pequeñas desviaciones de una simetría bilateral perfecta) como indicador de estrés ambiental, se encontró que especies roedoras de hábitats especializados

como *A. azarae* poseen el doble de fluctuación en producciones convencionales con alto grado de utilización de agroquímicos, incluido clorpirifos, respecto a producciones extensivas orgánicas (Coda et al., 2016). El uso de pesticidas podría estar provocando alteraciones nutricionales al disminuir la disponibilidad de invertebrados, fundamentalmente en las hembras durante la preñez y lactancia, aunque esto no pudo ser analizado en ese estudio.

Tabla 6.2 Valores de parámetros finales de ecotoxicidad de clorpirifos reportados en aves

A. Toxicidad Aguda, dosis orales únicas

Especie	Parámetro	Valor mg/kg peso corporal	Referencia
Tordo ala roja	DL50	2	(Meyers et al., 1992)
Gallina doméstica	neurotoxicidad	2	(Al-Badrany y Mohammad, 2007)
Paloma mensajera	DL50/10; neurotoxicidad	2,9	(Eng et al., 2017)
Estornino	DL50	5	(Schafer, 1972)
Grajo bronceado	DL50	5,62	(Schafer y Brunton, 1979)
Faisán anillado	DL50	8,41	(Tucker y Haegele, 1971)
Loro doméstico	DL50	10	(Schafer, 1972)
Paloma común	DL50	10	(Schafer et al., 1983)
Codorniz japonesa	DL50	13,3	(Schafer et al., 1983)
Pato real	DL50	14,5	(Hudson et al., 1972)
Grulla canadiense	DL50	25	(Tucker y Crabtree, 1970)
Paloma bravía	DL50	26,9	(Tucker y Haegele, 1971)
Codorniz del norte	DL50	32	(Hill y Camardese, 1984)
Pavo común	DL50	32	(Marshall y Roberts, 1978)
Ganso canadiense	DL50	40	(Hudson et al., 1984)
Chuckar	DL50	60,7	(Tucker y Haegele, 1971)
Codorniz californiana	DL50	68,3	(Hudson et al., 1984)
Tórtola común	DL50	157	(Hill y Camardese, 1984)

B. Efectos crónicos, por alimentación o agua.

Especie	Parámetro - Exposición	Valor mg/kg alimento	Referencia
---------	------------------------	-------------------------	------------

Codorniz japonesa	Genotoxicidad – 45 d	3	(Suliman et al., 2020)
Pato real	NOEC desarrollo – 100 d	8	(Meyers y Gile, 1986)
Gallina doméstica	NOEC desarrollo – 84 d	10	(Kenaga, 1974)
codorniz del norte	NOEC desarrollo – 28 d	50	(Kenaga, 1974)
Chucker	Reproducción – 16 sem	100	(Schom et al., 1973)

Se indican los menores valores de concentración de efecto reportados para cada especie.

Estos trabajos orientan hacia posibles efectos de clorpirifos y otros insecticidas y agroquímicos en general. Sin embargo, estos son claramente insuficientes en nuestro país, tanto en número como en la posibilidad de confirmar sospechas fundadas al respecto. Por ejemplo, un trabajo exploratorio en dos especies de perezosos en Costa Rica, habitantes de explotaciones agrícolas, demostró la presencia de clorpirifos en el pelaje, en el orden de 0,2 mg/kg, lo cual representa tanto un riesgo agudo como crónico (Pinnock Branford et al., 2014).

Existen pruebas de que el clorpirifos se bioacumula e impacta a especies salvajes a través de la cadena trófica, específicamente por insectos que reciben al insecticida por aplicaciones a campo. Un estudio realizado en Indiana, USA, revela la presencia de hasta 0,18 µg/g en murciélagos (*Myotis sodalis* y *Myotis septentrionalis*), en murciélagos hallados muertos (hasta 4,2 µg/Kg) y en el guano de murciélagos de 4 cavernas muestreadas (hasta 1,1 µg/Kg de peso fresco) (Eidels et al., 2007). Aún en los casos en que los efectos no fuesen letales, se indica que dosis bajas son capaces de alterar la ecolocalización, coordinación en el vuelo y tiempo de respuesta, lo que puede llevar a daños severos de los animales, lo que en suma daría en parte cuenta de la reducción de sus poblaciones. Efectivamente, un trabajo posterior en murciélagos morenos (*Eptesicus fuscus*) determinó como dosis umbrales para efectos del clorpirifos: 3,7 y 10,1 µg/g para las colinesterasas cerebral y plasmática respectivamente; 6,2 µg/g para impedimento de vuelo; 12,9 µg/g para inmovilización; 7,8 µg/g para temblores; alteraciones en la regulación de la temperatura corporal a 5 µg/g (Eidels et al., 2016).

Una revisión amplia de la ecotoxicidad de clorpirifos da cuenta de la menor sensibilidad de mamíferos salvajes, con dosis orales agudas que varían en un amplio rango de 60 a 2000 mg/kg (Barron y Woodburn, 1995). En cambio, para los efectos crónicos se contaba principalmente con datos de exposición en laboratorio, con valores de NOEC del orden de 1,5 a 100 mg/kg de alimento, tomando como efecto la alteración de colinesterasa cerebral y plasmática (Barron y Woodburn, 1995).

Los estudios de toxicidad en laboratorio han sido desarrollados principalmente sobre especies modelo: ratón, rata, chanchito de guinea, y conejo. Gran cantidad de avances respecto a los efectos subletales del clorpirifos y de los mecanismos de acción subyacentes han sido desarrollados sobre estas

especies, además de modelos celulares en cultivos. Un informe técnico de Canadá reporta valores de toxicidad aguda para estas especies entre 0,1 y 6,7 g/kg de peso corporal para clorpirifos administrado por vía oral o dermal (Grabuski et al., 2004). El clorpirifos administrado en dosis de 25 mg/kg/día durante 1 semana provoca toxicidad severa en ratones gestantes, siendo además fetotóxico, causando menor desarrollo (Deacon et al., 1980). Esta misma dosis causó efectos similares en ratas gestantes, encontrándose también una inhibición significativa de la colinesterasa cerebral (50%) en los fetos (Frag et al., 2003). La administración subcutánea de 25 mg de clorpirifos/kg/día durante 10 días a chanchitas de guinea gestantes causó la inhibición de las colinesterasas sanguíneas en los neonatos (75 a 90%), impidiendo además el aprendizaje espacial en los machos (Mamczarz et al., 2016).

El clorpirifos provoca alteraciones crónicas en diversos modelos animales mamíferos, aunque los reportes más antiguos (hasta alrededor de 1996) indicaban lo contrario (Grabuski et al., 2004). El clorpirifos es una neurotoxina que afecta el desarrollo neuronal, involucrando blancos no colinérgicos (Crompton et al., 2000; Sotomayor et al., 2015). En ratones, se observó una disminución del peso y del diámetro cefálico de neonatos y alteraciones en el esqueleto, luego de la administración de 25 mg/kg/d de clorpirifos a las madres gestantes (Deacon et al., 1980). La administración subcutánea de 7 a 14 mg de clorpirifos/kg/d durante 2 semanas en ratas de 7 días de vida causó una disminución del desarrollo de órganos reproductores en ambos sexos, disminuyendo los niveles de progesterona y estradiol (Ahmad et al., 1993). En un estudio semejante, se demuestra que la administración oral de 7,5 a 17,5 mg de clorpirifos/kg/día durante un mes en ratas macho albinas causa defectos reproductivos crecientes que incluyen una disminución del tamaño testicular, la disminución de la producción espermática, una caída severa de la fertilidad (85%), acompañados de una disminución del 80% de los niveles séricos de testosterona (Joshi et al., 2007).

Estudios realizados en el laboratorio demuestran también en ratas (cepa Wistar) que el clorpirifos genera alteraciones neurológicas, afectando los reflejos auditivos y somatosensoriales a una dosis de 0,1 mg/kg, 10 veces menor que la dosis umbral que modifica los blancos principales de esterasas provocando también genotoxicidad a dosis de 10 mg/kg (Muller et al., 2014). La exposición de ratones a 5 mg de clorpirifos/kg de peso en forma oral demuestra efectos neurotóxicos en el comportamiento, sin que haya alteraciones en la colinesterasa cerebral, pero sí en proteínas involucradas en el desarrollo de sinapsis y mielinización, como la proteína quinasa dependiente de calcio/calmodulina y la sinaptofisina (Lee et al., 2015). La exposición a dosis muy bajas de clorpirifos, de 0,28 mg/kg en una única administración oral a ratones, demuestra ser altamente genotóxica según lo revelan estudios en sangre por el método de Cometa (Rahman et al., 2002).

Dosis de clorpirifos consideradas ambientales (0,01 mg/kg) causan disrupción endócrina sobre los receptores de estrógenos y progesterona en ratas Sprague-Dawley, provocando hiperplasias en ductos y alveolos de la glándula mamaria (Ventura et al., 2016). En la tabla 6.3 se resumen los valores de

concentración de efecto para clorpirifos sobre mamíferos, seleccionando los más sensibles para cada especie y raza respecto a la toxicidad aguda y crónica.

Tabla 6.3 Valores de parámetros finales de ecotoxicidad de clorpirifos reportados en mamíferos. A. Toxicidad Aguda, dosis orales únicas o por ingesta

Especie	Parámetro	Valor	Referencia
Dosis Oral mg/kg peso			
Ratón	genotoxicidad	0,28	(Rahman et al., 2002)
Toro	CI50 colinesterasa	10	(Picco et al., 2008)
Oveja	CI50 colinesterasa	10	(Larsen et al., 2019)
Rata Sprague Dowley	DL10	15	(Zheng et al., 2000)
Rata Sherman	DL50	82	(Gaines, 1969)
Rata Wistar	DL50	135	(McCollister et al., 1974)
Chanchito de guinea	DL50	500	(Smith, 1987)
Cabra doméstica	DL50	500	(Hudson et al., 1984)
Conejo	DL50	504	(Marshall y Roberts, 1978)
Conejo blanco	DL50	1000	(Smith, 1987)
Ingesta – Exposición mg/kg/día			
Rata	CI50 colinesterasa, peso corporal	25 10 días	(Frag et al., 2003)
Ratón	Peso corporal	25 7 días	(Deacon et al., 1980)
Chanchito de Guinea	CI50 colinesterasa	25 10 días	(Mamczarz et al., 2016)
B. Efectos crónicos.			
Especie	Parámetro	Valor	Referencia
Dosis Oral mg/kg peso			
Rata Sprague Dowley	Disrupción endocrina	0,01	(Ventura et al., 2016)
Rata Wistar	Neurotoxicidad	0,1	(Muller et al., 2014)
Murciélago moreno	Neurotoxicidad	3,7	(Eidels et al., 2016)
Ingesta - Exposición mg/kg/d			
Perro doméstico	IC50 colinesterasa	0,5 6 semanas	(Marable et al., 2007)

Se muestran las menores concentraciones de efecto reportadas para cada especie y raza.

6.1.3 Reptiles

Los estudios sobre efectos de plaguicidas en los reptiles son claramente muy escasos e insuficientes a nivel mundial, tanto en condiciones controladas de laboratorio como a campo (Ortiz-Santaliestra et al., 2017). De estos, solo unos pocos estudian específicamente al clorpirifos o en combinación con otros plaguicidas. Trabajos recientes en nuestro país dan cuenta de efectos genotóxicos del clorpirifos sobre el yacaré overo (*Caiman latirostris*); la exposición de yacarés bebés recién eclosionando de los huevos, durante 2 meses a 0,5 µg/L de clorpirifos inicialmente y disminuyendo gradualmente hasta 0,05 µg/L al finalizar la exposición, en mezclas binarias con glifosato o cipermetrina simulando aplicaciones a campo, causó un aumento notorio de 12 veces en la aparición de micronúcleos (López González et al., 2019). Estudios de exposición de huevos fertilizados de esta especie simulando la aplicación a campo de 1,92 a 3,84 kg de clorpirifos/ha, demuestran genotoxicidad por daño en el ADN y aumento de la frecuencia de micronúcleos en sangre de los yacarés nacidos (Odetti et al., 2020). Estudios similares se reportan en el lagarto overo o tegu blanco (*Salvator merianae*), donde la exposición de juveniles a clorpirifos en las concentraciones antes mencionadas junto con glifosato y cipermetrina causa una alteración del sistema inmune, disminuyendo el número de glóbulos blancos que además presentan un mayor número de lóbulos, un menor título de anticuerpos, y un aumento de los niveles de corticosterona plasmática que revela un alto grado de estrés (Mestre et al., 2019). La exposición tópica de huevos a 10 – 1000 µg de clorpirifos/huevo sin embargo no arroja resultados significativos (Mestre et al., 2020).

Se ha demostrado que huevos de la tortuga mordedora (*Chelydra serpentina*) expuestos en suelo contaminado con clorpirifos en concentraciones equivalentes a las de campo, de 1,92 kg/ha (recomendada) y 19,2 kg/ha (10 veces mayor), absorben rápidamente el insecticida y lo bioacumulan en 8 días hasta valores del orden de 0,13 y de 0,75 mg/kg de peso fresco para cada aplicación respectivamente (De Solla y Martin, 2011). Una exposición de huevos de esta especie a 5 kg de clorpirifos/ha en combinación con otros pesticidas hasta 1 semana antes de su eclosión, causó un 15% en promedio de malformaciones (De Solla et al., 2014). Estudios en el crótalo terciopelo (*Bothrops asper*) muestran efectos subletales neurotóxicos por 90 mg de clorpirifos aplicados en adultos, causando una inhibición del 30% de la actividad de colinesterasa plasmática (Arguedas et al., 2018).

6.1.4 Invertebrados terrestres

Las lombrices de tierra son consideradas uno de los mejores bioindicadores de la calidad o contaminación de los suelos. La actividad de colinesterasas es a su vez uno de los biomarcadores establecidos para los efectos de plaguicidas anticolinesterásicos en lombrices de tierra.

La toxicidad aguda de clorpirifos en la lombriz roja (*Eisenia fetida*) está representada por una DL50-96h de 28,6 mg/kg de suelo fresco (Das Gupta et al., 2011). En otro estudio se determinó la DL50 de contacto a 48h, en 37 ng de clorpirifos/cm² (2,33 mg/kg peso fresco), lo que equivale a 3,7 mg/ha, con una inhibición del 91% de la colinesterasa en los individuos sobrevivientes (Rao et al., 2003). Recientemente se demostró la influencia del tipo de suelo sobre la toxicidad aguda, encontrando también daños por estrés oxidativos en la exposición crónica de *Eisenia fetida* desde valores muy bajos de clorpirifos, de 0,01 mg/kg de suelo (Zhu et al., 2020). La lombriz merodeadora nocturna africana (*Eudrilus eugeniae*) es más resistente, mostrando una DL50-48h de 165 ng de clorpirifos/cm², equivalente a 16,5 mg/ha, alcanzando un 50% de inhibición de la colinesterasa con un 5% de dicha concentración, 8.4 ng/cm² (Tiwari et al., 2019). La lombriz tropical (*Perionyx excavatus*) presenta una DL50 de 122 y 100 mg/kg suelo seco para la exposición crónica de 28 días a clorpirifos puro y formulado respectivamente; la Dosis Efectiva-50 (DE-50) para la reproducción fue mucho menor, de 4 y 3 mg/kg, respectivamente (De Silva et al., 2010). La lombriz roja común *Eisenia andrei*, utilizada como organismo modelo, es menos sensible, presentando una DL50 a 28 días de 148 mg de clorpirifos/kg de suelo seco, y una DE50-reproducción de 38 mg/kg, encontrándose que las lombrices bioconcentran 2,5 veces el tóxico (García-Gómez et al., 2019).

En suelos de granjas en Sudáfrica, se encontraron niveles disminuidos en las densidades poblacionales de lombrices de tierra, principalmente *Aporrectodea caliginosa* que se redujo en un 80%, atribuidos a la aplicación de clorpirifos y su presencia hasta 2,71 µg/kg peso seco de suelo y de hasta 10 µg/kg debidos a escorrentía. Evaluando los efectos del clorpirifos en microcosmos terrestre aplicado hasta 8 µg/kg en tres aplicaciones separadas cada 2 semanas, se observa una caída significativa del 40% de la biomasa, la aparición de inactividad (estivación) en hasta un 60% de las lombrices, una inhibición variable y significativa de la actividad de colinesterasas que llegó hasta el 95% en algunos casos (5% de actividad remanente), y una pérdida notoria de la estabilidad de las membranas celulares también del 95% (Reinecke y Reinecke, 2007). Un trabajo más reciente en esta especie encuentra efectos significativos sobre la reducción del peso corporal en un 30% con 10 mg de clorpirifos/kg de suelo en esta especie, a 3 y 31 días de exposición, alcanzando un 97% de inhibición de la colinesterasa y 90% para carboxilesterasas, sin presentar mortandad (Sanchez-Hernandez et al., 2014). La lombriz de tierra común, *Lumbricus terrestris*, con concentraciones de 12 mg/kg peso seco de suelo, 4 veces el orden de las esperadas ambientalmente para clorpirifos, presenta una inhibición de colinesterasas de alrededor del 50% que se mantiene durante los 35 días de exposición y que rápidamente (2 días) pierde su capacidad de reactivación por oximas (Collange et al., 2010).

Otros artrópodos son potencialmente afectados por la aplicación de clorpirifos. Entre los colémbolos, *Folsomia candida* conocido como “cola de resorte” es afectado crónicamente por la exposición vía dieta a clorpirifos (20 mg/kg durante 120 días, en etapa juvenil), con una caída abrupta de la supervivencia y la reproducción a 45 días de exposición (Jager et al., 2007). Un estudio más reciente en esta especie muestra la

toxicidad de clorpirifos aplicado en suelo, con una DL50 a los 28 días de 0,04 mg/kg de suelo seco (Jegade et al., 2017). El efecto de clorpirifos sobre la reproducción se ve afectado por la temperatura, llegando a una DE50 de 0,018 mg/kg a 26 °C (50% del valor a 20 °C), lo cual es un riesgo ambiental severo considerando que la concentración ambiental esperada es de 0,86 mg de clorpirifos/kg de suelo. Un ácaro depredador de larvas de moscas, *Hypoaspis aculeifer*, también es afectado por clorpirifos en forma diferencial por la temperatura, presentando una DL50 a 14 días de 2,41 mg/kg de suelo seco a 28 °C, la mitad del valor a 20 °C, mientras que la EC50 sobre la reproducción cae 4 veces, a un valor de 1,42 mg/kg (Jegade et al., 2017). Esto demuestra la importancia que puede tener el clima sobre la ecotoxicidad de agroquímicos como el clorpirifos.

6.1.5 Insectos benéficos

Los artrópodos beneficiosos, como los polinizadores de cultivos y los enemigos naturales de las plagas y malezas, desempeñan un papel importante en el éxito económico y ecológico de los agroecosistemas. Los insectos benéficos o depredadores son organismos que matan a sus presas al alimentarse de ellas. En general, las hembras depositan sus huevos cerca de las posibles presas. Al eclosionar los huevos, las larvas o ninfas buscan a sus presas para alimentarse. Los insectos benéficos se alimentan de muchos individuos para poder completar su ciclo de vida y en general tienen mayor tamaño que su presa. De acuerdo a sus hábitos alimenticios, los insectos benéficos pueden clasificarse en polívoros, los cuales se alimentan de especies pertenecientes a varias familias y géneros como la crisopa (Chrysopidae). Los oligófagos son aquellos que se alimentan de presas que pertenecen a una familia de varios géneros y especies como las vaquitas o mariquitas (Coccinellidae). Las moscas (Syrphidae) y monófagos son aquellos que se alimentan de especies que pertenecen a un solo género, como *Rodalia cardinales* (Coccinellidae) que es un depredador específico de la cochinilla acanalada de los cítricos (*Icerya purchasi*). Los insectos benéficos, especialmente los parasitoides, son fuertemente afectados por las aplicaciones de plaguicidas, entre ellos clorpirifos, no debiendo considerarse solamente la mortalidad sino también los efectos subletales (Desneux et al., 2007) y sobre la progenie (Delpuech y Meyet, 2003).

Actualmente, desde el programa ProHuerta del INTA y el Ministerio de Desarrollo Social de la Nación se destaca el rol que cumple el control biológico para un manejo sustentable de las huertas. Este tipo de control utiliza insectos benéficos como enemigos naturales de plagas que afectan a los cultivos. El objetivo del programa es identificar aquellos insectos y aprovecharlos al máximo en favor de los cultivos (<https://intainforma.inta.gob.ar/insectos-beneficos-para-el-control-biologico-de-plagas/>). Recientemente, una avispa autóctona, *Goniozus legneri*, presente en Argentina, Chile y Uruguay, es el primer insecto que multiplica el INTA para incursionar en una nueva tendencia global como es el control de plagas mediante insectos benéficos, convirtiéndose en una herramienta sustentable a nivel económico, ambiental y social. En la Región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, se demostró luego de varios años de investigación que

produciendo a gran escala este insecto nativo, enemigo natural de la carpocapsa (*Cydia pomonella*), e introduciéndolo en el monte, se puede controlar la plaga y al mismo tiempo se reduce el uso de insecticidas en un 80%, entre otros beneficios (Garrido et al., 2018).

Los polinizadores e insectos benéficos en general son importantes tanto para los ecosistemas naturales como para los agrícolas (Cutler et al., 2014). Dentro de los polinizadores más estudiados se encuentran las abejas de la miel, *Apis mellifera* (L.) (26%), abejas silvestres (24%), abejorros (22%), avispas (5%), dípteros (12%), coleópteros (7%), lepidópteros (2%) y tisanópteros (2%) (García García et al., 2016). La polinización es un proceso fundamental para el sostenimiento de la viabilidad y la diversidad genética de las plantas con flor, que además mejora la calidad y cantidad de semillas y frutos (Vergara y Badano, 2009; Chautá-Mellizo et al., 2012). Si bien el viento contribuye en la polinización de numerosas especies, 75% de la producción global de frutas, vegetales y semillas depende de la polinización realizada por animales, especialmente abejas (Klein et al., 2007). Se ha reportado que la acción de los insectos que visitan las flores para maximizar la autopolinización parece aumentar la producción de semillas o frutos (Aizen et al., 2008). En numerosos estudios se ha demostrado que la presencia de una diversidad de polinizadores disponibles aumenta considerablemente el rendimiento de producción de frutos en la mayoría de los cultivos (Rader et al., 2013; Mallinger y Gratton, 2015; Blettler et al., 2018). Las abejas melíferas, *Apis mellifera*, son las mayores polinizadoras de especies vegetales silvestres y cultivadas a nivel mundial. La polinización con *A. mellifera* aumenta en un 14% el rendimiento, y cuando los cultivos son visitados por una variedad de polinizadores se pueden observar aumentos de hasta un 41%.

Las abejas son los insectos que visitan las flores con mayor abundancia y frecuencia en los cultivos de soja (Delaplane y Mayer, 2000), y también lo hacen otros himenópteros (Santos et al., 2013; Monasterolo et al., 2015), dípteros y coleópteros (Santos et al., 2013; Fagúndez et al., 2016). En consecuencia, varios estudios han reportado que la soja es un recurso nectarífero importante para la producción de miel de las abejas (Fagúndez et al., 2016). Los resultados indican que la soja es un recurso importante para la nutrición de las abejas además de la producción de miel. En Argentina se ha reportado la importancia y la eficacia de los polinizadores naturales en un cultivo de kiwi (Sáez et al., 2019), encontrándose que la polinización por las abejas causa una producción de frutos más pesados y homogéneos en comparación con la polinización artificial.

6.1.5.1 Impacto de clorpirifos en las abejas melíferas

Muchos de los agroecosistemas donde se aplica clorpirifos tienen poblaciones de abejas silvestres o provenientes de la apicultura comercial; para algunos de los cultivos, como cítricos, almendras o frutas, su disponibilidad es crítica ya que dependen enteramente de su tarea de polinización. En el caso de algodón,

maíz o soja, donde el viento interviene activamente en la tarea, sus flores sirven para el forrajeo de múltiples especies de polinizadores y también para establecer sus nidos (Rhodes, 2002). La abeja melífera, *Apis mellifera*, es un insecto social y por lo tanto los miembros de una colmena se verán afectados de manera directa o indirecta por la contaminación por los plaguicidas. En una colmena, las abejas recolectoras son las primeras en ser afectadas y dependiendo del grado de toxicidad pueden morir en el campo, en el vuelo de vuelta o en la colmena misma. El plaguicida organofosforado clorpirifos se utiliza ampliamente para controlar plagas agrícolas y además provoca efectos tóxicos en insectos benéficos (Fernandes et al., 2016) y se considera altamente tóxico para las abejas (CASAFE, <https://guiaonline.casafe.org/> acceso 25-09-2020). Además, se considera ubicuo con una persistencia moderada en el medio ambiente y muy volátil, lo cual permite dispersarse por el aire (Davie-Martin et al., 2013). Así, las principales vías de exposición de las abejas melíferas son por su alimentación y contacto con las flores que fueron rociadas durante la aplicación y que permanecen disponibles para las abejas después de la aplicación. Las vías de exposición secundarias al clorpirifos son el polen y el néctar que las abejas recolectoras traen a la colmena y la carga corporal subletal del clorpirifos que llevan las abejas recolectoras. La DL50 para clorpirifos suministrado a través de una solución de sacarosa ha sido reportado en 103,4 ng/abeja para *Apis mellifera* y en 81,8 ng/abeja para *Apis cerana* (Li et al., 2017).

En nuestro país se ha registrado que las abejas melíferas acumulan residuos de plaguicidas, entre ellos el clorpirifos, y pueden transferirlos a la colmena a través del forrajeo (Calatayud-Vernich et al., 2016; Villalba et al., 2020). Recientemente, se ha estudiado la situación actual de la contaminación del clorpirifos en las matrices como pan de abeja, miel, abejas de la miel y en las colmenas cuyas muestras a analizar provienen de cultivos de soja (Villalba et al., 2020). En este estudio, se registró clorpirifos como segundo plaguicida en mayor proporción (8,88 ng/g) así como también se determinó gran cantidad en el pan de abeja (0,52–5,69 ng/g) y similares valores en el polen, lo que sugiere que este insecticida llega a las flores y puede impactar directamente en las colmenas. Esta investigación tuvo en cuenta diferentes sitios y diferentes tiempos de aplicación del insecticida (pre-aplicación y aplicación), por lo cual el impacto de clorpirifos sobre las diferentes matrices estudiadas estuvo estrechamente relacionado con la aplicación del insecticida en los cultivos. Es importante mencionar que el polen es utilizado por las abejas nodrizas para producir gelatina para alimentar a las larvas, la reina, zánganos y trabajadores mayores, y si el polen está contaminado, estos residuos podrían afectar a los miembros de la colonia, ya que se sabe que el polen influye el metabolismo fisiológico, la inmunidad (Alaux et al., 2010), la tolerancia a virus y patógenos (Rinderer et al., 1974; Watkins de Jong et al., 2019) y la reducción de la sensibilidad a los pesticidas (Wahl y Ulm, 1983).

En el último tiempo, principalmente en América del Norte y Europa, se ha observado un incremento en las pérdidas de colonias de *A. mellifera* y de otros polinizadores silvestres. Si bien aún se desconoce la causa de estas pérdidas inesperadas, la mortalidad se atribuye a varios factores, entre ellos el uso de

plaguicidas (Le Conte et al., 2010; vanEngelsdorp y Meixner, 2010). En Argentina, en la temporada 2015-2016 se reportaron pérdidas de colonias de abejas, registrando un 15,5% sobre 28.204 colonias (Requier et al., 2018). Otro estudio reportó pérdidas de colonias del 30% en nuestro país (Maggi et al., 2016). Entre los factores que explican este impacto negativo en las colonias, los plaguicidas son la principal hipótesis. Los plaguicidas, ya sea solos o en combinación con otros factores (patógenos, mala nutrición, etc.), tienen un efecto deletéreo sobre las abejas y otros polinizadores.

En vista del hecho de que casi el 90% de las plantas con flores requieren polinización para sobrevivir, estos polinizadores juegan un papel clave en el mejoramiento de plantas y la producción de alimentos. La susceptibilidad de las abejas melíferas a muchos insecticidas de uso común en la protección de cultivos generó el intento de utilizarlas como bioindicadores para la determinación de residuos de algunos insecticidas en vegetales, así como para detectar peligros de toxicidad para las abejas melíferas (Mcart et al., 2017). La miel también ha demostrado ser un buen indicador ambiental de contaminación por agroquímicos. Se llevó a cabo un estudio en diferentes provincias de nuestro país que incluyeron Santa Fe, Córdoba, La Rioja, Formosa, Entre Ríos, Corrientes, Buenos Aires, Neuquén, y Río Negro, con el objetivo de determinar el estado de contaminación por plaguicidas de *Apis mellifera* en colonias ubicadas en las regiones agroindustriales de Argentina (Medici et al., 2020). El 88% del total de muestras presentó residuos de 16 plaguicidas diferentes, entre ellos clorpirifos. Endosulfán y cipermetrina fueron los plaguicidas más aplicados en las áreas agroindustriales de Argentina, siendo altamente preocupante la presencia de endosulfán en muestras de miel recogidas en el período 2012-2013, ya que en el momento de la cosecha el uso de este insecticida se encontraba prohibido en Argentina (Resolución 511 / 2011 de SENASA). Por otro lado, se reportó el hallazgo de residuos de plaguicidas organofosforados como clorpirifos (12,3 µg/kg) en la provincia de Buenos Aires, lo cual puede tener consecuencias graves e incluso letales en las abejas, ya que los mecanismos de detoxificación mediados por el citocromo P450 estarían disminuidos (Medici et al., 2020). Estos parámetros podrían ser utilizados para identificar las provincias con mayor riesgo de contaminación por plaguicidas en las colmenas lo cual ocasiona un impacto deletéreo y efectos sinérgicos con el acaricida utilizado en la apicultura (Maggi et al., 2016).

Se afirma que muchos de estos plaguicidas neurotóxicos provocan reducciones agudas y subletales en la aptitud de las abejas melíferas, si bien otros autores indican que los efectos de estos tóxicos en combinaciones y su asociación directa con el trastorno del colapso de las colonias y/o la disminución de la salud de las abejas aún no se han determinado (Mullin et al., 2010). Se ha estudiado la toxicidad oral crónica y la toxicidad mixta de plaguicidas comunes como los fungicidas fluvalinato, cumafós, clorotalonil y el insecticida clorpirifos en las colmenas de las abejas melíferas. Los resultados sugieren que la alimentación crónica a los niveles detectados en la colmena de ingredientes activos de plaguicidas, tienen impactos

estadísticamente significativos en la supervivencia de las larvas de abejas melíferas causando un aumento significativo en la mortalidad de las larvas a los 4 días de alimentarlas (Zhu et al., 2014).

En otro estudio, se midieron las concentraciones de 14 insecticidas organofosforados en *Apis mellifera* y matrices de colmena (miel y pan de abeja). Diazinón dimetoato y clorpirifos-oxón fueron los únicos organofosforados detectados en la miel con concentraciones medias de 0,3; 1,5 y 0,2 ng/g de masa húmeda, respectivamente. Fenamifos, clorpirifos y clorpirifos metil fueron los organofosforados detectados en el pan de abeja, con concentraciones medias de 0,4; 2,7 y 15,8 ng/g respectivamente, mientras que el malatió y el diclorvos fueron los únicos insecticidas detectados en abejas con concentraciones medias de 1,4; 3,7 y 889,2 ng/g respectivamente. (Al Naggar et al., 2015).

Un estudio en España determinó la presencia de clorpirifos en cera de panales de abeja en cantidades crecientes con la antigüedad de formación, con un valor medio de 23,3 ng/g y un máximo de 260 ng/g, con una frecuencia de detección del 33,3% en la cubierta, y valores en la fundación de 69,7 ng/g (media), 327,2 ng/g (máximo) y frecuencia del 54,5% de las muestras (Calatayud-Vernich et al., 2017). Otros estudios determinan 1 a 24 ng de clorpirifos/g en abeja, 1 a 100 ng/g de polen, 1 a 60 ng/g de cera (Calatayud-Vernich et al., 2018), y por otra parte 2 a 167 ng/g en pan de abeja (Calatayud-Vernich et al., 2019), que se relacionan con muy altos Cocientes de Riesgo. De manera similar, estudios en China revelan importantes concentraciones de clorpirifos en polen que van desde 16 a 326,8 ng/g con una media de 39,4 ng/g (51,3% de frecuencia de casos positivos), y en pan de abeja, con concentraciones de 10,8 a 1052 ng/g y una media de 41,4 ng/g (35,4% de frecuencia de detección) (Tong et al., 2018). En Italia, la presencia de contaminantes en polen se ha relacionado con la salud de las abejas, encontrando clorpirifos en un 30,3% de las muestras, con una media de 10 ng/g y un valor máximo de 179 ng/g, excediendo límites seguros con un máximo Cociente de Riesgo de 718 (recuérdese que el valor límite para efectos agudos es de 0,5) (Tosi et al., 2018). En la Tabla 6.4 se resumen los niveles de clorpirifos hallados en abejas y en distintos productos de colmena.

6.1.5.2 Efectos adversos subletales de plaguicidas en abejas y otros insectos benéficos

El estudio de los efectos de los plaguicidas en artrópodos se fundamentó históricamente en los efectos agudos producidos por altas dosis. Más recientemente se empezó a prestar atención a los efectos subletales. La mayoría de los estudios sobre los efectos subletales de los insecticidas en los insectos se refieren a modificaciones que afectan negativamente la fisiología o el comportamiento: disminución de la fecundidad o la fertilidad, retardo en el desarrollo, reducción de la longevidad, etc. (Desneux et al., 2007). Por otra parte, diversos factores pueden contribuir a que los insectos estén expuestos a dosis de insecticidas inferiores a las deseadas para el control de plagas (Cutler, 2013). Entre estos factores se cuentan la deriva que incluso una leve brisa puede causar en el momento de la aplicación, la volatilización, y la degradación

biótica y abiótica. Entre los efectos subletales también se reportaron efectos estimulatorios ocasionados por bajas dosis de insecticidas. La hormesis ocurre como consecuencia del comportamiento bifásico de algunas sustancias, ya que en bajas concentraciones producen efectos benéficos, mientras que a altas dosis producen efectos perjudiciales (Cutler, 2013). Este fenómeno ha sido señalado como la causa subyacente del resurgimiento de plagas y la aparición de plagas secundarias (Guedes et al., 2009).

Tabla 6.4 Niveles de clorpirifos en matrices relacionadas a abejas

Matriz	Lugar	Clorpirifos detectado (ng/g)	Referencia
Abeja de la miel	Bs As, Argentina	8,88	(Villalba et al., 2020)
	Nueva Zelanda	0,30-2,38	(Urlacher et al., 2016)
	USA	30-40	(Mullin et al., 2010)
	Polonia	3,5	(Kiljanek et al., 2017)
	Egipto	31	(Al Naggar et al., 2015)
	Francia	1,72-180,20	(Lambert et al., 2013)
	España	1-24	(Calatayud-Vernich et al., 2018)
Pan de abeja	Bs As, Argentina	0,52-5,69	(Villalba et al., 2020)
	China	41,4 (10,8-1052)	(Tong et al., 2018)
	USA	4,27	(Fulton et al., 2019)
	España	2-167	(Calatayud-Vernich et al., 2019)
Miel	Bs As, Argentina	0,76-3,89 12,3	(Villalba et al., 2020) (Medici et al., 2020)
	Italia	9,4	(Panseri et al., 2014)
	Grecia	0,70-0,89	(Balayiannis y Balayiannis, 2008)
	Uruguay	30-80	(Pareja et al., 2011)
Cera	España	23,3 - 327,2	(Calatayud-Vernich et al., 2017)
	España	1-60	(Calatayud-Vernich et al., 2018)
Polen	España	1-100	(Calatayud-Vernich et al., 2018)
	China	16-326,8	(Tong et al., 2018)
	Italia	10 - 179	(Tosi et al., 2018)

Los estudios sobre efectos subletales de plaguicidas en la bioquímica de insectos se han llevado a cabo principalmente en abejas y enemigos naturales (Desneux et al., 2007). Un resumen de los diferentes tipos de estudios en relación a efectos subletales en insectos se muestra en la Figura 6.1.

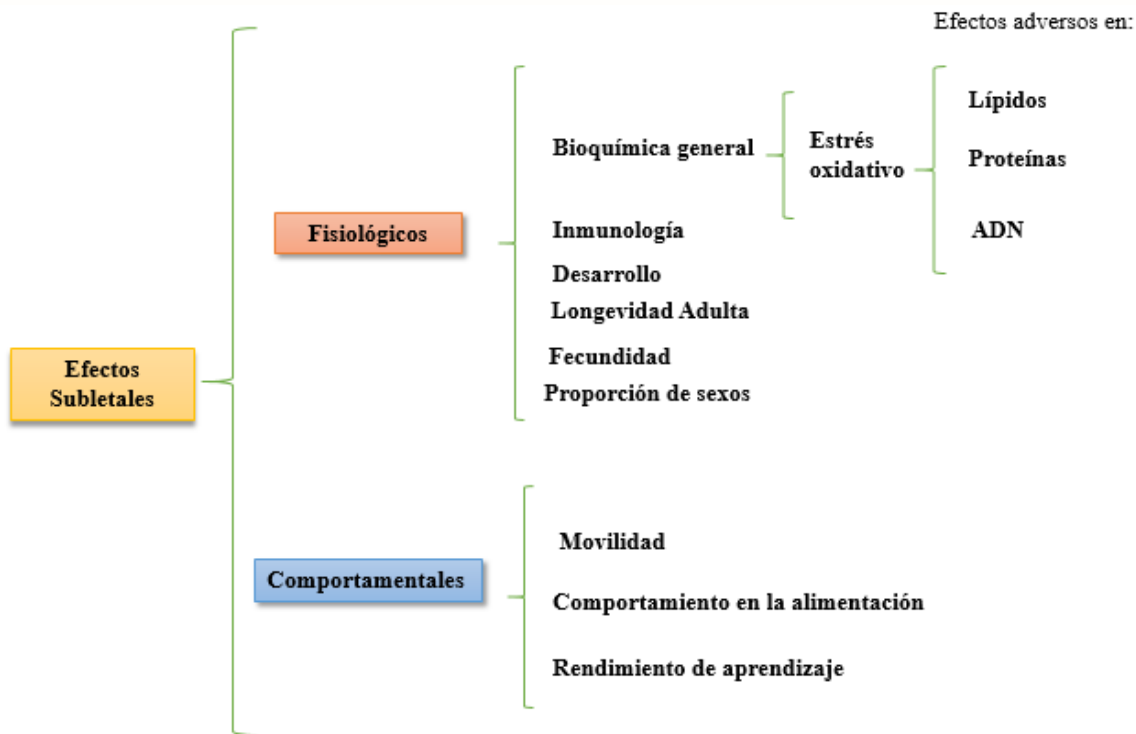


Figura 6.1 Efectos subletales de los plaguicidas en los insectos

Adaptado de Desneux et al. (2007).

Un estudio realizado en tres especies de insectos benéficos, *Cycloneda sanguinea*, *Orius insidiosus* y *Chauliognathus flavipes*, en el cual se investigaron tanto los efectos letales como los subletales, incluyó la alimentación después del contacto con insecticidas, la repelencia y la reproducción mediante bioensayos en el laboratorio (Fernandes et al., 2016). Con respecto al ensayo de toxicidad letal, clorpirifos fue uno de los más tóxicos, presentando LC50 para estas 3 especies de 0,14; 0,20 y 0,36 mg/cm², respectivamente. Con respecto a los efectos subletales, el clorpirifos afectó negativamente el comportamiento alimentario y reproductivo. Generalmente, las dosis de los insecticidas pueden reducir la eficiencia de los depredadores (Roger et al., 1995), alterar las defensas de las presas y reducir la probabilidad de encuentro reduciendo la movilidad de depredadores y presa (Jackson y Ford, 1973). Así, el clorpirifos se considera altamente tóxico también para los enemigos naturales (Bacci et al., 2009; Cordeiro et al., 2010).

Otro estudio realizado sobre el aprendizaje olfativo y la memoria como efectos subletales de clorpirifos (50% de la DL50) en dos especies de abejas, *Apis cerana* y *Apis mellifera*, demostró una disminución significativa en las habilidades de aprendizaje olfativo y la retención de memoria de 2 horas, luego de aplicar 51,7 y 40,9 ng/abeja respectivamente (Li et al., 2017).

Un estudio realizado en Nueva Zelanda en abejas melíferas comparó dosis de clorpirifos por ingesta que causaron efectos subletales en el rendimiento del aprendizaje en condiciones de laboratorio. Así, se observó que el clorpirifos tiene un profundo efecto subletal en la especificidad del apetito mediado por el

olfato y la memoria en las abejas de la miel, a partir de dosis de 5 pg/abeja (Urlacher et al., 2016). Esto podría tener impactos negativos en la búsqueda de alimento y la polinización por las abejas melíferas al afectar la transferencia de aromas de los alimentos durante la trofalaxis y la danza de la abeja, ya que las abejas melíferas dependen de la memoria olfativa para registrar a las flores (Reinhard y Srinivasan, 2009). Del mismo modo, en otro estudio sobre toxicidad crónica del clorpirifos, se observó una disminución en la supervivencia hasta la edad adulta de las larvas alimentadas con dietas que contenían 0,8 mg de clorpirifos/L (Dai et al., 2019). En función de los antecedentes sobre efectos perjudiciales en abejas, Estados Unidos de Norteamérica tomó la decisión de no permitir la aplicación de clorpirifos cuando se observa el forrajeo de abejas en el campo, debiendo describir claramente las etiquetas del producto las restricciones de uso y las instrucciones para minimizar la deriva con el objeto de reducir los efectos deletéreos en colonias de abejas cercanas al punto de aplicación (Solomon et al., 2014).

Un estudio publicado recientemente en un afidófago depredador, *Harmonia axyridis*, un importante controlador del áfido *Aphis glycines* en soja, determina una alta toxicidad de clorpirifos en larvas del tercer estadio con una DL50 de 15,9 ng/larva (Rasheed et al., 2020). En dosis subletales equivalentes a la LC10 (4.62 ng/larva), el clorpirifos reduce significativamente el período de desarrollo y disminuye el potencial de alimentación, la fecundidad de las hembras y la longevidad adulta. En la Tabla 6.5 se resume la información sobre parámetros de toxicidad aguda y efectos subletales de clorpirifos para diferentes insectos benéficos.

Tabla 6.5 Toxicidad aguda y efectos subletales de clorpirifos sobre insectos benéficos

Especie	Efecto	Concentración Efectiva	Referencia
<i>Apis mellifera</i>	DL50	103,4 ng/abeja	(Li et al., 2017)
	Inhibición memoria y aprendizaje olfativo	51,7 ng/abeja	(Li et al., 2017)
	CL50	11,8 mg/l	(Yang et al., 2019)
	Pérdida apetito olfatorio	5 pg/abeja	(Urlacher et al., 2016)
	Sobrevida larval	0,8 mg/l	(Dai et al., 2019)
<i>Apis cerana</i>	DL50	81,8 ng/abeja	(Li et al., 2017)
	Inhibición memoria y aprendizaje olfativo	40,9 ng/abeja	(Li et al., 2017)
	CL50	29,6 mg/l	(Yang et al., 2019)
<i>Cycloneda sanguinea</i>	CL50	0,14 mg/cm ²	(Fernandes et al., 2016)
<i>Orius insidiosus</i>	CL50	0,20 mg/cm ²	(Fernandes et al., 2016)

<i>Chauliognathus flavipes</i> CL50		0,36 mg/cm ²	(Fernandes et al., 2016)
<i>Harmonia axyridis</i>	DL50	15,9 ng/larva	(Rasheed et al., 2020)
	Desarrollo, alimentación	4,92 ng/larva	(Rasheed et al., 2020)
	fecundidad		

En conclusión, la muy alta toxicidad de clorpirifos hacia los insectos benéficos polinizadores, otros artrópodos del suelo e invertebrados benéficos en general, de la cual solo pueden evitarse en forma parcial los efectos en aquellos que poseen posibilidad de evitar las zonas de aplicación, hace que los costos ambientales en estos taxones sean en principio inaceptables. Las recomendaciones de aplicación para evitar efectos en abejas melíferas son insuficientes, ya que no alcanzan a otros insectos o invertebrados. No se posee información suficiente en Argentina para evaluar la capacidad de recuperación a campo de las poblaciones afectadas, que permita reconsiderar los riesgos ecotoxicológicos en invertebrados terrestres.

6.1.6 Evaluaciones de riesgo e impacto sobre ecosistemas terrestres

Ya en 1988 un reporte realizado por la U.S. Wildlife Services recomendaba limitar las aplicaciones de clorpirifos realizadas sobre humedales, pastizales y otros terrenos para controlar mosquitos, porque las dosis recomendadas de 0,028 a 0,056 kg/ha resultaban perjudiciales para la biota, incluyendo efectos subletales en plantas acuáticas, zooplancton, insectos, rotíferas, crustáceos, peces y también en invertebrados terrestres, aunque no se observaron efectos en mamíferos y aves excepto el pato real (Odenkirchen y Eisler, 1988). En el reporte se citan efectos de neurotoxicidad por intoxicación, y se refiere la acumulación en plumas de aves de 0,16 mg/kg una semana después de la exposición en suelos contaminados con 4,5-9,0 kg de clorpirifos/ha. En Barron y Woodburn, (1995) se referencia ausencia de efectos sobre faisanes y patos en lagunas luego de la aplicación aérea de 0,1 kg/ha, mientras que tan sólo 12 g/ha aplicados quincenalmente durante 2 meses provocaron mortalidad sobre el pato real. Los efectos indirectos a través de la dieta de artrópodos pudieron observarse tras aplicaciones de 0,5-1 kg/ha de clorpirifos, que causaron la inhibición de acetilcolinesterasa cerebral en alondras de cuernos (*Eremophila alpestris*) (McEwen et al., 1986). También se encuentran referencias a una reducción de la densidad de aves migratorias en la Savana africana por la reducción de la dieta de saltamontes luego de aplicaciones entre 0,3 a 0,4 kg de clorpirifos/ha, al igual que una reducción en el anidamiento y cría del bufalero de pico rojo (*Bubalornis albirostris*) (Wim C Mullie y Keith, 1993a; Wim C. Mullie y Keith, 1993b). En Canadá también se reportó una disminución en la cantidad de anidamiento en el mirlo americano (*Turdus migratorius*) debido a aplicaciones en campos adyacentes recibiendo hasta 2,3 kg de clorpirifos/ha (Decarie et al., 1993).

En 2001, una evaluación de riesgo ecotoxicológico sobre mamíferos y aves en ecosistemas agrícolas

relacionados al cultivo de maíz estableció que no había evidencia científica que soportara efectos de mortandad extensiva en vida silvestre a causa del uso de clorpirifos (Solomon et al., 2001). Sin embargo, la aplicación de una metodología multicriterio para evaluación de riesgos de la vida salvaje establece que existe una alta vulnerabilidad hacia clorpirifos para las especies que prefieren hábitats de suelos (De Lange et al., 2009). En una evaluación de riesgo en aves publicada en 2014, se establece que la vía principal de exposición a campo de clorpirifos es a través de la alimentación y el agua de bebida (Moore et al., 2014); el estudio se enfoca en aves que se alimentan en campos agrícolas, estableciendo diferentes escenarios de acuerdo al cultivo, aplicación recomendada y fechas. Con valores que alcanzan hasta 6,3 kg de clorpirifos/ha (citrus) y un máximo de 4 aplicaciones por estación (alfalfa), el trabajo modela riesgos bajos (3%), medios (26%) y altos (9%) para distintas aves, y basado en las curvas dosis-respuesta indica que estos riesgos serán bajos en un 21%, medios en un 36% y altos en un 7% de los casos (Moore et al., 2014). Para los riesgos crónicos, estiman que varias especies se encontrarían expuestas a valores mayores a su NOEL en un 20% de probabilidades (Moore et al., 2014). En otra aproximación holística para evaluar riesgos crónicos de clorpirifos sobre aves en Europa, se combinó la información colectada en varios años sobre las poblaciones, la presencia de artrópodos en el tiempo y las características de los hábitats, con información toxicológica en diferentes niveles: laboratorio, a campo, incidentes y modelado (Dittrich y Giessing, 2019). Las tasas de aplicación variaron entre 0,48 a 2,4 kg/ha de 1 a 2 aplicaciones anuales, se determinaron 11-12 especies con valores de predominancia mayor al 2% entre las totales capturadas (20 entre los países participantes), sobre las que se aplicó el modelo de evaluación de riesgo; pese a las observaciones de reducción en el número de individuos coincidentes con las temporadas de aplicación, se observa también una recuperación ya que ninguna especie tuvo una declinación en la abundancia a largo plazo (Dittrich y Giessing, 2019).

Una revisión sobre los eventos de mortalidad en aves en USA entre 1980 y 2000 identifica 335 casos de mortalidad atribuibles a exposición a insecticidas anticolinesterásicos, entre los cuales hay 3 casos de envenenamiento confirmados por clorpirifos con una mortalidad combinada mínima hallada de 43 aves, 2 casos combinados de clorpirifos y diazinon (al menos 22 muertes), y un caso por clorpirifos y fonofos (al menos 65 muertes) (Fleischli et al., 2004). Un trabajo comparativo a campo en Israel da cuenta de intoxicaciones mortales de perdices chuckar en las que se determinó clorpirifos y una inhibición profunda de la acetilcolinesterasa cerebral de un 93% en promedio (Shimshoni et al., 2012).

El riesgo de intoxicación a partir de la alimentación fue evaluado en un estudio donde se realizaron aplicaciones de 1,1 kg de clorpirifos/ha en campos de alfalfa y 2,3 kg/ha en plantaciones de cítricos en USA, evaluando los niveles del tóxico en grillos (*Acheta domestica* L), larvas de escarabajo de tierra (*Tenebrio molitor* L), lombrices de tierra (*Lumbricus terrestris* L), espigas de trigo, e insectos voladores y de tierra naturales de los sitios de aplicación. Los valores medios máximos en cada cultivo entre las 2 horas y los 10 días de las aplicaciones fueron (alfalfa y citrus respectivamente): en grillo 11,41-7,51 mg/kg; en larvas de

tenebriónido 8,48-9,38 mg/kg; en lombriz 1,48-0,28 mg/kg; en semilla 0,30-0,17 mg/kg; en insectos voladores ocasionales 0,13-0,29 mg/kg; en insectos terrestres del lugar 2,35-2,07 mg/kg (Brewer et al., 2003). A partir de estos valores, pueden estimarse riesgos letales y subletales, no solo en aves sino también en pequeños roedores. En un estudio realizado en los Pirineos, se detectaron casi 500 casos de intoxicación entre 2000 y 2013 en carroñeros incluyendo varias especies de buitres, milanos, águilas doradas, buzardos, perros, lobos, osos pardos y zorros, involucrando situaciones accidentales y otras intencionales, detectándose organofosforados y carbamatos en un 36%. En el estudio se evaluaron causas de intoxicación en buitres quebrantahuesos, encontrando que un 76% de muestras de patas de corderos contenían antiparasitarios, de los cuales un 7% correspondió a clorpirifos en el orden de los 10 ng/g (Olea et al. 2012; Mateo et al., 2015).

Por otra parte, un estudio a campo realizado en varios países europeos utilizando radiotelemedría en aves, con 25 aplicaciones de clorpirifos entre 0,5 y 2,4 kg/ha en 13 locaciones, concluyó que las mismas representaban un bajo riesgo en aves en observaciones que duraron hasta 7 días (Wolf et al., 2010).

En estudios realizados sobre paseriformes, incluyendo 18 especies de aves cantoras migratorias en el hemisferio norte, se analizaron los efectos potenciales de organofosforados aplicados en zonas agrícolas, a través de la exposición por vía dermal. De las 18 especies, colectadas en Toronto entre 2007 y 2011, se encontró solamente clorpirifos en los pies de dichas aves, en concentraciones de 0,5 a 52 µg/kg de peso (Alharbi et al., 2016). Las especies afectadas fueron: la curruca de alas azules (*Vermivora cyanoptera*, 1/1 reporte); la parula nortea (*Setophaga americana*, 1/3 reportes); el chipe peregrino (*Leiothlypis peregrina*, 3/8 reportes); el cuelliamarillo común o chipe caranegra (*Geothlypis trichas*, 5/10 casos); el chipe charquero (*Parkesia noveboracensis*, 1/2 reportes); y el chipe azul y negro (*Setophaga caerulescens*, 3/9 reportes), con un total de 18% de las aves positivas para clorpirifos.

Un reporte reciente sobre estudios de campo realizados en Minnesota da cuenta de niveles significativos de clorpirifos durante 2017-2018, no solo en campos aplicados sino también en sitios supuestamente controles, con aplicaciones aéreas en un promedio de 63% de los campos a tasas de 0,53 kg/ha (Goebel y Davros, 2018). Se encontró deriva hasta la máxima distancia analizada de 400 m, con valores de 57 mg/kg en los bordes de aplicación disipándose hasta 0,02 mg/kg, justificando también que en los sitios control pudiera hallarse clorpirifos en dichos niveles de 0,02 mg/kg, proveniente de campos vecinos aplicados. Estos valores dan cuenta de la exposición potencial en forma directa de la biota (aves, mamíferos pequeños, polinizadores, invertebrados en general).

En un trabajo sobre efectos de aplicaciones de clorpirifos sobre las comunidades de anélidos terrestres, se vio que aplicaciones de 4,5 kg/ha (cerca de 2 mg/kg suelo) redujeron hasta un 32% la densidad de lombrices de tierra y un 19% de su biomasa (Potter et al., 1990). Una reducción masiva de artrópodos se

reportó luego de la aplicación de clorpirifos en campos de turf (revisado en (Odenkirchen y Eisler, 1988)). Un estudio a campo en Inglaterra evaluó los efectos de 5 aplicaciones anuales de 0,72 kg de clorpirifos/ha sobre el ecosistema de arañas y colémbolos como parte de la cadena trófica y mejoradora del suelo, encontrando una disminución de la riqueza de especies, diversidad y alteraciones en la distribución (Fountain et al., 2007). La aplicación de clorpirifos produjo un aumento desproporcionado de 500 veces de la especie de colémbolo *Ceratophysella denticulata*, mientras otras especies (*Isotomurus palustris*, *Isotoma anglicana*, *Parisotoma notabilis*, *Isotoma viridis*, *Dicyrtoma ornata* y *Sphaeridia pumilis*) se redujeron entre un 80 a un 100%, desapareciendo totalmente las formas juveniles. Dos especies de arañas, *Tiso vagans* y *Pardosa palustris*, se redujeron notoriamente (50 a 95%). Estos resultados demuestran que el clorpirifos afecta profundamente la estructura comunitaria de invertebrados del suelo. Un resultado semejante, en cuanto a los efectos negativos de clorpirifos, fue reportado sobre la comunidad de colémbolos y macroinvertebrados del suelo; la aplicación de 0,48 kg/ha causó pérdidas de un orden de magnitud en la abundancia de colémbolos y del 20% en la riqueza taxonómica, mientras que entre los macroartrópodos disminuyó la abundancia de algunos coleópteros en más del 60%, también en dípteros, áfidos, homópteros e himenópteros (Frampton y van den Brink, 2007).

Teniendo en cuenta la ausencia casi total de información a nivel de los impactos ecotoxicológicos en organismos terrestres en nuestro país, y la escasa a nivel internacional, realizamos una estimación utilizando Cocientes de Riesgo, ya que no se dispone de información para cargar en modelos probabilísticos como los usados en la EPA entre otros (Moore et al., 2014). Para ello, tomamos como información la toxicidad aguda en los distintos taxones, como la presentada en las tablas 6.2 y 6.3. Para estimar las concentraciones ambientales en las unidades apropiadas de mg/kg, partimos de valores recomendados de aplicación de clorpirifos para los distintos tipos de cultivo según las indicaciones de CASAFE en kg/ha, y que se muestran en la tabla 6.6 (<https://guiaonline.casafe.org/> acceso 25-09-2020). También se tuvo en cuenta información sobre niveles de aplicación provistos por diferentes autores en publicaciones indexadas, que se muestra en la Figura 6.2. El rango de aplicaciones recomendadas por CASAFE varía entre 0,08 y 3,0 kg de clorpirifos/ha, mientras que las aplicaciones reportadas van desde 0,012 a 9,0 kg/ha.

Tabla 6.6 Valores recomendados de aplicación de clorpirifos para cultivos en distintas condiciones en Argentina

Cultivo	Aplicaciones de clorpirifos (kg/ha)
Alfalfa, girasol, cereales invierno, hortícola, sorgo, tabaco	0,96; 1,92
Cebolla	1,5
Maíz, papa	1,425
Maíz	1,92
Ajo, cebolla	0,08
Alfalfa	0,175; 0,2
Algodón	0,15; 0,2; 0,3; 0,75; 1,0
Frutales ⁽¹⁾	1,8; 2,4
Cereales, lino	3,0
Cereales invierno	0,45; 0,8
Cítricos ⁽¹⁾	1,5; 1,8
Girasol	0,425
Hortalizas	0,75; 2,0; 3,0
Maíz, sorgo	0,175; 0,5; 0,8; 2,0
Manzano, peral ⁽¹⁾	1,125; 1,5; 1,8
Olivo ⁽¹⁾	1,5; 1,8
Papa	1,0; 3,0
Soja	0,25; 0,45; 0,6; 0,65; 1
Tabaco	2,0; 3,0
Tomate ⁽²⁾	0,8

según CASAFE (<https://guiaonline.casafe.org/> acceso 25-09-2020).

⁽¹⁾ Calculado para una tasa de aplicación de 3000 litros/ha a alta presión.

⁽²⁾ Calculado para una tasa de aplicación de 1000 litros/ha.

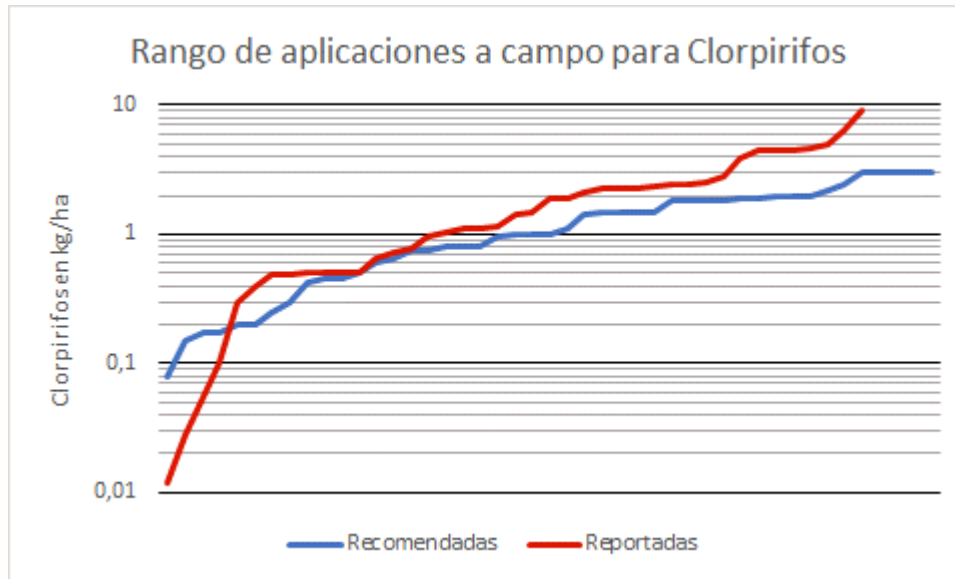


Figura 6.2 Dosis recomendadas y reportadas para clorpirifos a campo

Los valores recomendados corresponden a la información brindada por Casafe (<https://guiaonline.casafe.org/> acceso 25-09-2020), mientras que los valores aplicados son los informados por autores citados a lo largo de este capítulo.

Para la conversión de los valores de aplicación en kg/ha a niveles de exposición en mg de clorpirifos/kg, estimamos los factores para cada cultivo a partir del modelo para organismos terrestres aplicado por la EPA, que se muestran en la tabla 6.7 (US EPA, 2006). A partir de las Concentraciones Ambientales Esperadas tanto en forma aguda y de los indicadores de toxicidad aguda para las especies, calculamos series de Cocientes de Riesgo para cada una de las distintas situaciones, según la fórmula de la Tabla 6.1. Cada serie de Cocientes de Riesgo corresponde a una Concentración Ambiental Esperada y comprende a todas las especies, por lo cual se puede analizar su distribución de sensibilidad a través de su ajuste a modelos probabilísticos de tipo log-Normal o log-Logístico.

En la figura 6.3 se muestran las distribuciones para las aplicaciones de mínima y máxima concentración recomendadas en Argentina, ilustrando los Cocientes de Riesgo Agudo estimados para las respectivas Concentraciones Ambientales Esperadas. El dato más importante de esta figura corresponde a los porcentajes de especies que presentan un valor de Cociente de Riesgo mayor a 0,5 (-0,301 en escala logarítmica), que supera al 65% incluso para el mínimo. Este valor da cuenta del riesgo esperado a campo por las especies terrestres cuando se aplica clorpirifos. Cuando se considera el máximo nivel de clorpirifos recomendado para las aplicaciones, los Cocientes de Riesgo superan el máximo para efectos agudos en el 97% de las especies. Otra información que puede visualizarse en la figura 6.3 es el riesgo para diferentes taxones: los invertebrados e insectos benéficos en particular son los más sensibles entre los organismos terrestres, seguidos por las aves, y finalmente los mamíferos como los menos sensibles.

Tabla 6.7 Concentraciones Ambientales Esperadas para clorpirifos de acuerdo a las aplicaciones a campo

Cultivo	Exposición aguda		Exposición crónica	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Hortalizas	18,32534993	458,1337483	10,67128098	266,7820244
Algodón	25,96245657	173,0830438	9,42365799	62,8243866
Alfalfa	35,48202398	389,2884916	13,32694828	146,2156611
Soja	57,26671853	229,0668741	33,34775305	133,3910122
Girasol	97,35342151	439,8083983	56,69118019	256,1107434
Cereales	103,0800934	687,2006224	60,02595549	400,1730366
Maíz	117,5522339	335,0238666	66,41789195	189,2909921
Tabaco	219,9041992	439,8083983	128,0553717	256,1107434
Frutales	240,770877	513,6445376	254,5104588	542,9556455
Reportados	2,74880249	2061,601867	1,600692146	1200,51911

Valores expresados en mg/kg esperados por 1 kg de clorpirifos aplicado/ha. Se muestran los valores estimados para las tasas de aplicaciones mínimas y máximas recomendadas para cada cultivo o las reportadas. Los valores esperados fueron estimados a partir de los modelos aplicados por US EPA (2006).

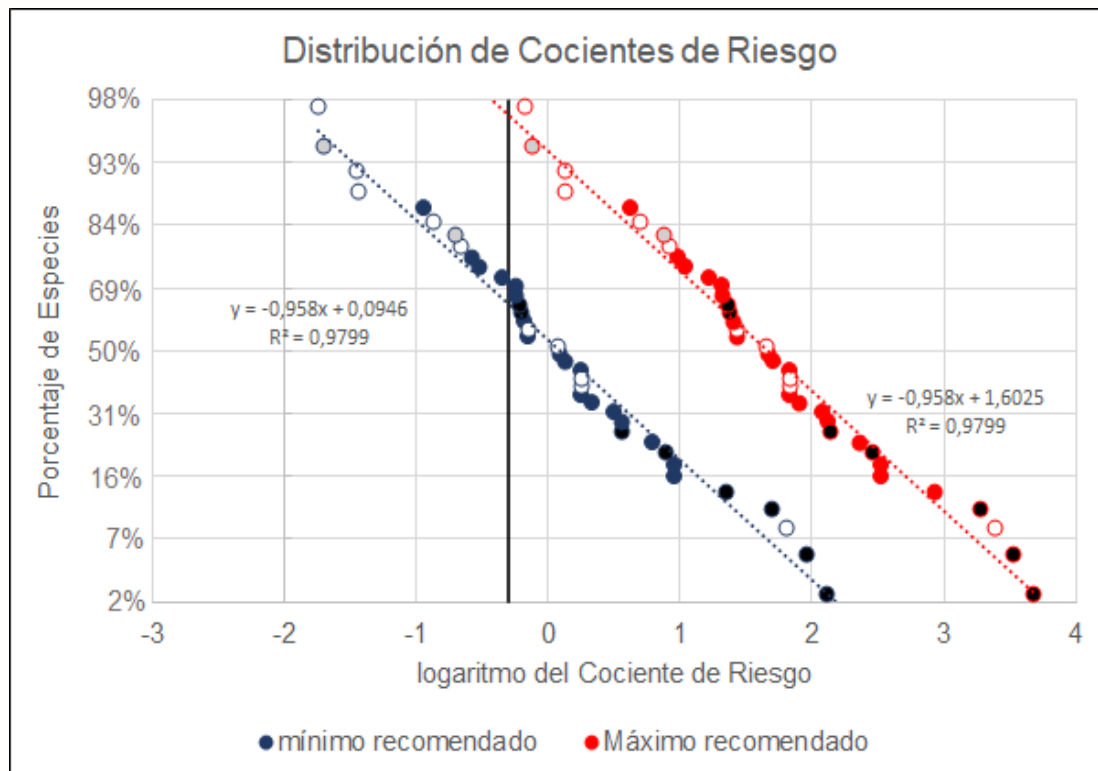


Figura 6.3 Distribuciones de los Cocientes de Riesgo Agudo para clorpirifos según las Concentraciones Ambientales Esperadas

Se muestra la distribución para las 2 situaciones extremas de aplicaciones recomendadas en Argentina. Las líneas

punteadas corresponden al ajuste de un modelo log-Normal. Círculos rellenos: aves; círculos vacíos: mamíferos; círculos grises: reptiles; círculos negros: invertebrados. La recta a $-0,301$ en el eje horizontal corresponde al valor límite de 0,5 para el Cociente de Riesgo Agudo.

Es posible entonces estimar el riesgo esperado a partir de la distribución de los Cocientes de Riesgo Agudo para todas las situaciones, directamente de los modelos ajustados, calculando los porcentajes de especies que exceden el valor límite de 0,5, situación que se muestra en la Figura 6.4. Puede observarse que todos los rangos de aplicaciones recomendadas de clorpirifos para los distintos tipos de cultivos o producciones llevan a porcentajes de especies animales terrestres que presentan peligro agudo por superar el límite establecido para el Cociente de Riesgo Agudo, de 0,5, que están por encima del 60%. El porcentaje se eleva rápidamente y ronda el 90% para Concentraciones Ambientales Esperadas del orden de 100 mg/kg, que son las estimadas para aplicaciones de 0,4 kg de clorpirifos/ha en adelante.

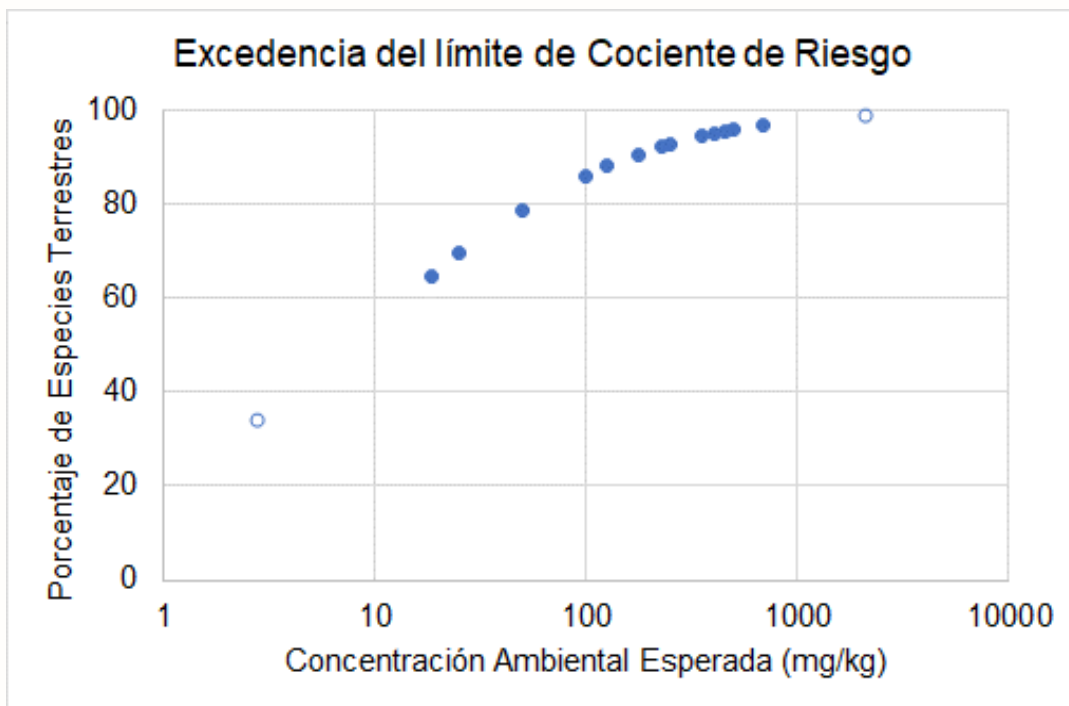


Figura 6.4 Porcentajes de especies animales terrestres que superan el valor límite de 0,5 para el Cociente de Riesgo Agudo

Los valores se calcularon aplicando un modelo log-Normal a la Distribución de Cocientes de Riesgo obtenidos para cada Concentración Ambiental Esperada según la figura 5.3. Los círculos vacíos corresponden a los valores esperados para las tasas de aplicación mínima y máxima reportadas.

6.2 Efectos sobre animales de granja y domésticos

Ya en un reporte de 1988 se citan intoxicaciones accidentales de ganado con clorpirifos, aplicado para control de ectoparásitos, causando muertes, y también una reducción del 43% en la producción de esperma en toros que no presentaron otros signos de intoxicación (Everett, 1982).

Un estudio realizado en Argentina, aplicando en forma tópica 7,5 mg de clorpirifos/kg de peso en

toros, determinó una concentración plasmática del tóxico de 28 µg/L al día siguiente de la aplicación, sin impactar las colinesterasas en plasma (Ferré et al., 2018). Un estudio previo determina que la aplicación tópica recomendada de 10 mg de clorpirifos/kg en toros causa una concentración de clorpirifos en plasma de hasta 10,5 µg/L, que se mantiene hasta las 48 horas, mientras que se obtiene una inhibición del 51% de la acetilcolinesterasa plasmática a los 14 días y del 43% de la butirilcolinesterasa a los 28 días (Picco et al., 2008).

Uno de los problemas asociados a la aplicación de acaricidas en ganado, es la aparición de poblaciones de ácaros resistentes. Un estudio reciente da cuenta de la resistencia múltiple de garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) en vacunos en Brasil, llegando al 72% de los ranchos para la resistencia a clorpirifos, y resistencia cruzada a 4 acaricidas de diferentes familias en el 50% de los casos, atribuible a errores en el manejo de los productos veterinarios con exceso de aplicaciones (Vilela et al., 2020).

Otro problema importante es la bioconcentración de plaguicidas provenientes de la dieta del ganado y de los tratamientos sanitarios en la leche. Como ejemplo, un estudio realizado en Egipto da cuenta de la acumulación de 5 plaguicidas organoclorados y 3 organofosforados en muestras de leche de búfala colectadas de productores y vendedores locales, entre los que el clorpirifos excedió los Límites Máximos de Residuos en el 33% de ellas, con un rango de 1,9 – 3,5 mg/kg y una media de 3,0 mg/kg (Shaker y Elsharkawy, 2015).

El uso de clorpirifos, en conjunto con piretroides para el control de ectoparásitos, fue evaluado en ovejas de raza Merino en un estudio en Argentina en la dosis recomendada de 2,5 mg/kg, no causó efectos, mientras que 4 veces dicho valor, 10 mg/kg, causó una inhibición significativa de la colinesterasa eritrocitaria en alrededor del 50%, por un lapso de un mes, remarcando los riesgos de implementar regímenes de sanidad animal con dosis mayores a las establecidas (Larsen et al., 2019).

La administración oral de clorpirifos a pollos bebé de 7 a 15 días de edad causó signos de neurotoxicidad a 5 mg/kg de peso, con una DL50 de 18,1 mg/kg, mientras que dosis de 2 mg/kg fueron suficientes para provocar alteraciones importantes de la locomoción (Al-Badrany y Mohammad, 2007). Dosis de 3,5 mg de clorpirifos/kg de peso alteran las defensas inmunológicas en gallos jóvenes, reduciendo significativamente los recuentos de neutrófilos y linfocitos, los niveles de fosfatasa alcalina y aminotransferasas, la cantidad de albúmina y proteínas totales plasmáticas a la mitad (Ojezele y Abatan, 2009). En el gallo asiático de la variedad Broiler, la aplicación oral de 10 mg de clorpirifos/kg a pollos recién nacidos durante 14 días causó efectos similares, con la observación de efectos necróticos y degenerativos en varios órganos (Ahmad et al., 2015). Dado el uso de clorpirifos como acaricida en aves, se evaluaron los efectos en el desarrollo embrionario de la variedad Desi de pollos, inoculando entre 0,12 y 1 mg del tóxico por huevo; se observó una DL50 de 0,25 mg/huevo, mientras que 0,12-0,25 mg/huevo redujeron

significativamente todos los parámetros corporales de desarrollo, y 0,12 mg/huevo fueron suficientes para causar alteraciones teratogénicas en los embriones (Chaudhary et al., 2017).

En relación a animales domésticos, se estudió el efecto de clorpirifos a través de la dieta en perros de raza Beagle, encontrando que 1,2 mg/kg/día durante 4 semanas, y 0,5 mg/kg/día durante 6 semanas, causan un 50% de inhibición de la colinesterasa eritrocitaria (Marable et al., 2007).

Desde otro punto de vista, la aplicación de productos veterinarios en perros ha sido una preocupación por la posible transferencia de residuos a niños, particularmente para aquellos que contienen clorpirifos. En un estudio en el que se realizaron aplicaciones recomendadas de clorpirifos para control de pulgas por mojado con una solución de 15 g/L, luego de 4 aplicaciones se observaron inhibiciones del 20% en acetilcolinesterasa y del 80% en butirilcolinesterasa plasmática, mientras que la cantidad del tóxico que se transfirió por contacto (0,01 m² de superficie corporal aproximadamente) varió de 0,97 mg a las 4 horas de aplicado, a 0,16 mg a una semana, reduciéndose a 30 µg recién a los 21 días, lo que da cuenta de los riesgos tanto para las mascotas como para humanos (Boone et al., 2001). El riesgo estimado para niños, en una revisión de este trabajo del año 2001, fue de una exposición equivalente a 0,9 – 1,9 mg de clorpirifos/kg (Josephson, 2001). Un análisis de los productos excretados en orina, luego de la aplicación de un shampoo conteniendo clorpirifos en mascotas, estableció concentraciones equivalentes a 10 µg/kg/día en canes y 1 µg/kg/día en niños a los 7 días (Dyk et al., 2010). En el mismo estudio, aplicando el pulguicida mediante collar (8% de clorpirifos), se encontró una excreción sostenida en niños de hasta 0,6 µg/kg/día aún a 35 días y sin haber tenido contacto con los perros.

Considerando las concentraciones recomendadas en Argentina en tratamientos domésticos de productos para perros, por ejemplo, soluciones de 3,5% (35 g de clorpirifos/L), polvo o aerosoles al 2% (20 g/L), o collares al 10%, la exposición en niños es altamente probable y los riesgos asociados son inaceptables.

6.3 Conclusiones

Las condiciones de aplicación de productos fitosanitarios conteniendo clorpirifos en Argentina para los distintos tipos de cultivos representan un riesgo muy alto para las diversas especies terrestres, que pueden verse impactadas según lo indican los Cocientes de Riesgo, tanto para efectos tóxicos agudos como crónicos.

Los invertebrados involucran los taxones con los mayores riesgos, indicando que el clorpirifos es extremadamente tóxico, siendo el caso particular de los insectos benéficos el de mayor relevancia por las consecuencias indirectas perjudiciales que trae aparejadas sobre el éxito de control de plagas, polinización y riesgos para la salud humana por contaminación de productos alimentarios y medicinales.

Los riesgos del uso de clorpirifos en productos veterinarios para control de parásitos en animales de granja y ganado deben ser considerados cuidadosamente con respecto al seguimiento estricto de las recomendaciones terapéuticas, pudiendo igualmente provocar resistencia de los vectores plaga o situaciones de contaminación de productos derivados para la alimentación humana.

El uso de productos veterinarios conteniendo clorpirifos en la sanidad de mascotas debería ser analizado con extremo cuidado, ya que representa a nuestro criterio un riesgo completamente inaceptable para la salud del grupo familiar y fundamentalmente para los niños, en función de la información disponible que da cuenta de los niveles hallados del tóxico y sus metabolitos en humanos a partir de esta vía de exposición. El uso de estos productos puede ser perfectamente reemplazado por otros con principios activos mucho más “amigables” con el ambiente según se analiza en el Capítulo 7.

6.4 Referencias

- Ahmad M, Maqsood Ahmad M, Sarvat S. 1993. Effects of endosulfan and chlorpyrifos on the reproductive organs and sex hormones of neonatal rats. *Pak. J. Zool.* 25, 11-14.
- Ahmad MZ, Khan A, Javed MT, Hussain I. 2015. Impact of chlorpyrifos on health biomarkers of broiler chicks. *Pestic. Biochem. Physiol.* 122, 50-58. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.12.024>
- Aizen MA, Garibaldi LA, Cunningham SA, Klein AM. 2008. Long-term global trends in crop yield and production reveal no current pollination shortage but increasing pollinator dependency. *Curr. Biol.* 18, 1572-1575. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.08.066>
- Al-Badrany YMA, Mohammad FK. 2007. Effects of acute and repeated oral exposure to the organophosphate insecticide chlorpyrifos on open-field activity in chicks. *Toxicol. Lett.* 174, 110-116. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.09.001>
- Al Naggar Y, Codling G, Vogt A, Naiem E, Mona M, Seif A, Giesy JP. 2015. Organophosphorus insecticides in honey, pollen and bees (*Apis mellifera* L.) and their potential hazard to bee colonies in Egypt. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 114, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.039>
- Alaux C, Ducloz F, Crauser D, Le Conte Y. 2010. Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biol. Lett.* 6, 562-565. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0986>
- Alharbi HA, Letcher RJ, Mineau P, Chen D, Chu S. 2016. Organophosphate pesticide method development and presence of chlorpyrifos in the feet of nearctic-neotropical migratory songbirds from Canada that overwinter in Central America agricultural areas. *Chemosphere* 144, 827-835. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.09.052>
- Arguedas R, Gómez A, Barquero MD, Chacón D, Corrales G, Hernández S, León G. 2018. Effect of exposition to chlorpyrifos upon plasmatic cholinesterases, hematology and blood biochemistry values in *Bothrops asper* (Serpentes: Viperidae). *Chemosphere* 205, 209-214. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.111>
- Bacci L, Picanço MC, da Silva ÉM, Martins JC, Chediak M, Sena ME. 2009. Insecticide physiological selectivity to natural enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Brassicae. *Cienc. e Agrotecnologia* 33, 2045-2051. <https://doi.org/10.1590/s1413-70542009000700058>
- Balayiannis G, Balayiannis P. 2008. Bee honey as an environmental bioindicator of pesticides' occurrence in six agricultural areas of Greece. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 55, 462-470. <https://doi.org/10.1007/s00244-007-9126-x>
- Barron MG, Woodburn KB. 1995. Ecotoxicology of Chlorpyrifos. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 144, 1-93.
- Blettler DC, Fagúndez GA, Caviglia OP. 2018. Contribution of honeybees to soybean yield. *Apidologie* 49, 101-111. <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0532-4>
- Boone JS, Tyler JW, Chambers JE. 2001. Transferable residues from dog fur and plasma cholinesterase inhibition in dogs treated with a flea control dip containing chlorpyrifos. *Environ. Health Perspect.* 109, 1109-1114. <https://doi.org/10.1289/ehp.011091109>
- Brewer LW, McQuillen HL, Mayes MA, Stafford JM, Tank SL. 2003. Chlorpyrifos residue levels in avian food items following applications of a commercial EC formulation to alfalfa and citrus. *Pest Manag. Sci.* 59, 1179-1190. <https://doi.org/10.1002/ps.752>
- Calatayud-Vernich P, Calatayud F, Simó E, Pascual Aguilar JA, Picó Y. 2019. A two-year monitoring of pesticide hazard in-hive: High honeybee mortality rates during insecticide poisoning episodes in apiaries located near agricultural settings. *Chemosphere* 232, 471-480. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.170>
- Calatayud-Vernich P, Calatayud F, Simó E, Picó Y. 2016. Efficiency of QuEChERS approach for determining 52 pesticide residues in honey and honeybees. *MethodsX* 3, 452-458. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2016.05.005>
- Calatayud-Vernich P, Calatayud F, Simó E, Picó Y. 2017. Occurrence of pesticide residues in Spanish beeswax. *Sci. Total Environ.* 605-606, 745-754. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.174>
- Calatayud-Vernich P, Calatayud F, Simó E, Picó Y. 2018. Pesticide residues in honeybees, pollen and beeswax: Assessing beehive exposure. *Environ. Pollut.* 241, 106-114. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.05.062>
- CCME. 2008. Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. Chlorpyrifos. Technical Report, Canadian Council of Ministers of the Environment.
- Chaudhary S, Ansari MS, Abbas MN, Kausar S, Iqbal R, Saleem R, Iqbal J, Sabir S. 2017. The Nucleus Toxic

- Effects of Chlorpyrifos on 12th Day Desi Chick Embryo (*Gallus gallusdomesticus*). Nucl. 54, 136-140.
- Chautá-Mellizo A, Campbell SA, Bonilla MA, Thaler JS, Poveda K. 2012. Effects of natural and artificial pollination on fruit and offspring quality. Basic Appl. Ecol. 13, 524-532. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2012.08.013>
- Coda J, Gomez D, Martínez JJ, Steinmann A, Priotto J. 2016. The use of fluctuating asymmetry as a measure of farming practice effects in rodents: A species-specific response. Ecol. Indic. 70, 269-275. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.06.018>
- Coda J, Gomez D, Steinmann AR, Priotto J. 2015. Small mammals in farmlands of Argentina: Responses to organic and conventional farming. Agric. Ecosyst. Environ. 211, 17-23. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.05.007>
- Collange B, Wheelock CE, Rault M, Mazzia C, Capowiez Y, Sanchez-Hernandez JC. 2010. Inhibition, recovery and oxime-induced reactivation of muscle esterases following chlorpyrifos exposure in the earthworm *Lumbricus terrestris*. Environ. Pollut. 158, 2266-2272. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.02.009>
- Cordeiro EMG, Corrêa AS, Venzon M, Guedes RNC. 2010. Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. Chemosphere 81, 1352-1357. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.08.021>
- Crumpton T., Seidler F., Slotkin T. 2000. Developmental neurotoxicity of chlorpyrifos in vivo and in vitro: effects on nuclear transcription factors involved in cell replication and differentiation. Brain Res. 857, 87-98. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)02357-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)02357-4)
- Cutler GC. 2013. Insects, insecticides and hormesis: evidence and considerations for study. Dose. Response. 11, 154-77. <https://doi.org/10.2203/dose-response.12-008.Cutler>
- Cutler GC, Purdy J, Giesy JP, Solomon KR. 2014. Risk to pollinators from the use of chlorpyrifos in the United States, en: Giesy, J.P., Solomon, K.R. (Eds.), Ecological Risk Assessment for Chlorpyrifos in Terrestrial and Aquatic Systems in the United States. Springer International Publishing, Cham, pp. 219-265. https://doi.org/10.1007/978-3-319-03865-0_7
- Dai P, Jack CJ, Mortensen AN, Bustamante TA, Bloomquist JR, Ellis JD. 2019. Chronic toxicity of clothianidin, imidacloprid, chlorpyrifos, and dimethoate to *Apis mellifera* L. larvae reared in vitro. Pest Manag. Sci. 75, 29-36. <https://doi.org/10.1002/ps.5124>
- Das Gupta R, Chakravorty PP, Kaviraj A. 2011. Susceptibility of epigeic earthworm *Eisenia fetida* to agricultural application of six insecticides. Chemosphere 84, 724-726. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.03.016>
- Davie-Martin CL, Hageman KJ, Chin Y-P. 2013. An Improved Screening Tool for Predicting Volatilization of Pesticides Applied to Soils. Environ. Sci. Technol. 47, 868-876. <https://doi.org/10.1021/es3020277>
- De Lange H, Lahr J, Van Der Pol JC, Wessels Y, Faber J. 2009. Ecological vulnerability in wildlife: and expert judgement and multicriteria analysis tool to assess relative impact of pollutants. Environ. Toxicol. Chem. 28, 2233-2240.
- De Silva PMCS, Pathiratne A, van Gestel CAM. 2010. Toxicity of chlorpyrifos, carbofuran, mancozeb and their formulations to the tropical earthworm *Perionyx excavatus*. Appl. Soil Ecol. 44, 56-60. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.09.005>
- De Solla SR, Martin PA. 2011. Absorption of current use pesticides by snapping turtle (*Chelydra serpentina*) eggs in treated soil. Chemosphere 85, 820-825. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.06.080>
- De Solla SR, Palonen KE, Martin PA. 2014. Toxicity of pesticides associated with potato production, including soil fumigants, to snapping turtle eggs (*Chelydra Serpentina*). Env1 ironmental Toxicol. Chem. 33, 102-106. <https://doi.org/10.1002/etc.2393>
- Deacon MM, Murray JS, Pilny MK, Rao KS, Dittenber DA, Hanley TR, John JA. 1980. Embryotoxicity and fetotoxicity of orally administered chlorpyrifos in mice. Toxicol. Appl. Pharmacol. 54, 31-40. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(80\)90005-8](https://doi.org/10.1016/0041-008X(80)90005-8)
- Decarie R, DesOranges J-L, Lepine C, Morneau F. 1993. Impact of insecticides on the American robin (*Turdus migratorius*) in a suburban environment. Env. Pollut 80, 231-238.
- Delaplane KS, Mayer DF. 2000. Crop pollination by bees. CAB eBooks. <https://doi.org/10.1079/9780851994482.0000>
- Delpuech JM, Meyet J. 2003. Reduction in the sex ratio of the progeny of a parasitoid wasp (*Trichogramma brassicae*) surviving the insecticide chlorpyrifos. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 45, 203-208. <https://doi.org/10.1007/s00244-002-0146-2>
- Desneux N, Decourtye A, Delpuech J-M. 2007. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods.

- Annu. Rev. Entomol. 52, 81-106. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440>
- Dittrich R, Giessing B. 2019. Multiyear monitoring of bird communities in chlorpyrifos-treated orchards in Spain and the United Kingdom: Spatial and Temporal Trends in Species Composition , Abundance , and Site Fidelity 38, 616-629. <https://doi.org/10.1002/etc.4317>
- Dyk MB, Chen Z, Mosadeghi S, Vega H, Krieger R. 2010. Pilot biomonitoring of adults and children following use of chlorpyrifos shampoo and flea collars on dogs. J. Environ. Sci. Health. B. 46, 97-104. <https://doi.org/10.1080/03601234.2011.534966>
- Eidels R, Whitaker Jr. J, Sparks D. 2007. Insecticide residues in bats and guano from Indiana. Proc. Indiana Acad. Sci. 116, 50-57.
- Eidels RR, Sparks DW, Whitaker JO, Sprague CA. 2016. Sub-lethal effects of chlorpyrifos on big brown bats (*Eptesicus fuscus*). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 71, 322-335. <https://doi.org/10.1007/s00244-016-0307-3>
- Eng ML, Stutchbury BJM, Morrissey CA. 2017. Imidacloprid and chlorpyrifos insecticides impair migratory ability in a seed-eating songbird. Sci. Rep. 7, 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15446-x>
- Everett RW. 1982. Effect of Dursban 44 on Semen Output of Holstein Bulls. J. Dairy Sci. 65, 1781-1794. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(82\)82417-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(82)82417-X)
- Fagúndez GA, Blettler DC, Krumrick CG, Bertos MA, Trujillo CG. 2016. Do agrochemicals used during soybean flowering affect the visits of *apis mellifera* L.? Spanish J. Agric. Res. 14. <https://doi.org/10.5424/sjar/2016141-7492>
- Farag AT, El Okazy AM, El-Aswed AF. 2003. Developmental toxicity study of chlorpyrifos in rats. Reprod. Toxicol. 17, 203-208.
- Fernandes MES, Alves FM, Pereira RC, Aquino LA, Fernandes FL, Zanuncio JC. 2016. Lethal and sublethal effects of seven insecticides on three beneficial insects in laboratory assays and field trials. Chemosphere 156, 45-55. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.115>
- Ferré DM, Lentini VR, Romano RR, Ludueña HR, Jotallán PJ, Gorla NBM. 2018. Reference values for acetyl and butyrylcholinesterases in cattle under actual management conditions, hepatic and renal function by application of chlorpyrifos. J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes 53, 191-198. <https://doi.org/10.1080/03601234.2017.1405622>
- Fleischli MA, Franson JC, Thomas NJ, Finley DL, Riley W. 2004. Avian mortality events in the United States caused by anticholinesterase pesticides: A retrospective summary of National Wildlife Health Center records from 1980 to 2000. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 46, 542-550. <https://doi.org/10.1007/s00244-003-3065-y>
- Fountain MT, Brown VK, Gange AC, Symondson WOC, Murray PJ. 2007. The effects of the insecticide chlorpyrifos on spider and Collembola communities. Pedobiologia (Jena). 51, 147-158. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2007.03.001>
- Frampton GK, van den Brink PJ. 2007. Collembola and macroarthropod community responses to carbamate, organophosphate and synthetic pyrethroid insecticides: Direct and indirect effects. Environ. Pollut. 147, 14-25. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.08.038>
- Fulton CA, Huff Hartz KE, Fell RD, Brewster CC, Reeve JD, Lydy MJ. 2019. An assessment of pesticide exposures and land use of honeybees in Virginia. Chemosphere 222, 489-493. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.156>
- Gaines TB. 1969. Acute toxicity of pesticides. Toxicol. Appl. Pharmacol. 14, 515-534. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(69\)90013-1](https://doi.org/10.1016/0041-008X(69)90013-1)
- García-Gómez C, Babín M, García S, Almendros P, Pérez RA, Fernández MD. 2019. Joint effects of zinc oxide nanoparticles and chlorpyrifos on the reproduction and cellular stress responses of the earthworm *Eisenia andrei*. Sci. Total Environ. 688, 199-207. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.083>
- García García M, Ríos Osorio LA, Álvarez del Castillo J. 2016. La polinización en los sistemas de producción agrícola: Revisión sistemática de la literatura. Idesia 34, 51-66. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292016000300008>
- Garrido S, Cichón L, Lago J, Navarro MD, Herrera ME, Becerra V. 2018. Evaluation of the oviposition of *Goniozus legneri* (Hymenoptera: Bethyilidae) on different Lepidoptera of fruit and vegetable interest. Acta Zool. Lilloana 62, 118-121.
- Gile J, Meyers S. 1986. Effect of adult mallard age on avian reproductive tests. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 15, 751-756.
- Goebel KM, Davros NM. 2018. Evaluating grassland wildlife exposure to soybean aphid insecticides on public

- lands in Minnesota, MNDNR Summaries of Wildlife Research Findings.
- Grabuski J, Martin P, Struger J. 2004. A critical assessment of potential toxicity of urban use products to wildlife, with consideration for endocrine disruption. Technical Report. Volume 3: Phenoxy herbicides, chlorothalonil and chlorpyrifos. Canadian Wildlife Service, Ontario Region, Burlington, Ontario, Canada.
- Guedes RNC, Magalhães LC, Cosme L V. 2009. Stimulatory Sublethal Response of a Generalist Predator to Permethrin: Hormesis, Hormoligosis, or Homeostatic Regulation? *J. Econ. Entomol.* 102, 170-176. <https://doi.org/10.1603/029.102.0124>
- Hill EF, Camardese MB. 1984. Toxicity of anticholinesterase insecticides to birds: Technical grade versus granular formulations. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 8, 551-563. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(84\)90015-0](https://doi.org/10.1016/0147-6513(84)90015-0)
- Hudson RH, Tucker RK, Haegele M. 1984. Handbook of toxicity of pesticides to wildlife. Washington, D.C.
- Hudson RH, Tucker RK, Haegele MA. 1972. Effect of age on sensitivity: Acute oral toxicity of 14 pesticides to mallard ducks of several ages. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 22, 556-561. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(72\)90284-0](https://doi.org/10.1016/0041-008X(72)90284-0)
- Jackson GJ, Ford JB. 1973. The feeding behaviour of *Phytoseiulus persimilis* (Acarina: Phytoseiidae), particularly as affected by certain pesticides. *Ann. Appl. Biol.* 75, 165-171. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1973.tb07296.x>
- Jager T, Crommentuijn T, van Gestel CAM, Kooijman SALM. 2007. Chronic exposure to chlorpyrifos reveals two modes of action in the springtail *Folsomia candida*. *Environ. Pollut.* 145, 452-458. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.04.028>
- Jegade OO, Owojori OJ, Römbke J. 2017. Temperature influences the toxicity of deltamethrin, chlorpyrifos and dimethoate to the predatory mite *Hypoaspis aculeifer* (Acari) and the springtail *Folsomia candida* (Collembola). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 140, 214-221. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.02.046>
- Josephson J. 2001. How risky is rover? Petting transfers pesticides. *Environ. Health Perspect.* 109, 543.
- Joshi SC, Mathur R, Gulati N. 2007. Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. *Toxicol. Ind. Health* 23, 439-444. <https://doi.org/10.1177/0748233707080908>
- Kenaga EE. 1974. Evaluation of the safety of chlorpyrifos to birds in areas treated for insect control. *Residue Rev.* 50, 1-43.
- Kiljanek T, Niewiadowska A, Gawel M, Semeniuk S, Borzęcka M, Posyński A, Pohorecka K. 2017. Multiple pesticide residues in live and poisoned honeybees – Preliminary exposure assessment. *Chemosphere* 175, 36-44. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.028>
- Klein AM, Vaissière BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 274, 303-313. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>
- Lambert O, Lanie Piroux M, Puyo S, Thorin C, L'hostis M, Wiest L, Buleté A, Dé Ric Delbac F, Pouliquen H. 2013. Widespread occurrence of chemical residues in beehive matrices from apiaries located in different landscapes of Western France. *PLoS One* 6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067007>
- Larsen KE, Lifschitz AL, Lanusse CE, Virkel GL. 2019. In vitro and in vivo effects of chlorpyrifos and cypermethrin on blood cholinesterases in sheep. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 42, 548-555. <https://doi.org/10.1111/jvp.12798>
- Le Conte Y, Ellis M, Ritter W. 2010. Varroa mites and honeybee health: Can Varroa explain part of the colony losses? *Apidologie.* <https://doi.org/10.1051/apido/2010017>
- Lee I, Eriksson P, Fredriksson A, Buratovic S, Viberg H. 2015. Developmental neurotoxic effects of two pesticides: Behavior and biomolecular studies on chlorpyrifos and carbaryl. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 288, 429-438. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2015.08.014>
- Li ZG, Li M, Huang JN, Ma CS, Xiao LC, Huang Q, Zhao YZ, Nie HY, Su SK. 2017. Effects of sublethal concentrations of chlorpyrifos on olfactory learning and memory performances in two bee species, *Apis mellifera* and *Apis cerana*. *Sociobiology* 64, 174-181. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v64i2.1385>
- López-Lanús B, Roesler I, Blanco D, Petracchi P, Serra M, Zaccagnini M. 2007. Bobolink (*Dolichonyx oryzivorus*) numbers and non breeding ecology in the rice fields of San Javier, Santa Fe Province, Argentina. *Ornitol. Neotrop.* 18, 493-502.
- López González EC, Siroski PA, Poletta GL. 2019. Genotoxicity induced by widely used pesticide binary mixtures on *Caiman latirostris* (broad-snouted caiman). *Chemosphere* 232, 337-344. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.218>
- Maggi M, Antúnez K, Invernizzi C, Aldea P, Vargas M, Negri P, Brascesco C, De Jong D, Message D, Teixeira EW, Principal J, Barrios C, Ruffinengo S, Da Silva RR, Eguaras M. 2016. Honeybee health in South

- America. *Apidologie*. <https://doi.org/10.1007/s13592-016-0445-7>
- Mallinger RE, Gratton C. 2015. Species richness of wild bees, but not the use of managed honeybees, increases fruit set of a pollinator-dependent crop. *J. Appl. Ecol.* 52, 323-330. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12377>
- Mamczarz J, Pescrille JD, Gavrushenko L, Burke RD, Fawcett WP, DeTolla LJ, Chen H, Pereira EFR, Albuquerque EX. 2016. Spatial learning impairment in prepubertal guinea pigs prenatally exposed to the organophosphorus pesticide chlorpyrifos: Toxicological implications. *Neurotoxicology* 56, 17-28. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2016.06.008>
- Marable BR, Maurissen JPJ, Mattsson JL, Billington R. 2007. Differential sensitivity of blood, peripheral, and central cholinesterases in beagle dogs following dietary exposure to chlorpyrifos. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 47, 240-248. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2006.10.004>
- Marshall W, Roberts J. 1978. *Ecotoxicology of chlorpyrifos*. National Research Council Canada. Subcommittee on Pesticides and Related Compounds.
- Martin P. 1990. Effects of carbofuran, chlorpyrifos and deltamethrin on hatchability, deformity, chick size and incubation time of Japanese quail (*Coturnix japonica*) eggs. *Environ. Toxicol. Chem.* 9, 529-534.
- Mateo R, Sánchez-Barbudo IS, Camarero PR, Martínez JM. 2015. Risk assessment of bearded vulture (*Gypaetus barbatus*) exposure to topical antiparasitics used in livestock within an ecotoxicovigilance framework. *Sci. Total Environ.* 536, 704-712. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.109>
- Mcart SH, Fersch AA, Milano NJ, Truitt LL, Böröczky K. 2017. High pesticide risk to honeybees despite low focal crop pollen collection during pollination of a mass blooming crop. *Sci. Rep.* 7. <https://doi.org/10.1038/srep46554>
- McCullister SB, Kociba RJ, Humiston CG, McCullister DD, Gehring PJ. 1974. Studies of the acute and long-term oral toxicity of chlorpyrifos (O,O-diethyl-O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate). *Food Cosmet. Toxicol.* 12, 45-61. [https://doi.org/10.1016/0015-6264\(74\)90321-6](https://doi.org/10.1016/0015-6264(74)90321-6)
- McEwen L, DeWeese L, Schladweiler P. 1986. Bird predation on cutworms (Lepidoptera: Noctuidae) in wheat fields and chlorpyrifos effects on brain cholinesterase activity. *Environ. Entomol.* 15, 147-151.
- Medici SK, Blando M, Sarlo E, Maggi M, Espinosa JP, Ruffinengo S, Bianchi B, Eguaras M, Recavarren M. 2020. Pesticide residues used for pest control in honeybee colonies located in agroindustrial areas of Argentina. *Int. J. Pest Manag.* <https://doi.org/10.1080/09670874.2019.1597996>
- Mestre AP, Amavet PS, van der Sloot IS, Carletti JV, Poletta GL, Siroski PA. 2020. Effects of glyphosate, cypermethrin, and chlorpyrifos on hematological parameters of the tegu lizard (*Salvator merianae*) in different embryo stages. *Chemosphere* 252. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126433>
- Mestre AP, Amavet PS, Vanzetti AI, Moleón MS, Parachú Marcó MV, Poletta GL, Siroski PA. 2019. Effects of cypermethrin (pyrethroid), glyphosate and chlorpyrifos (organophosphorus) on the endocrine and immune system of *Salvator merianae* (Argentine tegu). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 169, 61-67. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.10.057>
- Meyers SM, Gile JD. 1986. Mallard reproductive testing in a pond environment: A preliminary study. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 15, 757-761. <https://doi.org/10.1007/BF01054923>
- Meyers SM, Marden BT, Bennett RS, Bentley R. 1992. Comparative response of nestling European starlings and red-winged blackbirds to an oral administration of either dimethoate or chlorpyrifos. *J. Wildl. Dis.* 28, 400-406. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-28.3.400>
- Monasterolo M, Musicante ML, Valladares GR, Salvo A. 2015. Soybean crops may benefit from forest pollinators. *Agric. Ecosyst. Environ.* 202, 217-222. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.01.012>
- Moore DRJ, Teed RS, Greer CD, Solomon KR, Giesy JP. 2014. Refined avian Risk Assessment for chlorpyrifos in the United States, en: Giesy, J., Solomon, K. (Eds.), *Ecological Risk Assessment for Chlorpyrifos in Terrestrial and Aquatic Systems in the United States, Reviews of Environmental Contamination, 231 and Toxicology*. pp. 163-217. https://doi.org/10.1007/978-3-319-03865-0_6
- Moye JK, Pritsos CA. 2010. Effects of chlorpyrifos and aldicarb on flight activity and related cholinesterase inhibition in homing pigeons, *Columba livia*: Potential for migration effects. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 84, 677-681. <https://doi.org/10.1007/s00128-010-0020-2>
- Muller M, Hess L, Tardivo A, Lajmanovich R, Attademo A, Poletta G, Simoniello MF, Yodice A, Lavarello S, Chialvo D, Scremin O. 2014. Neurologic dysfunction and genotoxicity induced by low levels of chlorpyrifos. *Neurotoxicology* 45, 22-30. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2014.08.012>
- Mullie Wim C., Keith JO. 1993. The effects of aerially applied fenitrothion and chlorpyrifos on birds in the savannah of Northern Senegal. *J. Appl. Ecol.* 30, 536. <https://doi.org/10.2307/2404193>

- Mullie Wim C, Keith JO. 1993. Locusticide impact on birds in northern Senegal, en: Birds and the African environment : proceedings of the Eighth Pan-African Ornithological Congress. pp. 617-620.
- Mullin CA, Frazier M, Frazier JL, Ashcraft S, Simonds R, VanEngelsdorp D, Pettis JS. 2010. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: Implications for honeybee health. PLoS One 5, e9754. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009754>
- Narváez C, Ríos JM, Píriz G, Sanchez-Hernandez JC, Sabat P. 2016. Subchronic exposure to chlorpyrifos affects energy expenditure and detoxification capacity in juvenile Japanese quails. Chemosphere 144, 775-784. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.09.060>
- Odenkirchen E, Eisler R. 1988. Chlorpyrifos hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. Technical Report. U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep.85 (1.13).
- Odetti LM, López González EC, Romito ML, Simoniello MF, Poletta GL. 2020. Genotoxicity and oxidative stress in Caiman latirostris hatchlings exposed to pesticide formulations and their mixtures during incubation period. Ecotoxicol. Environ. Saf. 193, 110312. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110312>
- Ojezele M, Abatan O. 2009. Toxicological effects of chlorpyrifos and methidathion in young chickens. African J. Biochem. Res. 3, 48-51.
- Olea PP, Mateo R, Mateo-toma P. 2012. Alleviating human – wildlife conflicts: identifying the causes and mapping the risk of illegal poisoning of wild fauna. J Appl Ecol 49, 376-385. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2012.02119.x>
- Ortiz-Santaliestra ME, Maia JP, Egea-Serrano A, Brühl CA, Lopes I. 2017. Biological relevance of the magnitude of effects (considering mortality, sub-lethal and reproductive effects) observed in studies with amphibians and reptiles in view of population level impacts on amphibians and reptiles, European Food Safety Authority Supporting Publications. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2017.en-1251>
- Panseri S, Catalano A, Giorgi A, Arioli F, Procopio A, Britti D, Chiesa LM. 2014. Occurrence of pesticide residues in Italian honey from different areas in relation to its potential contamination sources. Food Control 38, 150-156. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.10.024>
- Pareja L, Colazzo M, Pérez-Parada A, Niell S, Carrasco-Letelier L, Besil N, Cesio MV, Heinzen H. 2011. Detection of pesticides in active and depopulated beehives in Uruguay. Int. J. Environ. Res. Public Heal. 8, 3844-3858. <https://doi.org/10.3390/ijerph8103844>
- Picco EJ, Fernández HR, Díaz David DC, San Andrés MI, Boggio JC, Rodríguez C. 2008. Use of cholinesterase activity in monitoring chlorpyrifos exposure of steer cattle after topical administration. J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes 43, 405-409. <https://doi.org/10.1080/03601230802062158>
- Pinnock Branford M, de la Cruz V, Solano K, Ramírez O. 2014. Pesticide exposure on sloths (*Bradypus variegatus* and *Choloepus hoffmanni*) in an agricultural landscape of Northeastern Costa Rica. J. Environ. Biol. 35, 29-34.
- Potter DA, Buxton MC, Redmond CT, Patterson CG, Powell AJ. 1990. Toxicity of pesticides to earthworms (*Oligochaeta: Lumbricidae*) and effect on thatch degradation in Kentucky bluegrass turf. J. Econ. Entomol. 83, 2362-2369. <https://doi.org/10.1093/jee/83.6.2362>
- Quadri Adrogué A, Miglioranza KSB, Copello S, Favero M, Seco Pon JP. 2019. Pelagic seabirds as biomonitors of persistent organic pollutants in the Southwestern Atlantic. Mar. Pollut. Bull. 149, 110516. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110516>
- Rader R, Edwards W, Westcott DA, Cunningham SA, Howlett BG. 2013. Diurnal effectiveness of pollination by bees and flies in agricultural Brassica rapa: Implications for ecosystem resilience. Basic Appl. Ecol. 14, 20-27. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2012.10.011>
- Rahman MF, Mahboob M, Danadevi K, Saleha Banu B, Grover P. 2002. Assessment of genotoxic effects of chlorpyrifos and acephate by the comet assay in mice leucocytes. Mutat. Res. - Genet. Toxicol. Environ. Mutagen. 516, 139-147. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(02\)00033-5](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(02)00033-5)
- Rao JV, Pavan ĀYS, Madhavendra SS. 2003. Toxic effects of chlorpyrifos on morphology and acetylcholinesterase activity in the earthworm, *Eisenia foetida*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 54, 296-301.
- Rasheed MA, Khan MM, Hafeez M, Zhao J, Islam Y, Ali S, Ur-Rehman S, E-Hani U, Zhou X. 2020. Lethal and sublethal effects of chlorpyrifos on biological traits and feeding of the aphidophagous predator *harmonia axyridis*. Insects 11, 1-15. <https://doi.org/10.3390/insects11080491>
- Reinecke SA, Reinecke AJ. 2007. Biomarker response and biomass change of earthworms exposed to chlorpyrifos in microcosms. Ecotoxicol. Environ. Saf. 66, 92-101. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.10.007>

- Reinhard J, Srinivasan M V. 2009. The role of scents in honeybee foraging and recruitment, en: Jarau, S., Hrnrcir, M. (Eds.), Food exploitation by social insects: ecological, behavioral, and theoretical approaches. Taylor & Francis Group, pp. 65-182. <https://doi.org/10.1201/9781420075618.ch9>
- Requier F, Andersson GKS, Oddi FJ, Garcia N, Garibaldi LA. 2018. Perspectives from the survey of honey bee colony losses during 2015–2016 in Argentina. *Bee World* 95, 9-12. <https://doi.org/10.1080/0005772x.2018.1413620>
- Rhodes J. 2002. Cotton pollination by honeybees. *Aust. J. Exp. Agric.* 42, 513-518. <https://doi.org/10.1071/EA01063>
- Rinderer TE, Rothenbuhler WC, Gochnauer TA. 1974. The influence of pollen on the susceptibility of honeybee larvae to *Bacillus* larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 23, 347-350. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-2011\(74\)90100-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-2011(74)90100-1)
- Roger C, Vincent C, Coderre D. 1995. Mortality and predation efficiency of *Coleomegilla maculata lengi* Timb. (Col., Coccinellidae) following application of Neem extracts (*Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae). *J. Appl. Entomol.* 119, 439-443. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1995.tb01315.x>
- Sáez A, Negri P, Viel M, Aizen MA. 2019. Pollination efficiency of artificial and bee pollination practices in kiwifruit. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 246, 1017-1021. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.072>
- Sanchez-Hernandez JC, Narvaez C, Sabat P, Martínez Mocillo S. 2014. Integrated biomarker analysis of chlorpyrifos metabolism and toxicity in the earthworm *Aporrectodea caliginosa*. *Sci. Total Environ.* 490, 445-455. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.037>
- Santos E, Mendoza Y, Vera M, Carrasco-Letelier L, Díaz S, Invernizzi C. 2013. Aumento en la producción de semillas de soja (*Glycine max*) empleando abejas melíferas (*Apis mellifera*). *Agrociencia Uruguay* 17, 81-90. <https://doi.org/10.2477/vol17iss1pp81-90>
- Schafer E, Brunton R. 1979. Indicator bird species for toxicity determinations: Is the technique usable in test method development?, en: Beck, J. (Ed.), *Vertebrate Pest Control and Management Materials*. ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, PO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959, pp. 157-158. <https://doi.org/10.1520/STP34970S>
- Schafer EW. 1972. The acute pharmaceutical oral toxicity of 369 pesticidal, and other chemicals to wild birds. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 21, 315-330.
- Schafer EW, Bowles WA, Hurlbut J. 1983. The acute oral toxicity, repellency, and hazard potential of 998 chemicals to one or more species of wild and domestic birds. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.* 12, 355-382.
- Schom C, Abbott U, Walker N. 1973. Organophosphorus pesticide effects on domestic and game bird species: Dursban. *Poult. Sci.* 41, 2083.
- Shaker EM, Elsharkawy EE. 2015. Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in raw buffalo milk from agroindustrial areas in Assiut, Egypt. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 39, 433-440. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.12.005>
- Shimshoni JA, Evgeny E, Lublin A, Cuneah O, King R, Horowitz I, Shlosberg A. 2012. Determination of brain cholinesterase activity in normal and pesticide exposed wild birds in Israel. *Isr. J. Vet. Med.* 67, 214-219.
- Smith GJ. 1987. Pesticide use and toxicology in relation to wildlife: organophosphorus and carbamate compounds. Technical Report. U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service.
- Solomon KR, Giesy JP, Kendall RJ, Best LB, Coats JR, Dixon KR, Hooper MJ, Kenaga EE, McMurry ST. 2001. Chlorpyrifos: Ecotoxicological risk assessment for birds and mammals in corn agroecosystems. *Hum. Ecol. Risk Assess. An Int. J.* 7, 497-632. <https://doi.org/10.1080/20018091094510>
- Solomon KR, Williams WM, Mackay D, Purdy J, Giddings JM, Giesy JP. 2014. Properties and uses of chlorpyrifos in the United States, en: Giesy, J.P., Solomon, K.R. (Eds.), *Ecological Risk Assessment for Chlorpyrifos in Terrestrial and Aquatic Systems in the United States*. pp. 13-34. https://doi.org/10.1007/978-3-319-03865-0_2
- Sotomayor V, Chiriotto T, Pechen AM, Venturino A. 2015. Biochemical biomarkers of sublethal effects in *Rhinella arenarum* late gastrula exposed to the organophosphate chlorpyrifos. *Pestic. Biochem. Physiol.* 119, 48-53. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.02.006>
- Suliman, Khan A, Shah SSA, Gulfam N, Khisroon M, Zahoor M. 2020. Toxicity evaluation of pesticide chlorpyrifos in male Japanese quails (*Coturnix japonica*). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 25353-25362. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08953-4>
- Tiwari RK, Singh S, Pandey RS. 2019. Assessment of acute toxicity and biochemical responses to chlorpyrifos, cypermethrin and their combination exposed earthworm, *Eudrilus eugeniae*. *Toxicol. Reports* 6, 288-297.



<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.03.007>

- Tong Z, Duan J, Wu Y, Liu Q, He Q, Shi Y, Yu L, Cao H. 2018. A survey of multiple pesticide residues in pollen and beebread collected in China. *Sci. Total Environ.* 640-641, 1578-1586. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.424>
- Tosi S, Costa C, Vesco U, Quaglia G, Guido G. 2018. A 3-year survey of Italian honeybee-collected pollen reveals widespread contamination by agricultural pesticides. *Sci. Total Environ.* 615, 208-218. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.226>
- Tucker R, Crabtree D. 1970. Handbook of toxicity of pesticides to wildlife. Technical Report. U.S. Bureau of Sport Fisheries and Wildlife.
- Tucker RK, Haegele MA. 1971. Comparative acute oral toxicity of pesticides to six species of birds. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 20, 57-65. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(71\)90088-3](https://doi.org/10.1016/0041-008X(71)90088-3)
- Urlacher E, Monchanin C, Rivière C, Richard F-J, Lombardi C, Michelsen-Heath S, Hageman KJ, Mercer AR. 2016. Measurements of chlorpyrifos levels in forager bees and comparison with levels that disrupt honeybee odor-mediated learning under laboratory conditions. *J. Chem. Ecol.* 42, 127-138. <https://doi.org/10.1007/s10886-016-0672-4>
- US EPA. 2006. Reregistration Eligibility Decision for Chlorpyrifos, US Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs.
- vanEngelsdorp D, Meixner MD. 2010. A historical review of managed honeybee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *J. Invertebr. Pathol.* 103, S80-S95. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.011>
- Ventura C, Nieto MRR, Bourguignon N, Lux-Lantos V, Rodriguez H, Cao G, Randi A, Cocca C, Núñez M. 2016. Pesticide chlorpyrifos acts as an endocrine disruptor in adult rats causing changes in mammary gland and hormonal balance. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 156, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.10.010>
- Vergara CH, Badano EI. 2009. Pollinator diversity increases fruit production in Mexican coffee plantations: The importance of rustic management systems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 129, 117-123. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.08.001>
- Vilela VLR, Feitosa TF, Bezerra RA, Klafke GM, Riet-Correa F. 2020. Multiple acaricide-resistant *Rhipicephalus microplus* in the semi-arid region of Paraíba State, Brazil. *Ticks Tick. Borne. Dis.* 11, 101413. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101413>
- Villalba A, Maggi M, Ondarza PM, Szawarski N, Miglioranza KSB. 2020. Influence of land use on chlorpyrifos and persistent organic pollutant levels in honey bees, bee bread and honey: Beehive exposure assessment. *Sci. Total Environ.* 713, 136554. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136554>
- Wahl O, Ulm K. 1983. Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honeybee *Apis mellifera carnica*. *Oecologia* 59, 106-128. <https://doi.org/10.1007/BF00388082>
- Watkins de Jong E, DeGrandi-Hoffman G, Chen Y, Graham H, Ziolkowski N. 2019. Effects of diets containing different concentrations of pollen and pollen substitutes on physiology, *Nosema* burden, and virus titers in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* 50, 845-858. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00695-8>
- Watts M. 2012. Chlorpyrifos as a possible global POP. Technical Report. Pesticide Action Network North America, Oakland, CA.
- Wolf C, Riffel M, Weyman G, Douglas M, Norman S. 2010. Telemetry-based field studies for assessment of acute and short-term risk to birds from spray applications of chlorpyrifos. *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 1795-1803. <https://doi.org/10.1002/etc.227>
- Yang Y, Ma S, Yan Z, Liu F, Diao Q, Dai P. 2019. Effects of three common pesticides on survival, food consumption and midgut bacterial communities of adult workers *Apis cerana* and *Apis mellifera*. *Environ. Pollut.* 249, 860-867. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.077>
- Zheng Q, Olivier K, Won YK, Pope CN. 2000. Comparative cholinergic neurotoxicity of oral chlorpyrifos exposures in preweanling and adult rats. *Toxicol. Sci.* 55, 124-132. <https://doi.org/10.1093/toxsci/55.1.124>
- Zhu Lei, Li B, Wu R, Li W, Wang Jun, Wang Jinhua, Du Z, Juhasz A, Zhu Lusheng. 2020. Acute toxicity, oxidative stress and DNA damage of chlorpyrifos to earthworms (*Eisenia fetida*): The difference between artificial and natural soils. *Chemosphere* 255, 126982. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126982>
- Zhu W, Schmeihl DR, Mullin CA, Frazier JL. 2014. Four common pesticides, their mixtures and a formulation solvent in the hive environment have high oral toxicity to honeybee larvae. *PLoS One* 9, e77547. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077547>

7. ASPECTOS LEGALES DEL USO DE CLORPIRIFOS

Ana María Pechen y Andrés Venturino

7.1 Usos de clorpirifos

El insecticida organofosforado clorpirifos fue introducido por la empresa Dow Chemical en el año 1965 bajo la patente US 3.244.586. Entre los formulados comerciales que contienen clorpirifos y que se listan en PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2730#section=Depositor-Supplied-Synonyms&fullscreen=true>, acceso 23/09/2020) se pueden mencionar Dursban, Lorsban, Brodan, Piridane, Coroban, Equity, Lentrek, Pyrinex, Stipend, Lock-On, Killmaster, Bonidel, Danusban, Geodinfos, Spanniti, Tafaban, Dowco 179, Durmet, Radar, Terial, Zidil, Suscon blue, Suscon green, suSCon, Dursban F, Dursban R, Dursban 4E, Dursban 10CR, Detmol U.A., Dhanusban, Grofo, Dursban 44, Lorsban 50SL, Empire 20, Terial 40L, Fradex, y Pageant entre otros.

En el SENASA se encuentran registrados 120 formulados comerciales que contienen clorpirifos como principio activo único (ej. CLORPIRIFOS ESTRELLA®, LORSBAN 48 E®, LORSBAN 2,5 P®, ADAMA ESSENTIALS PYRINEX®, DIRETH®, FULLBACK®, SHOOTER EC®, CLORPIRISEM 48®, POINTER 48%®, PIRFOS 48®, HORMIFAV 2,5 P®, SHOOTER®, TERFOS®, LORSBAN 15 G®, CLORPIRIFOS FORMULAGRO 48®, TERMINATOR®, FUXOL D®, CLORFOX®, LORSBAN 75 WG®, YARARA C®, DUAL C®, CLOR P®, CLORPIRIFOS SUMAGRO®, DASTAL RY®, CLORPIRIFOS AGM®, etc.) o clorpirifos-metil (RELDAN 48 E®), combinado con otros (ej. el piretroide cipermetrina –DIRETH WT®) (SENASA, formulados enero 2020, disponible en [https://www.argentina.gob.ar/senasa/programas-sanitarios/productos veterinarios-fitosanitarios-y-fertilizantes/registro-nacional-de-terapeutica-vegetal](https://www.argentina.gob.ar/senasa/programas-sanitarios/productos-veterinarios-fitosanitarios-y-fertilizantes/registro-nacional-de-terapeutica-vegetal)).

El clorpirifos es uno de los insecticidas más usados en el mundo, si bien la aparición de regulaciones más estrictas en diversos países, la introducción de nuevos compuestos de menor toxicidad y mayor selectividad, la aparición de resistencia y la modificación en los patrones de cultivo han ido produciendo una declinación en su uso (US EPA, 2002). El clorpirifos es un insecticida de amplio espectro que se utiliza para combatir insectos (en sus formas adultas y larvales) y ácaros. Las formulaciones del clorpirifos incluyen concentrados emulsionables, polvo, polvo mojable, gránulos, microcápsulas, peleteados y aerosoles. Su acción principal es por contacto, con algún efecto como veneno estomacal, no es un pesticida sistémico por lo cual solo actúa cuando entra en contacto directo con la planta y no es transportado a otro sitio de la misma. Su mecanismo de acción principal es por interferencia con el sistema nervioso de los insectos inhibiendo la enzima acetilcolinesterasa.

En el área agrícola se lo emplea en el control de artrópodos que afectan cultivos de cereales, oleaginosas, plantaciones frutales explotaciones forestales, verduras y hortalizas. También se utiliza en el

control de ectoparásitos en el sector pecuario para controlar garrapatas, ácaros, piojos, pulgas, moscas y tábanos y también en pasturas destinadas al ganado.

Aún se utiliza al clorpirifos como principio activo de productos en medicina veterinaria para pequeños y grandes animales. Este uso está ligado a mascotas, por un lado, pero también al ganado y animales de granjas por el otro.

También ligado a usos no agrícolas, el clorpirifos se utiliza como insecticida fitosanitario en el mantenimiento de campos de golf y áreas recreacionales.

El clorpirifos es usado en salud humana en programas sanitarios para el control de vectores u hospedadores de agentes patógenos responsables de enfermedades como mal de Chagas, dengue, leishmaniasis y oncocercosis entre otras.

7.2 Legislación Nacional e Internacional

Argentina es uno de los países con mayor consumo de fertilizantes y plaguicidas, no existiendo hasta el presente una ley nacional que regule en forma general su uso y aplicación. Si bien existen varias normativas en las provincias, la fiscalización es deficiente lo que aumenta la posibilidad de que los agroquímicos sean usados incorrecta o negligentemente. Precisamente, la no existencia de una Ley Nacional que establezca presupuestos mínimos, o un marco referencial para que se apoyen en ella las legislaciones provinciales, genera una serie de criterios diferenciales entre las mismas. Al no existir un estándar mínimo y único, referido al uso y aplicación de agroquímicos para todo el país, los estándares considerados localmente son a veces bajos u obsoletos.

La única norma nacional de presupuestos mínimos sobre agroquímicos es la Ley 27.279 de Productos Fitosanitarios que regula la disposición de envases de los mismos. Existen otras leyes nacionales que están en relación al impacto ambiental de sustancias químicas e incluyen algunos agroquímicos, como la Ley Nacional N° 24.051 de Residuos Peligrosos y las Leyes Nacionales N° 18.073 y 18.796 que datan de los años 1969 y 1970 y se refieren principalmente a prohibiciones de aplicación de plaguicidas organoclorados. También existe la Ley Nacional 20.418 que fija tolerancias y límites administrativos para residuos de plaguicidas, y existe también una serie de decretos y disposiciones legales de menor jerarquía que han ido actualizando la norma. La Resolución 934/2010 de SENASA fija los LMR para clorpirifos y clorpirifos-metil en vegetales y la Resolución 559/2011 hace lo propio en alimentos de origen animal incluidos músculo, grasa, leche y huevos. A la fecha, el clorpirifos está incluido en el Plan de Control de Residuos e Higiene en Alimentos en varios grupos de frutas, vegetales, cereales y alimentos de origen animal (SENASA CREHA 2020 https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/resumen_resultados_2019_-_plan. Consultado 5/11/2020).

Una revisión extensa de la normativa a nivel nacional y en algunas provincias se presenta en el informe de la Fundación Ambiente y Recursos Naturales en el año 2005 (FARN 2005), en el libro Plaguicidas en la República Argentina (Pórfido, 2014) y más recientemente en una tesis (Paz Belada, 2017). En ninguna de estas normas hay una restricción para el uso de clorpirifos.

No obstante, existen antecedentes de trabajo conjunto entre los previamente denominados Ministerio de Agroindustrias y Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sustentable (Resolución conjunta MAyDS No1/2018) para avanzar en las buenas prácticas agrícolas y sistemas de control y monitoreo en la aplicación de fitosanitarios en todo el país, teniendo especial cuidado en los temas relacionados con la salud, el respeto a las zonas de amortiguamiento o buffer y la consulta a comités de expertos científicos y organismos locales que sin duda deberían incluir al clorpirifos.

Según el SENASA, el clorpirifos es "altamente tóxico" para las abejas y "muy tóxico" para aves, peces y organismos acuáticos. Lo considera un producto "moderadamente peligroso y nocivo" (Clase II), pero sin embargo es de venta libre en algunos productos. En el año 2009, el Ministerio de Salud dispuso su prohibición para uso doméstico mediante la Resolución 456/09, aunque mantuvo su habilitación en el ámbito rural. También se mantiene su empleo en medicina veterinaria para grandes y pequeños animales, siendo preocupante la autorización para collares pulguicidas y garrapaticidas para perros y gatos por su interacción en ambientes interiores hogareños y su contacto con niños cuya susceptibilidad al insecticida es motivo de particular preocupación como lo hemos señalado anteriormente en el capítulo referido a impactos del clorpirifos sobre la Salud Humana.

En los últimos años y ante la multiplicidad de evidencias científicas documentadas, muchas de las cuales hemos incluido en este informe, numerosos países han avanzado hacia la prohibición de su uso.

En el caso de Estados Unidos, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) prohibió su uso domiciliario desde el año 2001 en todo el país por los riesgos que entrañaban para la salud de los niños y dadas las evidencias presentadas sobre niveles en aire que excedían los límites de seguridad para la salud de los mismos. Posteriormente y considerando los informes científicos que describían daños provocados por clorpirifos sobre el cerebro infantil, la EPA llega a un acuerdo con los registrantes del plaguicida, en el año 2012, para poner zonas de amortiguamiento alrededor de escuelas, guarderías, hogares y campos de juego. Un par de años más tarde (2014), la EPA ya reconoce en su revisión los efectos deletéreos sobre la salud infantil y de los trabajadores expuestos (US EPA, 2015), hecho que corrobora en la revisión de la evaluación realizada en el año 2016 donde acepta incluir como punto regulador a los efectos sobre el desarrollo neuronal en la evaluación de riesgo para la salud humana (Bohaty, 2016; US EPA, 2016). Numerosas organizaciones civiles, y grupos de interés público han solicitado reiteradamente la prohibición del uso del clorpirifos en Estados Unidos, habiendo recurrido a la justicia para lograrlo y se aguarda desde el año 2017 una resolución

de la EPA, quien retrocedió sorpresivamente en su decisión de avanzar en la prohibición de su uso en productos agrícolas.

No obstante, el estado de California, en función de las recomendaciones de un comité de expertos (CalEPA, 2018), adelantó su decisión de que todo uso de clorpirifos deberá cesar el 31 de diciembre 2020 en dicho estado. Otros cinco estados: New York, Hawaii, Oregon, Connecticut y New Jersey han avanzado también en sus propias agendas para lograr su prohibición.

La Agencia Regulatoria de Pesticidas de Canadá prohibió el uso residencial del clorpirifos en el año 2005. En el año 2007, adoptó medidas más restrictivas para proteger la salud humana, estableciendo controles de ingeniería para su uso, regulaciones referidas al empleo de equipo protector e intervalos de reentrada a los sitios de aplicación. Posteriormente redujo la autorización de su aplicación a casos excepcionales y se encuentra en revisión para avanzar en su prohibición total (<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/consumer-product-safety/pesticides-pestmanagement/public/consultations/proposed-re-evaluation-decisions/2019/chlorpyrifos/document.html>).

Por su parte en el año 2015, el Comité Permanente de Legislación de la Unión Europea redujo los límites máximos de residuos (LMR) para Clorpirifos hasta el límite de detección analítica para los cultivos frutihortícolas, lo que supone en la práctica la prohibición de su uso en estos cultivos. Tras esta reducción de los LMR, el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente de España aprobó la retirada de los formulados a base de clorpirifos etil, para su empleo en los cultivos de tomate, pimiento, melón, sandía, papas, alcaucil, manzana, pera, damascos, uva de mesa, frambuesa y arándanos. En diciembre de 2019, la Unión Europea resolvió la no renovación de la aprobación de clorpirifos y clorpirifos-metil a partir del 1 de febrero de 2020, estableciendo que los estados miembros debían quitar la autorización de cualquier producto de protección vegetal que contuviera dichos principios activos. Ocho estados miembros ya lo han prohibido o nunca autorizaron su uso, como Dinamarca, Finlandia, Alemania, Irlanda, Lituania, Eslovenia, Letonia y Suecia. El uso de clorpirifos no está permitido en Noruega e Islandia, y Gran Bretaña prohibió su uso en el año 2016 con solo una excepción.

Otros países como Australia, India, Tailandia, Sri Lanka, Palestina, Arabia Saudita y Sudáfrica han restringido o prohibido su uso, y avanzan los procesos de revisión para lograr su prohibición total en varios países de Oriente Medio.

No obstante, pese a las restricciones para su uso, la prevalencia de residuos de clorpirifos en alimentos sigue siendo frecuente en América, Europa, Asia, África y Oceanía, como previamente describimos en el Capítulo 3 referido a esta problemática.

Durante la década pasada, se ha intentado incluir al clorpirifos en el Anexo A del Convenio de Estocolmo por revestir características de Contaminante Orgánico Persistente, pues su degradación en el medioambiente es lenta, se traslada grandes distancias y puede bioacumularse (Watts, 2012). Recientemente la Unión Europea, a través de su Agencia de Químicos (ECHA, 2020), ha presentado un borrador de trabajo acompañando la solicitud formal de su inscripción en el listado de productos a ser debatido como COP.

Estos antecedentes demuestran claramente la necesidad de disponer en nuestro país de una Ley de presupuestos mínimos que regule todo el ciclo de vida de compuestos que como el clorpirifos hoy se aplican con escasos controles.

De acuerdo a la reforma Constitucional de 1994: “Corresponde a la Nación dictar las normas que contengan los presupuestos mínimos de protección, y a las provincias, las necesarias para complementarlas, sin que aquellas alteren las jurisdicciones locales...”. Precisamente ante la consulta efectuada por la *Comisión de Recursos Naturales y Conservación del Ambiente Humano* de la Honorable Cámara de Diputados de la Nación (HCD), la Red de Seguridad Alimentaria del CONICET (RSA, 2018) declara que “...la no existencia de una Ley Nacional que establezca presupuestos mínimos, o un marco referencial para que en ella se apoyen las legislaciones provinciales, determina que haya una serie de criterios diferenciales entre éstas. En otras palabras, las capacidades de protección estatal dependen de donde desarrolla su vida cada habitante”.

También en el Senado de la Nación, se han presentado proyectos de declaración que expresan la preocupación de algunos legisladores por el uso específicamente de clorpirifos a la luz de los avances internacionales en materia normativa y las evidencias científicas sobre el mismo (PROYECTO DE DECLARACION (S-3216 /18) Julio C. Martinez. – Ines O. Brizuela y Y Doria. <https://www.senado.gov.ar/parlamentario/comisiones/verExp/3216.18/S/PD>).

7.3 Alternativas propuestas para reemplazo de clorpirifos a nivel nacional y mundial

Trayendo a colación un reporte de la Universidad de Harvard, el clorpirifos fue inventado como una alternativa al DDT, convirtiéndose en una “lamentable sustitución”, ya que sus residuos se encuentran en el 91% de los hogares de USA, en productos comestibles hacia 2002. Por sus reconocidos efectos en la salud humana y animal, la Agencia de Protección Ambiental de USA (EPA) discontinúa la habilitación para su uso residencial en el 2000, pero continúa con su registro habilitado para usos en cultivos principalmente. Con la propuesta y presión del “Pesticide Action Network”, la EPA adopta la decisión de revocar todas las tolerancias de uso de clorpirifos, basada fundamentalmente en los efectos sobre el desarrollo cerebral y cognitivo en niños al incorporar recién para 2015 los antecedentes de riesgo en humanos para sus protocolos de

evaluación de productos. Pese a ello, en marzo de 2017, la misma EPA decide no prohibir el uso agrícola de clorpirifos, basada en razones de mercado y provisionamiento de alimentos (Hu, 2018).

Esta decisión se contrapone notoriamente con las disposiciones adoptadas por algunos estados en USA, siendo representativo el Estado de California, con uno de los mayores consumos históricos de clorpirifos en su producción agrícola. Tras una serie de decisiones, el Departamento de Reglamentación de Pesticidas de California anuncia en 2019 el inicio del proceso de cancelación del registro de clorpirifos, y la equivalente a EPA en California anuncia la finalización de las ventas de productos conteniendo a clorpirifos para febrero de 2020, y la prohibición de tenencia de los mismos para el 31 de diciembre de este año (CalEPA, 2020). El Documento preparatorio contiene una lista de usos de clorpirifos y alternativas conocidas disponibles en la actualidad, e identifica usos significativos para los cuales se necesitarán alternativas. Como corolario, el Documento también plantea desarrollar información sobre toxicidad en humanos y el medio ambiente para productos considerados como alternativas.

El Grupo de Trabajo asociado al EPA de California indica que los productos alternativos recomendados como alternativas no han sido aún estudiados en lo referente a eficacia como pesticidas ni los impactos sobre salud, ni la rentabilidad, concepto que debe tenerse presente también en lo que se vuelca en el presente Informe Técnico Científico. De esta manera, incluye en una Tabla de Ingredientes Activos disponibles, compuestos con toxicidad (re)conocida y otros que pueden incluirse entre los pesticidas más “amigables” con el medio ambiente y otros métodos que incluyen un Manejo Integrado de Plagas, distribuida por cultivos, plagas a combatir y momentos del desarrollo de cultivo (CalEPA, Grupo de Trabajo, 2020). Estas recomendaciones son en cierta forma equivalentes a las que proporcionan tanto el INTA como CASAFE a nivel nacional como alternativas fitosanitarias para el control de plagas. El propio Grupo de Trabajo asociado a EPA-California reconoce que muchas de las alternativas de productos registrados también presentan riesgos. Por lo tanto, cabe seleccionar aquellas que se consideren menos dañinas mientras se profundizan nuevos estudios de riesgo e impacto y se estudian nuevos productos y alternativas que puedan juzgarse adecuados, en un plazo razonable mientras se produce el reemplazo de clorpirifos. Se presenta la Tabla 7.1 con un resumen de alternativas fitosanitarias, de acuerdo a su clasificación por toxicidad o estado de registro. Puede observarse que existe una cantidad importante de productos alternativos considerados no tóxicos a la fecha, algunos con registro actual en SENASA y otros con baja a nula toxicidad según la clasificación de productos fitosanitarios, mientras que otros no serían alternativas deseables desde el impacto ambiental. En todos los casos, se hace un fuerte hincapié en el Manejo Integrado de Plagas, con manejos de producción orgánica, y producción agroecológica.

El INTA Alto Valle viene recomendando esquemas de sanidad vegetal, con sugerencias de reemplazo del clorpirifos para el control de carpocapsa, básicamente debido a las exigencias para frutas de pepita de exportación (Cichón y Garrido, 2019). En estos casos, se utilizaron insecticidas de las familias de las diamidas

(rynaxypyr, cyaxypyr, flubendiamide), neonicotinoides (acetamiprid, thiacloprid), spinosinas (spinosad, spinetoran), benzoato de emamectina, y como organofosforados se continuaron aplicando fosmet y mercaptotion. También se aplican bioinsecticidas en producción orgánica, del tipo granulovirus de la *Carpocapsa*, *Bacillus thuringiensis* y *azawai*. El clorpirifos sigue siendo utilizado solamente por productores que comercializan en el mercado interno del Alto Valle de Río Negro y Neuquén.

En el mismo sentido, el gobierno de Australia dispuso en 2019 la cancelación del registro de clorpirifos para productos de uso doméstico y jardines del hogar y espacios públicos, basado en las evidencias de riesgo en salud humana y ambiental, y recientemente en 2020 canceló las restantes autorizaciones y aprobaciones para jardines y agricultura, permitiendo por el momento el uso de acuerdo al marbete mientras se adopta una decisión para esta categoría (Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority, 2020). La Autoridad Regulatoria recomienda una amplia lista de alternativas de productos químicos y naturales como alternativas al uso de clorpirifos en su página con la herramienta “Pub CRIS Product Search Tool” (disponible en <https://portal.apvma.gov.au/home>).

Tabla 7.1 Alternativas fitosanitarias al uso agrícola de clorpirifos

Principio	Tipo	Origen/ mecanismo	Toxicidad Reportada ¹	Clase/ Registro ²	Otros usos
CYDIA POMONELLA	biocontrol	Virus	No	NT, NC	
GRANULOVIRUS					
CAOLINITA	mineral	Irritante	No	NT	
AZADIRACTINA	Neem	Limonoide semillas	no a la fecha; muy tóxico acuáticos agudo y crónico	? NT, NC	
BEAUVERIA BASSIANA	agente fúngico	esporas fúngicas	abejas	? NT, NC	
BURKHOLDERIA RINOJENSIS	biopesticida	Bacteria	no; no testeado	NO REGISTRADO	
CHROMOBACTERIUM	biopesticida		toxicidad acuáticos		
SUBTSUGAE				NO REGISTRADO	
CINAMALDEHIDO	aceite	Vegetal	toxicidad crónica media	NO REGISTRADO	
CRYOLITA	fluoruro	mineral natural, veneno estomacal	no	NO REGISTRADO	
DISODIO TETRABORATO	sal inorgánica		carcinogenicidad, reproducción	NO REGISTRADO	
ISARIA FUMOSOROSEA	biocontrol	Hongo	no se espera	NO REGISTRADO	
JABÓN POTÁSICO	cultivo orgánico		No;	NO REGISTRADO	
ACEITE MINERAL RANGO	aceite mineral o	control orgánico	cancerígeno	NO REGISTRADO	
ESTRECHO	vegetal				

ACEITE DE NEEM	neem	extracto vegetal	no; ¿toxicidad acuáticos?	¿REGISTRO?	
JABON POTÁSICO, ACIDOS GRASOS	sales jabonosas	Organic	no	NO REGISTRADO	
POTASIO SILICATO		mineral	no	NO REGISTRADO	
BACILLUS THURINGIENSIS	biocontrol	microorganismo	no	IV	
BUPROFEZIN	inhibidor quitina		acuáticos, sugerido carcinógeno	IV	
CLOTRANILIPROLE	diamida ryanoide	dervivado alcaloide	no	IV	
CYANTRANILIPROLE	diamida ryanoide	dervivado alcaloide	abejas	IV	
DIFLUBENZURÓN	benzoil ureas	inhibidor quitina	abejas	IV	
DINOTEFURAN	Neonicotinoide		abejas	IV	
FLONICAMID	piridina fluorada		tox aguda?	IV	
ACEITE HORTICULTURA	aceite mineral		no	IV	
METOXIFENOCIDE	diacil hidrazina	análogo hormona de muda	muy tóxico acuáticos agudo y crónico	IV	
PYMETROZINE	triazina piridina	Neuroactivo	carcinógeno	IV	
SPINETORAM	spynosina	disruptor canales nAChR o GABAr	abejas, fertilidad, muy tóxico acuáticos crónico	IV	
SPINOSAD	spynosina	agonista nAChR y GABAr	abejas	IV	VETERINARIO
NOVALURON	bezoil urea	regul crecimiento	abejas, toxicidad aguda, muy tóxico acuáticos agudo y crónico	III (IV)	
TIAMETOXAM	Neonicotinoide		abejas	III (IV)	
FENPIROXIMATO	pirazol	inhibidor NADH-Ubiquinon reductasa	muy tóxico acuáticos	III	
INDOXACARB	oxadiazinas	bloqueo canales Na+	abejas, tox aguda	III	VETERINARIO
MALATION	OP		abejas, toxicidad aguda, carcinógeno, teratógeno	III	
METAFLUMIZONE	semicarbazona	bloqueo canales Na+	toxicidad crónica, muy tóxico acuáticos	III	VETERINARIO
PYRIPROXIFEN	piridina	mimica Hna juvenil	muy tóxico acuáticos agudo y crónico	III	
SPIRODICLOFEN	Ácido tetrónico	inhibe síntesis lipidos	carcinógeno, abejas	III	

SPIROMESIFEN	Ácido tetrónico	inhibe síntesis lipidos	muy tóxico acuáticos agudo y crónico	III	
SPIROTETRAMAT	Ácido tetrónico	inhibe síntesis lipidos	abejas, infertilidad, muy tóxico acuáticos agudo y crónico	III	
ABAMECTINA	Avermectins	Streptomycea	abejas, reproducción	II (IV)	
DELTAMETRINA	piretroide		muy tóxico acuáticos agudo y crónico	II (IV)	
ACEFATO	OP		abejas, carcinógeno	II (III)	
BIFENTRIN	piretroide		abejas, carcinógeno	II (III)	
IMIDACLOPRID	Neonicotinoide		abejas, toxicidad aguda	II (III)	USO SEMILLAS
ZETA-CYPERMETRINA	piretroide		toxicidad aguda, carcinógeno, abejas	II (III)	
ACETAMIPRID	Neonicotinoide		abejas	II	
BETA- CIFLUTRINA	piretroide		abejas	II	
CARBARYL	carbamato		carcinógeno, reproducción, abejas	II	
CLORFENAPIR	pirazol		toxicidad aguda, carcinógeno, abejas	II	
CLOTIANIDIN	Neonicotinoide		abejas	II	
CIFLUTRINA	piretroide		abejas	II	
DIMETOATO	OP		carcinógeno, abejas, alta toxicidad Aguda ratas	II	
EMAMECTINA BENZOATO	Avermectina		abejas	II	
ESFENVALERATO	piretroide		abejas, toxicidad aguda	II	
FENPROPATRINA	piretroide		abejas, toxicidad aguda	II	
LAMBDA CIALOTRINA	piretroide		abejas, toxicidad aguda	II	
METIOCARB	carbamato		toxicidad aguda, abejas	II	
PERMETRINA	piretroide		abejas, toxicidad aguda	II	
FOSMET	OP		toxicidad aguda, carcinógeno, abejas	II	
METOMIL	carbamatos		toxicidad aguda, abejas	Ib (II)	
1, 3-DICLOROPROPENO	clorado		carcinógeno	Ia	
CHLOROPICRIN	biocida amplio espectro	no selective	alta toxicidad Aguda ratas	Ia	
DIAZINON	OP		abejas,	PROHIBIDO/ RESTRINGIDO	

ETOPROFOS	OP		abejas, carcinógeno, toxicidad aguda, crónica	PROHIBIDO/ RESTRINGIDO	
METHOPRENE	derivado isopreno	análogo Hormona Juvenil	toxicidad crónica acuáticos	PROHIBIDO/ RESTRINGIDO	
NALED	OP		toxicidad aguda, abejas	PROHIBIDO/ RESTRINGIDO	
FORATO	OP		muy tóxico agudo y crónico	PROHIBIDO/ RESTRINGIDO	
CYROMAZINE	triazina	regulador crecimiento	Toxicidad crónica en acuáticos	NO REGISTRADO	
FENBUTATIN-OXIDO	organotina		toxicidad aguda, muy tóxico acuáticos	NO REGISTRADO	
FLUPYRADIFURONE	butenolidos	agonista nAChR	moderadamente peligroso, abejas	NO REGISTRADO	
TAU-FLUVALINATO	piretroide		reproducción, abejas	NO REGISTRADO	
S-KINOPRENE	derivado isopreno	análogo Hormona juvenile	no; en re-registración Canadá	NO REGISTRADO	VETERINARIO
S-METOPRENE	derivado isopreno	análogo Hormona juvenile	muy tóxico acuáticos agudo y crónico	NO REGISTRADO	
PIRETRINAS	piretroide		abejas	PENDIENTE	

¹ Información recogida del listado elaborado por el Grupo de Trabajo asociado a EPA-California (CaEPA and Grupo de Trabajo, 2020), y revisada según Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>). ² Registros de SENASA ([https://www.argentina.gob.ar/senasa/programas-sanitarios/productos veterinarios-fitosanitarios-y-fertilizantes/registro-nacional-de-terapeutica-vegetal](https://www.argentina.gob.ar/senasa/programas-sanitarios/productos-veterinarios-fitosanitarios-y-fertilizantes/registro-nacional-de-terapeutica-vegetal), Principio activo Enero 2020; https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/listado_de_sustancias_existentes_restringidas_prohibidas_1_0.xlsx), revisados en CASAFE (<https://www.casafe.org/publicaciones/guia-de-productos-fitosanitarios/>); NT: No Tóxico; NC: No Clasificado.

En la Unión Europea rige la prohibición del uso de clorpirifos y clorpirifos-metil como ingredientes activos en productos fitosanitarios (EC, 2020), habiendo propuesto recientemente (octubre 2020) su inclusión como Contaminante Orgánico Persistente en el Anexo A de la Convención de Estocolmo (ECHA, 2020). Sin embargo, varios recortes periodísticos de Comunas de España dan cuenta de reclamos de productores respecto a garantizar productos viables para luchar contra ciertas plagas principalmente en cítricos, como ejemplo de algunos de los desafíos por resolver. La respuesta a la consulta parlamentaria respecto a estas plagas (https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/E-9-2020-004041_ES.html), no responde puntualmente a cuáles son las alternativas específicas pero indica que hay a la fecha más de cien sustancias activas insecticidas para uso fitosanitario, recayendo la responsabilidad del registro de uso en cultivos específicos en los Estados miembros (https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/E-9-2020-004041-ASW_ES.html). Por ejemplo, el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, España, indica en

primer lugar que si se siguen las líneas de producción integrada y se evita la presencia de hormigas, los enemigos naturales son capaces de mantener las poblaciones del cotonet (*Planococcus citri*) en cítricos por debajo de los umbrales de tratamiento y no es necesario intervenir. En caso necesario, indican el control biológico por el predador *Cryptolaemus montrouzieri* y los parasitoides *Anagyrus pseudococci* y *Leptomastix dactylopii* (<http://gipcitricos.ivia.es/area/plagas-principales/pseudococcidos/cotonet>).

Con respecto al control de plagas durante el almacenamiento de granos, en Argentina una de las alternativas registradas para la desinfección de silos, camiones de transporte y granos almacenados en sí es el clorpirifos-metil solo o en combinación con deltametrina (Santa Juliana, 2013). El mismo reporte indica otras alternativas para diferentes plagas, algunas muy tóxicas como el DDVP o el fosfuro de aluminio como generador de fosfina, otros como mercaptotion, pirimifos metil + lambda cialotrina, deltametrina, y también propone considerar métodos que incluyan control biológico para silo bolsas, como predadores o parásitos, *Avisopteronalus calandreae* y *Cheyletus eruditus* S., el patógeno *Bacillus thuringiensis*, feromonas y reguladores del crecimiento. También son aplicables métodos físicos como gases inertes en instalaciones herméticas, o el uso de diatomeas para atacar directamente a los insectos por deshidratación.

El clorpirifos también forma parte de los protocolos actuales de uso veterinario en ganado vacuno, ovejas, cabras, cerdos, caballos, y también perros y gatos para controlar parásitos externos. Con respecto al uso en mascotas de productos veterinarios conteniendo clorpirifos, además de problemas de exposición de las propias mascotas a probables efectos crónicos, es de alta preocupación los riesgos y los efectos de intoxicación subclínica observada en humanos, principalmente niños (Boone et al., 2001; Josephson, 2001; Dyk et al., 2010). Teniendo en cuenta la disponibilidad de productos veterinarios en base a ingredientes activos mucho menos tóxicos, algunos considerados como “amigables” con el ambiente, resulta inaceptable el riesgo para salud humana y el ecosistema que conlleva el uso de aquellos que contienen clorpirifos, en concentraciones que están entre 20 y 35 g/L o polvos al 10% de ingrediente activo. En el mismo sentido se observa el uso de productos de jardín conteniendo clorpirifos.

Con respecto al uso en ganado, además de la facilidad de generar resistencia al igual que otros organofosforados (Vilela et al., 2020), se reportan efectos colaterales que pueden deberse a una aplicación por encima del régimen recomendado (Picco et al., 2008; Larsen et al., 2019). La situación más grave es en todo caso la posibilidad de que el clorpirifos persista en carnes y leches, pasando a los alimentos, según lo que ha sido ya reportado en leche (Shaker and Elsharkawy, 2015; Jawaid et al. 2016; Dallegrave et al., 2018), mantequilla (Sokoloff et al., 2016), carne vacuna (Dallegrave et al., 2018), carne de aves (Sokoloff et al., 2016; Singh et al., 2018) y huevos (Singh et al., 2018), si bien esto puede ser consecuencia de la bioacumulación a través de la dieta.

No se ha hallado disponible un listado de antiparasitarios registrados a nivel nacional, aunque entre los sitios disponibles se puede descargar una lista completa de principios activos con links a sus fichas técnicas a fin de evaluar las alternativas más convenientes. Los resultados de la búsqueda se muestran alfabéticamente en la Tabla 7.2 (extraída y modificada de Parasitipedia.net: https://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=category&id=188&Itemid=345).

Tabla 7.2 Principios activos usados como antiparasitarios

Sustancia activa	Clase química	Intr.*	Sustancia activa	Clase química	Intr.*
Abamectina	Lactona macrocíclica	1980	Fenitrotión	Organofosforado	1970
Afoxolaner	Isoxazolina	2010	Fenoxicarb	Anál. hormona juvenil	1980
Albendazol	Benzimidazol	1970	Fentiión	Organofosforado	1960
Amitraz	Amidina	1970	Fenvalerato	Piretroide	1970
Azamétfos	Organofosforado	1970	Fipronil	Fenilpirazol	1990
Azadiractina	Compuesto natural	Trad.	Fluazurón	Benzoilurea	1990
Bitionol	Derivado bifenólico	1930	Flubendazol	Benzimidazol	1970
Brotianida	Salicilanilida	1970	Flumetrina	Piretroide	1970
Bunamidina	Derivado naftalénico	1960	Fluralaner	Isoxazolina	2010
Carbaril	Carbamato	1950	Fosmet	Organofosforado	1960
Carvacrol	Compuesto natural	Trad.	Foxim	Organofosforado	1970
Cialotrina	Piretroide	1980	Geraniol	Compuesto natural	Trad.
Cifenotrina	Piretroide	1980	Haloxón	Organofosforado	1960
Ciflutrina	Piretroide	1980	Hexacloroetano	Organoclorado	1920
Cimiazol	Amidina	1970	Hexaclorofeno	Organoclorado	1970
Cipermetrina	Piretroide	1980	Hexacloroparaxileno	Organoclorado	1950
Ciromazina	Triazina	1980	Imidacloprid	Neonicotinoide	1990
Citronellal	Compuesto natural	Trad	Indoxacarb	Oxadiazina	2000
Clorfenvinfos	Organofosforado	1970	Ivermectina	Lactona macrocíclica	1980
Clorpirifós	Organofosforado	1970	Levamisol	Imidazotiazol	1960
Clorsulón	Sulfamida	1970	Linalool	Compuesto natural	Trad.
Closantel	Salicilanilida	1970	Lindano	Organoclorado	1940
Cumafós	Organofosforado	1950	Lotilaner	Isoxazolina	2010
D-limoneno	Compuesto natural	Trad.	Lufenurón	Benzoilurea	1990
Deltametrina	Piretroide	1980	Malatión	Organofosforado	1950
Derquantel	Spiroindol	2010	Mebendazol	Benzimidazol	1970
Diamfenetida	Der. fenoxialcánico	1970	Metaflumizona	Semicarbazona	2000
Diazinón	Organofosforado	1950	Metomilo	Carbamato	1970
Diclorvos (DDVP)	Organofosforado	1960	Metopreno	Anál. hormona juvenil	1970
Diciclanil	Cianopirimidina	1990	Metrifonato	Organofosforado	1960
Diflubenzurón	Benzoilurea	1970	Milbemicina oxima	Lactona macrocíclica	1990
Dimpilato	Organofosforado	1950	Monepantel	Der. am. acetónitrílico	2000
Dinotefuran	Neonicotinoide	2010	Morantel	Tetrahidropirimidina	1960
Disofenol	Monofenol	1950?	Moxidectina	Lactona macrocíclica	1990
Doramectina	Lactona macrocíclica	1990	Netobimín	Pro-benzimidazol	1980
Emodepsida	Depsipéptido	2000	Niclofolán	Anál. hexaclorofeno	1950
Eprinomectina	Lactona macrocíclica	1990	Niclosamida	Salicilanilida	1960
Epsiprantel	Isoquinolina	1990	Nitenpiram	Neonicotinoide	1990
Esfenvalerato	Piretroide	1970	Nitroscanato	Isotiocianato	1970
Espinosad	Espinosina	1990	Nitroxinil	Anál. hexaclorofeno	1960
Etión	Organofosforado	1950	Oxantel	Tetrahidropirimidina	1970
Eucaliptol	Compuesto natural	Trad.	Oxfendazol	Benzimidazol	1970
Eugenol	Compuesto natural	Trad.	Oxibendazol	Benzimidazol	1970
Febantel	Pro-benzimidazol	1970	Oxiclozanida	Salicilanilida	1960
Fenbendazol	Benzimidazol	1970	Parbendazol	Benzimidazol	1970
Permetrina	Piretroide	1970	Sarolaner	Isoxazolina	2010

Piretrinas	Compuesto natural	1960	Selamectina	Lactona macrocíclica	1990
Piperazina	Der. piperazínico	1900	Spinetoram	Espinosina	2000
Pirantel	Tetrahidropirimidina	1960	Spinosad	Espinosina	1990
Piriprolo	Fenilpirazol	2000	Tetraclorvinfos	Organofosforado	1970
Praiquantel	Isoquinolina	1970	Tetrametrina	Piretroide	1960
Propetamfos	Organofosforado	1970	Tiabendazol	Benzimidazol	1960
Propoxur	Carbamato	1960	Tiametoxam	Neonicotinoide	1990
Piriproxifén	Anál. hormona juvenil	1980	Timol	Compuesto natural	Trad.
Rafoxanida	Salicilanilida	1970	Tiofanato	Pro-benzimidazol	1970
Resorantel	Salicilanilida	1970	Triclabendazol	Benzimidazol	1970
Ricobendazol	Benzimidazol	1970	Triclorfon	Organofosforado	1960
Rotenona	Compuesto natural	Trad.	Triflumurón	Benzoilurea	1980

* Década en que fue introducido

7.4 Conclusiones

En numerosos países e incluso en Argentina se han ido restringiendo usos para el clorpirifos, de acuerdo fundamentalmente a la peligrosidad que el mismo representa para la Salud Humana. Varios países y la Unión Europea más algunos Estados en USA han avanzado ya con la prohibición absoluta del clorpirifos para agentes fitosanitarios sumado a otros usos, y se encuentran actualmente en el proceso gradual de eliminación de clorpirifos. La Unión Europea ha avanzado incluso con la propuesta de inclusión del clorpirifos como COP en el Anexo A del Convenio de Estocolmo.

En base a estos antecedentes, consideramos que nuestro país debería adoptar una decisión en el mismo sentido, considerando los riesgos inaceptables que presenta el clorpirifos tanto al ambiente como a la Salud Humana, en particular sus efectos sobre el desarrollo neurológico de los niños. Tomando en cuenta la serie de alternativas existentes tanto de principios activos químicos dentro de la categoría de “más amigables con el ambiente”, agentes fitoterapéuticos naturales, biocontroladores, manejos orgánicos, agroecológicos e integrados de las plagas, conceptos como zonas “buffer”, afirmamos que hay una importante variedad de opciones que los profesionales y técnicos de la Producción y de la Salud disponen para analizar los mejores esquemas terapéuticos minimizando o evitando los riesgos que implica el uso actual del clorpirifos.

7.5 Referencias

- Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority ... 2020. Chlorpyrifos. Document. Australian Government. <https://apvma.gov.au/node/50091>.
- Bohaty R. 2016. Chlorpyrifos registration review drinking water assessment. US Environmental Protection Agency. D432921
- Boone JS, Tyler JW, Chambers JE. 2001. Transferable residues from dog fur and plasma cholinesterase inhibition in dogs treated with a flea control dip containing chlorpyrifos. *Environ. Health Perspect.* 109, 1109–1114. <https://doi.org/10.1289/ehp.011091109>
- CalEPA. 2018. Final toxic air contaminant evaluation of chlorpyrifos risk characterization of spray drift, dietary and aggregate exposures to residential bystanders. Human health Assessment Branch Department of Pesticide Registration, California Environmental Protection Agency
- CalEPA. 2020. Grupo de trabajo para alternativas a clorpirifos. Discusiones en Mesa Redonda. California Environmental Protection Agency. Department of Pesticide Regulation. https://www.cdpr.ca.gov/docs/chlorpyrifos/pdf/spanish/alternatives_outline_for_public_input_sp.pdf.
- CalEPA, Grupo de Trabajo. 2020. Hacia alternativas al clorpirifos más seguras y más sostenibles: Un plan de acción para California. Grupo de Trabajo para alternativas al clorpirifos. California Environmental Protection Agency, Department of Pesticide Registration. https://www.cdpr.ca.gov/docs/chlorpyrifos/pdf/spanish/chlorpyrifos_action_plan_sp.pdf.
- Cichón L, Garrido S. 2019. Balance fitosanitario 2018-2019. *Frutic. Divers. INTA Estac. Exp. Alto Val.* 83, 22–27.
- Dyk MB, Chen Z, Mosadeghi S, Vega H, Krieger R. 2010. Pilot biomonitoring of adults and children following use of chlorpyrifos shampoo and flea collars on dogs. *J. Environ. Sci. Health. B.* 46, 97–104. <https://doi.org/10.1080/03601234.2011.534966>
- EC. 2020. Reglamento de Ejecución (UE) 2020/18 de la Comisión. https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_impl/2020/18/oj.
- ECHA. 2020. CHLORPYRIFOS Draft proposal for listing chlorpyrifos in Annex A to the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. Draft Proposal. European Chemicals Agency. European Union. <https://echa.europa.eu/documents/10162/bb4342c2-64f1-d184-e8d8-334f02842f9b>.
- FARN. 2005. Fundación Medio Ambiente y Recursos Naturales. Informe Final. Marco Legal Aplicable al Manejo de Pesticidas. Argentina http://www.scba.gov.ar/includes/descarga.asp?id=6125&n=informe_pesticidas%20farn%20banco%20mundial.PDF
- Hu X. 2018. The most widely used pesticide, one year later. Harvard University. The graduate school of Arts and Sciences. <http://sitn.hms.harvard.edu/flash/2018/widely-used-pesticide-one-year-later/>.
- Jawaid S, Talpur FN, Nizamani SM, Khaskheli AA, Afridi HI. 2016. Multipesticide residue levels in UHT and raw milk samples by GC- μ ECD after QuEChER extraction method. *Environ. Monit. Assess.* 188. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5222-6>
- Josephson J. 2001. How risky is rover? Petting transfers pesticides. *Environ. Health Perspect.* 109, 543.
- Larsen KE, Lifschitz AL, Lanusse CE, Virkel GL. 2019. In vitro and in vivo effects of chlorpyrifos and cypermethrin on blood cholinesterases in sheep. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 42, 548–555. <https://doi.org/10.1111/jvp.12798>
- Picco EJ, Fernández HR, Díaz David DC, San Andrés MI, Boggio JC, Rodríguez C. 2008. Use of cholinesterase activity in monitoring chlorpyrifos exposure of steer cattle after topical administration. *J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes* 43, 405–409. <https://doi.org/10.1080/03601230802062158>
- Paz Belarda A. 2017. Regulación de los Agroquímicos en la República Argentina: hacia una ley de presupuestos mínimos regulatorios Tesis de Licenciatura Universidad de San Andrés (Argentina).
- Pórfido OD. 2014. Los plaguicidas en la República Argentina. Serie: Temas de Salud Ambiental. 1 era edición. Buenos Aires Ministerio de Salud de la Nación.
- RSA. 2018. Informe- Uso de plaguicidas para la producción de agroalimentos -Impacto colateral adverso en la salud humana y ambiental. Red de Seguridad Alimentaria-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. <https://rsa.conicet.gov.ar/wp-content/uploads/2019/04/Informe-RSA-GIAH-Agroquimicos-HCD.pdf>.
- Santa Juliana D. 2013. Proyecto Especifico de Poscosecha-PRECOP II. Información sobre insecticidas aprobados para granos almacenados. Reporte INTA. <https://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp->

inta_informacin_sobre_insecticidas_aprobados_para_con.pdf.

- Shaker EM, Elsharkawy EE. 2015. Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in raw buffalo milk from agroindustrial areas in Assiut, Egypt. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 39, 433–440. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.12.005>
- Sokoloff K, Fraser W, Arbuckle TE, Fisher M, Gaudreau E, Leblanc A, Morisset A, Bouchard MF. 2016. Determinants of urinary concentrations of dialkyl phosphates among pregnant women in Canada — Results from the MIREC study. *Environ. Int.* 94, 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.05.015>
- US EPA .. 2002. Interim Reregistration Eligibility Decision for Chlorpyrifos. EPA 738-R-01-007. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. WASHINGTON D.C. http://www.epa.gov/oppsrd1/REDs/chlorpyrifos_ired.pdf, EPA/IREDE.
- US EPA. 2015. Environmental Protection Agency, Literature review on neurodevelopment effects & FQPA Safety Factor determination for the organophosphate pesticides, D331251
- US EPA. 2016. Chlorpyrifos Issue Paper: Evaluation of Biomonitoring Data. Environmental Protection Agency. https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-07/documents/chlorpyrifos_sap_april_2016_final_minutes.pdf
- Vilela VLR, Feitosa TF, Bezerra RA, Klafke GM, Riet-Correa F. 2020. Multiple acaricide-resistant *Rhipicephalus microplus* in the semi-arid region of Paraíba State, Brazil. *Ticks Tick. Borne. Dis.* 11, 101413. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101413>
- Watts M. 2012. Chlorpyrifos as a possible global POP. Technical Report. Pesticide Action Network North America, Oakland, CA.



8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Equipo científico-técnico del CITAAC

El aumento en la demanda de la producción agrícola relacionada al crecimiento poblacional y el consumo de alimentos ha encontrado como soluciones la implementación de prácticas mejoradas y la aplicación de mayores cantidades de plaguicidas y fertilizantes en todo el mundo.

Argentina es uno de los países con mayor consumo de fitosanitarios, habiendo experimentado un crecimiento exponencial del mismo en los últimos 25 años debido al aumento de la superficie cultivada con monocultivos intensivos como la soja y el maíz, la introducción de semillas genéticamente modificadas, la siembra directa y un paquete tecnológico ligado fuertemente al uso de agroquímicos. Entre estos compuestos, tal vez uno de los que más preocupa por sus antecedentes ecotoxicológicos y uso masivo junto al glifosato, es el clorpirifos.

Las propiedades fisicoquímicas y la frecuencia de aplicación del clorpirifos proveen información básica para estimar la exposición ambiental y el análisis de riesgo. Las propiedades que tienen mayor impacto en su distribución en el ambiente son su baja presión de vapor, solubilidad en agua y elevado Kow. Como consecuencia de las múltiples vías de disipación en diferentes matrices, el clorpirifos presenta una moderada capacidad de persistencia en el ambiente. No obstante, la elevada frecuencia y masividad de sus aplicaciones, ha hecho que se lo halle en niveles preocupantes en regiones muy alejadas de los continentes donde se lo utiliza como plaguicida.

Los riesgos de contaminación por la aplicación de este plaguicida son múltiples incluyendo los producidos por la deriva durante su aplicación, los flujos por lixiviación y escorrentía, la dispersión en el aire, el contacto directo en el caso de los aplicadores o por exposición accidental, el indirecto en el caso de la población rural o a través del agua, el aire y los alimentos. Los niveles ambientales de clorpirifos en aguas superficiales de la República Argentina y las frecuencias de detección que han sido observadas en las últimas décadas sugieren que los riesgos y los niveles de daño sobre los organismos acuáticos son muy altos, ya que la mayor incorporación de clorpirifos en los organismos acuáticos se produce mediante el agua y en menor proporción a través de la dieta o el sedimento. El rango de concentraciones efectivas hace muy sensibles a la mayoría de los grupos taxonómicos, en particular algunos peces y a toda la comunidad de macroinvertebrados acuáticos en general. Las diversas especies terrestres son también impactadas por clorpirifos sufriendo tanto efectos tóxicos agudos como crónicos, siendo los invertebrados los más afectados. Un caso para considerar especialmente es el de los insectos benéficos, en particular las abejas, ya que sus efectos deletéreos perjudican el control integrado de plagas, la polinización de los cultivos y el control de vectores de enfermedades por sus predadores naturales.

Otro aspecto preocupante es la bioacumulación a través de la cadena trófica, habiéndose reportado residuos del compuesto a diferentes niveles tróficos en regiones remotas como en el círculo polar ártico, en los grandes depredadores a nivel mundial, en los alimentos de diversos orígenes (vegetal o animal) y hasta en la leche materna. Pero sin duda los antecedentes más relevantes que impulsaron la decisión de numerosos países de restringir o retirar del mercado a los productos comerciales que contienen clorpirifos, son los aportes científicos independientes a nivel internacional que demuestran que la exposición humana a clorpirifos puede causar una multiplicidad de efectos tóxicos dependiendo de la dosis, la vía de ingreso y la duración de la exposición, no existiendo niveles seguros para su aplicación. Las evidencias indican que el clorpirifos produce efectos crónicos graves sobre la salud de niños y poblaciones susceptibles, como son la neurotoxicidad y el déficit neurocognitivo. En este sentido, la exposición de poblaciones vulnerables, la exposición comprobada en el periodo prenatal, la presencia de clorpirifos en la leche materna y los efectos desfavorables que se observan en los niños han sido destacadas como motivo de muy alta preocupación por toda la comunidad científica, y debe constituir un eje de decisión para las Autoridades competentes a los distintos niveles de responsabilidad.

Por lo expuesto hasta aquí podemos decir claramente que el clorpirifos es un xenobiótico que cumple con los criterios para su potencial bioacumulación, afectando los ecosistemas naturales y agrarios, como así también a la salud humana, criterios que son esgrimidos por la Unión Europea, que recientemente ha postulado su incorporación a la lista de Compuestos Orgánicos Persistentes (COP) en el Anexo A del Convenio de Estocolmo.

8.1 Recomendaciones

Algunos plaguicidas ampliamente usados en el mundo como el clorpirifos, si bien son eficientes en el control de plagas y económicos, razón por la cual suelen ser defendidos por sus productores y algunos usuarios, presentan efectos tóxicos agudos, crónicos y afectan la salud de los niños. El uso extendido de clorpirifos ha causado problemas de salud y muertes en muchas partes del mundo, por lo general como consecuencia de la exposición laboral y la intoxicación accidental o deliberada. **Por ello, es imprescindible contemplar también los efectos sobre la salud de la población en la evaluación que las autoridades regulatorias realizan, y sopesar los beneficios y perjuicios que el uso de este tipo de compuestos implica para la sociedad.**

En tal sentido, el programa “Enfoque Estratégico para la Gestión de Productos Químicos a Nivel Internacional” (SAICM) en el cual participa la República Argentina, y que es administrado por el Programa de Naciones Unidas Para el Medio Ambiente (PNUMA), ha venido estableciendo un marco de políticas para lograr que los productos químicos se produzcan y utilicen de formas que minimicen los impactos adversos que puedan tener en la salud humana y el ambiente. **La participación de todos los sectores,**

gubernamentales y no gubernamentales, es fundamental para alcanzar este objetivo a la hora de revisar el uso de clorpirifos.

En numerosos países se han ido restringiendo usos para el clorpirifos, fundamentalmente en función de la peligrosidad que el mismo representa para la Salud Humana. Varios países asiáticos y la Unión Europea más algunos Estados en EEUU han avanzado ya con la prohibición absoluta del clorpirifos como agente fitosanitario sumado a otros usos, y se encuentran actualmente en el proceso gradual de cancelación de su autorización de uso. La Unión Europea ha avanzado incluso con la propuesta de inclusión del clorpirifos como COP en el Anexo A del Convenio de Estocolmo. El Estado de California en Estados Unidos ha avanzado incluso un paso más luego de la prohibición de uso de este plaguicida, incluyendo un presupuesto específico para financiar investigaciones y asistencia técnica con el fin de analizar las alternativas de reemplazo y lograr las mejores soluciones en el corto plazo que a su vez permitan garantizar la salud de la población y la prosperidad del sector agrícola en el largo plazo. **Consideramos que nuestro país debería adoptar una decisión en el mismo sentido, teniendo en cuenta los riesgos inaceptables que presenta el clorpirifos tanto para el ambiente como para la salud humana, en particular sus efectos sobre el desarrollo neurológico de los niños. El uso de productos veterinarios conteniendo clorpirifos en la sanidad de mascotas debería ser revisado con extremo cuidado, ya que representa a nuestro criterio un riesgo inaceptable para la salud del grupo familiar y fundamentalmente para los niños, en función de la información disponible que da cuenta de los niveles hallados del tóxico y sus metabolitos en humanos a partir de esta vía de exposición.**

Hemos incluido en el Capítulo 7, un listado de principios activos que pueden emplearse como alternativas de reemplazo del clorpirifos en terapéutica vegetal y animal, y que profesionales y técnicos de la Producción disponen para analizar los mejores esquemas fitoterapéuticos. **Dado que el proceso de cancelación insume tiempo y acuerdos previos entre instituciones, cámaras empresariales, colegios profesionales y organizaciones de productores, estimamos que es conveniente avanzar en medidas parciales como la prohibición de aplicaciones aéreas en zonas de amortiguamiento o “buffer” en la cercanía de escuelas, hospitales, poblaciones y cursos de agua y la autorización para su uso sólo en forma excepcional cuando no existieran alternativas eficaces para su reemplazo. Es necesario también que el ámbito científico y técnico produzca la información toxicológica necesaria para que las áreas de Salud y de Ambiente evalúen correctamente los riesgos que puedan implicar principalmente las alternativas químicas de control.**

Finalmente, consideramos necesario estimular en los respectivos organismos de control la realización de talleres y actividades con agricultores, asesores técnicos y aplicadores para la promoción de alternativas al uso de clorpirifos, como el uso de controles biológicos y otras prácticas de control integrado de plagas. Estas medidas contribuirán sin duda a minimizar los residuos de agroquímicos en alimentos garantizando a nuestros consumidores el derecho a una alimentación segura y saludable.

9. Consideraciones finales

Equipo técnico del MayDS

El presente informe ha demostrado los riesgos inherentes al clorpirifos en sus usos como agroquímico y como producto veterinario. La exposición humana a este producto químico ocurre por distintas vías y escenarios de exposición y esto puede causar una multiplicidad de efectos dañinos. En materia de prevención de daños a la salud, las autoridades nacionales podrán utilizar la experiencia e información aquí volcada para fortalecer los sistemas de vigilancia de intoxicaciones y de atención temprana. En ese sentido, el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, a través de la Dirección Nacional de Sustancias y Productos Químicos, se encuentra colaborando con el Ministerio de Salud en el desarrollo de una plataforma informática que permitirá el relevamiento digital de las consultas por intoxicaciones.

Desde una perspectiva ambiental, se ha constatado la ecotoxicidad e impacto que tiene este producto químico en distintos compartimentos. El MAYDS asume que es fundamental el desarrollo de estrategias y programas nacionales para fortalecer el monitoreo y el control ambiental. En este marco, el MAYDS ha desarrollado el Centro de Información Ambiental (CIAM) que permite el acceso a diversas plataformas de datos, estadísticas e informes. Asimismo, la Secretaría de Control y Monitoreo Ambiental desarrolla el Programa Nacional de Monitoreo de Sustancias Contaminantes que reunirá los datos obtenidos en investigaciones científicas, monitoreos periódicos y otras campañas, con el fin de profundizar el conocimiento sobre la presencia e impacto de las sustancias contaminantes en diversas matrices ambientales, incluyendo la biota.

En cuanto a los Acuerdos Internacionales de los cuales Argentina es parte, el presente informe servirá para sustentar la posición de nuestro país al considerar las propuestas de controles y restricciones que se propongan. En tal sentido, en el marco del Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes (COPs), se ha evaluado al clorpirifos y se concluyó que los datos disponibles no eran suficientes para categorizar a dicha sustancia como COP; no obstante, las nuevas iniciativas y hallazgos servirán para reinstalar esta discusión y este informe será relevante como insumo en dicho análisis. También, será un acervo científico de consideración al evaluar los impactos a la salud y el ambiente en el marco del Convenio de Rotterdam sobre el procedimiento de Consentimiento Fundamentado Previo para el control del comercio internacional de los productos químicos peligrosos.

Es intención de este Ministerio que el presente informe sirva como insumo para las autoridades competentes y que sea tenido en cuenta en los análisis que se realicen sobre la comercialización y los usos actuales de este insecticida. Resulta de vital importancia, para preservar nuestro ambiente y promover un desarrollo sostenible, revisar la matriz productiva, las prácticas actuales, y las alternativas agroecológicas,

fomentando y profundizando el conocimiento que existe sobre estas últimas, más amigables con los seres vivos y los ecosistemas. Esto permitiría también la eficacia y la disminución en el uso de sustancias agroquímicas. Por ello, es necesario la implementación de buenas prácticas y, también, el fortalecimiento del marco regulatorio y de las actividades de control, garantizando la trazabilidad de estos productos y su correcta aplicación.

Con respecto al uso del clorpirifos como producto veterinario se considera que, dada la existencia de varias alternativas al uso de dicha sustancia y teniendo en cuenta la información presentada en este reporte sobre la estrecha relación que presentan los animales de compañía y las personas, y el riesgo potencial que implica para la salud de las mismas, sería pertinente un análisis exhaustivo del uso de productos veterinarios que contengan este compuesto.

Finalmente, este documento demuestra la importancia y la necesidad del trabajo conjunto entre las autoridades de aplicación y el sector científico-académico, entendiendo que el desarrollo de las políticas públicas, y por supuesto las ambientales, debe realizarse con sustento científico y con datos robustos que permitan tomar decisiones informadas.

Argentina unida



Ministerio de Ambiente
y Desarrollo Sostenible
Argentina

