

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**



**EFFECTOS GENOTOXICOS DE AZINFOS METILICO Y  
OXIDEMETON METIL: INSECTICIDAS DE AMPLIO USO  
EN BAJA CALIFORNIA**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO  
ACADEMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS**

EN MANEJO DE ECOSISTEMAS DE  
ZONAS ARIDAS

PRESENTA

**Guillermo Bojórquez Rangel**

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTOS GENOTOXICOS DE AZINFOS METILICO Y  
OXIDEMETON METIL: INSECTICIDAS DE  
AMPLIO USO EN BAJA CALIFORNIA

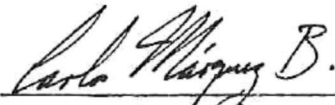
TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS  
EN MANEJO DE ECOSISTEMAS DE ZONAS ARIDAS

PRESENTA

GUILLERMO BOJORQUEZ RANGEL

Aprobada por:



Dr. Carlos Marquez Becerra



Dr. Victor Manuel Salceda Sacanelles



M.en C. Cesar Valenzuela Solano

Ensenada, B. C. Diciembre de 1999.

DEDICATORIA:

A la memoria de mis padres.

A mis Hermanos: Ana Luisa, Marina, Isabel,  
Eduardo, Miguel y Rodolfo.

A mi Amiga María Elena Reséndiz Ruíz

## AGRADECIMIENTOS:

Durante mis estudios de maestría, han sido muchas las personas que me han brindado algún tipo de apoyo. Mencionar a todos ellos y expresar lo que quisiera a cada uno sería una labor que tomaría muchas paginas:

En primer término quiero agradecer a mi amigo y asesor, Dr. Carlos Márquez Becerra quién ha formado parte importante en mi formación profesional y que además me ha brindado un apoyo ilimitado para la conclusión de mis estudios de posgrado.

De igual forma, agradezco a la maestra Edna Luna Serrano, que siempre ha tenido palabras de estímulo que me han motivado para seguir superandome.

Especial agradecimiento me merecen mis amigas, Biol. María Elena Résendiz Ruíz y Biol. María Angoa. El apoyo incondicional me han otorgado durante estos últimos años ha sido muy importante para resolver muchos de los problemas a los que he tenido que enfrentarme. Muchas gracias por su amistad.

Al los revisores de este trabajo, Dr. Victor Manuel Salceda Sacanelles, Dr. Gorgonio Ruíz Campos y al M. en C. Cesar Valenzuela agradezco el interés mostrado en la revisión del escrito final y por sus aportaciones que lo hicieron más claro.

Al Oceanólogo Salvador Barrera y a la Biol. Lorena Chávez Rosas quienes apoyaron de manera importante el trabajo de laboratorio.

A la Biol. Olivia Tapia V. por su compañerismo y por compartir su experiencia, también, muchas gracias.

A mis compañeros de Maestría: Olivia, Cony, Edna, Rogelio y Jorge, muchas gracias por los momentos compartidos.

También agradezco el compañerismo y amistad de Isabel, Martha, Ana, Alberto, Hugo, Jorge, Walter, Alejandro, y todos los miembros de la Asociación de Biólogos, especialmente a Susana Chávez, Hector López y Jose María González Vérduzco (Chema).

Gracias también, a la Lic. María del Socorro Serrano Rodríguez y la Oc. Judith Luna Serrano, quienes en su momento facilitaron el desarrollo y conclusión de este trabajo.

Finalmente, no puedo dejar de agradecer y reconocer el apoyo en reactivos y demás, así como los consejos de mi amigo Dr. Arturo Piña, del Laboratorio de Genética del Instituto Politécnico Nacional que facilitaron la realización de algunas pruebas de laboratorio y me estimularon a aprender nuevas cosas en Genética. Gracias Arturo, por el refuerzo final.

La realización de este trabajo requirió, en buena medida, la colaboración de diversas personas que de algún modo están relacionadas con el uso de plaguicidas. Agradezco profundamente a las siguientes personas la información proporcionada:

Biol. Jose Luis Aguilar del Instituto de Ecología.

Ing. Agron. Blas Díaz Ortíz del Programa de Entomología de I.N.I.F.A.P.

Ing. Agron. Carlos Hernández Aréchiga, Jefe del departamento de Extensión Agrícola de la S.A.R.H.

Ing. Agron. Juan Enrique Quezada, del Departamento de Informática de la S.A.R.H.

Dr. Juan Manuel Ibañez del Departamento de Regulación Sanitaria de la S.S.A.

M.C. Maria Eugenia de la Macorra de la S.S.A.

#### RECONOCIMIENTO:

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Genética de la Facultad de Ciencias, U.A.B.C. Dicho laboratorio ha tenido por proyecto central : "DETECCION DE AGENTES MUTAGENICOS EN LAS COSTAS DE BAJA CALIFORNIA", dirigido por el Dr. Carlos Márquez Becerra, quién es el Director de esta tesis. A través de este proyecto se han recibido fondos que han contribuido a que también se lleven a cabo otras investigaciones en Genética, entre las que se encuentran este trabajo.

Los apoyos recibidos han sido principalmente de la Dirección General de Investigación y Posgrado, U.A.B.C.

Agradezco a CONACyT, la beca recibida (No de registro 61840) durante mis estudios de maestría.

## RESUMEN:

Se llevó a cabo una investigación de campo para evaluar la situación actual en torno al uso de plaguicidas en la zona costa de Baja California y se estudiaron los efectos genotóxicos de: Azinfos metílico (Quiazinfos) y Oxidemeton metil (Metasistox R-25), pesticidas que son ampliamente utilizados en B. C.

Los resultados indican que en la zona costa de B. C. se utilizan alrededor de 85 pesticidas diferentes que son comercializados en mas de 150 formulaciones distintas. Algunos de ellos tienen un largo historial asociado a envenenamientos masivos, a daños en organismos silvestres y en general a los ecosistemas, tal es el caso del los insecticidas Paration, Paration-metílico, Endosulfan, Malation, Metomil, Azinfos metílico y Oxidemeton metil; los nematicidas Aldicarb y Carbofuran; fungicidas como Captan y Clorotalonil y herbicidas como Paraquat y EPTC.

La evaluación de los efectos genotóxicos de Azinfos metílico y de Oxidemeton metil, se realizó en cultivos de linfocitos humanos los cuales fueron expuestos a concentraciones de 200, 100, 50 y 20  $\mu\text{g/ml}$  de Azinfos metílico y 125, 62, 23, 12, 6 y 3  $\mu\text{g/ml}$  de Oxidemeton metil.

Los resultados muestran que Azinfos metílico es un insecticida citotóxico que produce muerte celular a la concentración de 100  $\mu\text{g/ml}$ ; disminuye la tasa media de división celular a 50  $\mu\text{g/ml}$ ; induce micronúcleos en células binucleadas y produce aberraciones cromosómicas a concentración de 20  $\mu\text{g/ml}$ .

El oxidemeton metil resultó un insecticida altamente tóxico, que produce muerte celular a una concentración de 23  $\mu\text{g/ml}$ ; abate la tasa media de división celular a 3  $\mu\text{g/ml}$ , y además induce la formación de micronúcleos en células binucleadas a concentración de 3  $\mu\text{g/ml}$ .

## INDICE

Introducción.....	1
Efectos sobre la salud.....	5
Sistemas de prueba.....	9
Antecedentes.....	13
Objetivos.....	14
Materiales y métodos.....	35
Resultados.....	45
I.-Situación de los plaguicidas en el municipio de Ensenada, B. C.....	45
II.-Efectos genotóxicos y citotóxicos del Azinfos metílico y Oxidemeton metil.....	64
Discusiones.....	92
I.-Situación de los plaguicidas en el municipio de Ensenada, B. C.....	92
II.-Efectos genotóxicos y citotóxicos del Azinfos metílico y Oxidemeton metil.....	103
Conclusiones.....	118
Recomendaciones.....	120
Bibliografía.....	121

## INDICE DE TABLAS

TABLA	I.-Pesticidas más utilizados en la zona costa de Baja California.....	46
TABLA	II.-Envenenamientos masivos registrados en diversos países y que son utilizados en la zona costa de B. C.....	52
TABLA	III.-Plaguicidas utilizados en la zona costa de B. C. asociados a cancer de diversos tipos.....	53
TABLA	IV.-Plaguicidas utilizados en la zona costa de B.C. asociados a malformaciones congénitas.....	53
TABLA	V.-Plaguicidas utilizados en la zona costa de B. C. asociados a esterilidad.....	55
TABLA	VI.-Efectos en animales silvestre de diversos plaguicidas utilizados en Ensenada, B. C.....	56
TABLA	VII.-Resultado de los análisis de micronucleos en la muestra testigo.....	65
TABLA	VIII.-Resultados generales de laboratorio.....	68
TABLA	IX.-Resultados de análisis de Indice Mitótico en células expuestas a Azinfos metílico.....	72
TABLA	X.-Resultados de análisis de Indice Mitótico en células expuestas a Oxidemeton metil.....	75
TABLA	XI.- Tablas de contingencia Ji Cuadrada para células mononucleadas expuestas a Azinfos metílico.....	76
TABLA	XII.- Tablas de contingencia Ji Cuadrada para células mononucleadas expuestas a Oxidemeton metil.....	76
TABLA	XIII.-Tablas de contingencia Ji Cuadrada para células binucleadas expuestas a Azinfos metílico.....	76
TABLA	XIV.-Tablas de contingencia Ji Cuadrada para células binucleadas expuestas Oxidemeton metil.....	81

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.-Pesticidas más utilizados en la zona costa de Baja California.....	50
FIGURA 2.-Principales insecticidas utilizados en la zona costa de B. C.....	50
FIGURA 3.-Envases vacíos localizados en los márgenes de los campos agrícolas.....	63
FIGURA 4.-Resultados de los análisis de micronúcleos en la muestra testigo.....	66
FIGURA 5.-Núcleos heteropícnóticos en célula expuesta a Oxidemeton metil.....	70
FIGURA 6.-Núcleos apoptóticos en célula expuesta Azinfos metílico.....	71
FIGURA 7.-Resultado de los análisis de Índice Mitótico en células expuestas a Azinfos metílico y Oxidemeton metil.....	73
FIGURA 8.-Micronúcleos células mononucleadas expuestas a Azinfos metílico y Oxidemeton metil.....	77
FIGURA 9.-Micronúcleos células binucleadas expuestas a Azinfos metílico y Oxidemeton metil.....	80
FIGURA 10.-Célula binucleada con dos micronúcleos.....	82
FIGURA 11.-Célula binucleada con dos micronúcleos.....	83
FIGURA 12.-Célula binucleada con micronúcleos de tamaño pequeños.....	84
FIGURA 13.-Célula binucleada con micronúcleos de gran tamaño.....	85
FIGURA 14.-Frecuencia de aberraciones cromosómicas en células expuestas a Azinfos metílico.....	87
FIGURA 16-17.-Aberraciones cromosómicas en células expuestas a Azinfos metílico.....	89-91

## INTRODUCCION:

La contaminación se convierte en un fenómeno importante a partir de la segunda mitad del siglo XIX, con el desarrollo de la revolución industrial. Sus primeras manifestaciones se dieron hasta finales de ese mismo siglo al incrementarse las concentraciones de bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) producto de la combustión del carbón y otros combustibles fósiles, situación que pasó casi desapercibida.

Actualmente la acumulación de gases tales como:  $\text{CO}_2$ , clorofluorocarbonos (CFC), metano ( $\text{CH}_4$ ) óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) han ocasionado modificaciones de los patrones microclimáticos y además contribuyen con otros compuestos como el dióxido de sulfuro ( $\text{SO}_2$ ) y los óxidos de nitrógeno ( $\text{NO}_x$ ) a incrementar las concentraciones de "smog" en la atmósfera con lo cual disminuye la visibilidad y aumenta la precipitación ácida, que es causante de la corrosión de edificios y monumentos, así como del aumento de diversos padecimientos, principalmente aquellos relacionados con el sistema respiratorio (Graedel y Crutzen, 1989).

Otra fuente importante de contaminación lo ha constituido la industria química, la cual ha aportado grandes cantidades de sustancias tóxicas al ambiente y las cuales se han ido acumulando en los ecosistemas y en los organismos

vivos a través de los mecanismos de bioacumulación y biomagnificación dando lugar a la aparición de nuevas enfermedades.

La presencia en el ambiente de sustancias como los policlorados bifenílicos (PCB), compuestos organometálicos, tales como el metil-mercurio y elementos inorgánicos como el Plomo (Pb), Cadmio (Cd) y Zink (Zn), así como una gran diversidad de agroquímicos, han tenido diversas consecuencias para los ecosistemas, incluyendo a los organismos que en ellos se desarrollan (Albert, *et. al.* 1985).

Dentro de los impactos generados por estos contaminantes, los que sin duda preocupan más al hombre, son aquellos relacionados con la salud pública. El incremento de enfermedades respiratorias y cardíacas, la alta incidencia de abortos no inducidos, el nacimiento de niños malformados y el surgimiento de síndromes ahora bien caracterizados, como la enfermedad de "Minamata" producida por contaminación con metil-mercurio y la de "Itai-Itai" por (Cd), así como el aumento en la frecuencia de cáncer, infertilidad y esterilidad, han despertado el interés de la sociedad hacia la búsqueda de los agentes responsables (Albert, *et al.* 1985; Albert, 1990).

La acumulación en el ambiente de diversos contaminantes químicos, físicos y biológicos ha creado inseguridad e incertidumbre sobre el papel que éstos juegan en la salud de los ecosistemas y de la biota que allí habitan incluyendo, al hombre.

Entre las sustancias químicas, los plaguicidas han contribuido de manera significativa a la contaminación ambiental y eventualmente a generar problemas de salud pública. La mortalidad causada directa o indirectamente por los plaguicidas no se conoce con exactitud. No obstante, la Organización Mundial de la Salud en una publicación realizada a finales de 1991, ha calculado que el 3% de los agricultores de los países en desarrollo (aproximadamente 25 millones de personas) sufren algún tipo de envenenamiento por plaguicidas y un porcentaje considerable de estos casos resulta de consecuencias fatales (Jeyaratnam, 1990, citado en: Global Pesticide Campaigner, 1991). Este mismo documento señala que la mortalidad causada por pesticidas ha rebasado las ocasionadas por malaria, difteria y otras enfermedades que constituyen un problema de salud pública de algunas regiones del mundo. Esto sin considerar la morbilidad que resulta de los accidentes que ocurren frecuentemente en los

centros de producción de estos insumos y de los que destacan los ocurridos en Seveso, Italia 1976 , Bhopal, India, en 1984 y en Córdoba, Veracruz 1989.

Aunque los plaguicidas empezaron a utilizarse desde hace mas de dos mil años, no es sino hasta mediados de este siglo cuando empezaron a ser utilizados indiscriminadamente para el control de plagas agrícolas y domésticas así como para combatir insectos que favorecen la diseminación de enfermedades endémicas. Sus propiedades biológicas y su persistencia en el ambiente y en los organismos vivos aunado a su capacidad de bioacumulación, les confieren destacada importancia como contaminantes ambientales (Albert, 1990).

La agricultura altamente tecnificada ha constituido la principal fuente de contaminación por pesticidas, tanto por la cantidad como por la toxicidad de las sustancias químicas utilizadas. Según cálculos de la Agencia de Protección al Ambiente de Estados Unidos (E.P.A. por sus siglas en inglés), actualmente existen alrededor de 1600 principios activos de pesticidas, comercializándose en más de 45,000 formulaciones (Johnson, 1984, citado en: Wilkinson, 1991) con un mercado que rebasa los 20 billones de dólares.

La toxicidad de estas sustancias químicas para los

ecosistemas es constatemente referida, lo que ha dado lugar a que muchos de los pesticidas extensamente utilizados, como el DDT, Eldrin y Clordano, por mencionar algunos, hayan sido eliminados del mercado en muchos países. Otros como el Carbarilo, Diclorvos, 2,4-d, y el 2,4,5-T siguen siendo utilizados a pesar de los efectos que tienen en el ambiente y en los organismos vivos.

El impacto de los agroquímicos ha llegado a tal grado que en la actualidad se pueden encontrar en prácticamente todos los ambientes y seres del planeta. Su presencia en el suelo, aire, mantos acuíferos, agua de lluvia, en los alimentos, tejidos grasos y en leche materna, ha sido comprobada en numerosas ocasiones.

#### EFFECTOS SOBRE LA SALUD HUMANA

Es conocido que la gran mayoría de los pesticidas utilizados tienen diversos efectos sobre la salud humana. EL daño inmunológico, aunque no ha sido bien estudiado comprende diversas manifestaciones patológicas que incluyen transtornos fisiológicos como alergias, dermatitis y disminución de la respuesta inmune.

Los efectos neurotóxicos, son mejor entendidos y varían ampliamente, éstos van desde la pérdida de la concentración,

de la memoria, disturbios del habla, depresiones, irritabilidad, mareos, vómitos, convulsiones, deficiencias respiratorias, arritmias cardíacas, pérdida del conocimiento y en casos extremos coma y la muerte (Wilkinson, 1991). También tienen efectos sobre el sistema digestivo y cardiovascular, interfieren en los procesos de formación de la sangre y producen diversas hemopatías, alteraciones metabólicas y hormonales (Bárcenas y Albert, 1990; Rendon von Osten y Albert, 1990).

Las mutaciones, el cáncer, las malformaciones congénitas y la esterilidad son también consecuencia de la exposición a diversos tipos de plaguicidas; sin embargo, estos aspectos han recibido poca atención, no obstante los riesgos que implican para la salud (Cortinas de Nava, *et al*, 1984). Por otro lado, los conceptos que de estos fenómenos se tienen se encuentran frecuentemente desvirtuados. A continuación se describen someramente.

La mutación: los cambios que sufre el ADN, tanto en calidad como en cantidad, son conocidos como mutaciones. Las mutaciones pueden ser clasificadas en letales, subletales, neutras y ventajosas, según el daño que producen. Considerando el tipo de modificación que el ADN sufre, se han

agrupado en mutaciones génicas y en mutaciones cromosómicas.

Las mutaciones génicas afectan en uno ó pocos de los nucleótidos que son los componentes básicos de un gen, de tal modo que los nucleótidos pueden ser eliminados, añadidos o sustituidos.

Las mutaciones cromosómicas son aquellas que involucran cambios en el número de cromosomas ó en la ubicación y número de genes que se encuentra dentro de un cromosoma.

La importancia de la mutación radica en el hecho de que ocasionan daños relacionados con diversos padecimientos incluyendo cáncer de diversos tipos, viabilidad reducida y la posibilidad de producir genes deletéreos recesivos que causen nuevas enfermedades (Cortinas de Nava, *et al.*, 1984).

El cáncer constituye otro riesgo y posiblemente uno de los más comunes, dada la cantidad de referencias que existen en torno a la exposición laboral o accidental a sustancias tóxicas.

El término cáncer se refiere a un grupo grande de tumores malignos que aparecen en diferentes órganos del hombre y de todos los seres.

Los tumores se originan cuando una célula normal se transforma en maligna (en donde una mutación puede ser una de

las causas). Una vez transformada la célula, ésta se divide sin control, hasta formar las masas celulares que caracterizan a los tumores.

El cáncer constituye una causa importante de mortalidad en muchos países y algunos agroquímicos son cancerígenos comprobados aunque el conocimiento acerca del potencial real de la gran mayoría de estos compuestos se desconoce (Lamb IV, 1989; Smith y Bates, 1989).

Las malformaciones congénitas: se conocen numerosos padecimientos de origen genético y otros no genéticos cuya característica es la presencia de individuos con múltiples anormalidades corporales. Este fenómeno es conocido como teratogénesis.

Las malformaciones congénitas pueden tener su origen principalmente en fallas en la movilidad y diferenciación celular durante el desarrollo ontogénico; en alteraciones en la tasa mitótica y en la muerte celular, como consecuencia de la presencia de diversos agentes citotóxicos (Kitos y Suntornwat, 1992)

Los efectos teratogénicos de los plaguicidas han sido relativamente poco estudiados y circunscritos a pequeños mamíferos, aves y peces. Sus relaciones con las

malformaciones en seres humanos no han sido comprobadas, sin embargo existen evidencias de mujeres embarazadas expuestas a organofosforados como el oxidemeton metil que tuvieron niños con múltiples malformaciones al nacimiento (Romero, *et al*, 1989).

Otra consecuencia es la esterilidad y los abortos: la esterilidad o pérdida de la fertilidad como consecuencias de exposición a sustancias químicas es un fenómeno que se presenta con relativa frecuencia, lo que ha dado lugar a la identificación de algunos productos directamente relacionados con estas anormalidades, tal es el caso del Dibromo Cloro Propano (DBCP) (Whorton y Foliart, 1983) y existen evidencias de que pesticidas carbámicos y otros como el Oxido de etileno y Triclorfon inducen daños a órganos reproductivos que posteriormente conducen a la esterilidad (Lamb IV, 1988).

La esterilidad puede resultar de la alteración de los sistemas metabólicos relacionados con el funcionamiento de las células germinales, en trastornos hormonales producidos por daños a los sistemas glandulares y en lesiones renales que ocasionalmente conducen a una atrofia gonadal (Mattison *et al.*, 1991).

## SISTEMAS DE PRUEBA

El potencial toxicológico que los pesticidas tienen para los organismos vivos ha sido tradicionalmente evaluado a través de la llamada dosis letal (LD50) por medio de la cual se determina la concentración a la cual la mitad de los organismos mueren por exposición directa y la concentración letal (CL50), que se define como la concentración media del ingrediente activo a la cual mueren el 50% de los organismos de prueba (sean éstos peces, ratas, ratones, cobayos, etc.) en un tiempo dado (CICOPLAFEST, 1993).

Otro aspecto importante a considerar dentro de la toxicología de los pesticidas son los riesgos mutagénicos que éstos implican para la salud humana y los cuales han sido extensamente estudiados a través de diversos sistemas de experimentación tales como: bacterias (prueba de Ames), la transformación *in vitro*, y la activación metabólica (Nagao y Sugimura, 1978); en levaduras (*Saccharomises cerevisiae*); cultivos de líneas celulares (ratones, hamster, humanos) y cultivos de células de médula ósea y linfocitos de mamíferos incluyendo al hombre.

Otros sistemas de pruebas para evaluar el daño genético de los agroquímicos incluyen el "locus" específico,

translocaciones heredables y dominantes letales (Dearfiel *et al.*, 1991).

Los cultivos de células de mamíferos han permitido el desarrollo de los análisis citogenéticos por medio de los cuales se evalúa la genotoxicidad de las sustancias a partir de aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas y más recientemente el análisis de micronúcleos y núcleos atípicos (heteropícnóticos, reticulados, etc.). Dichas alteraciones están relacionadas con procesos de muerte celular y otras anormalidades.

La utilización de estos bioensayos ha resultado ser particularmente valiosa por ser altamente sensibles y confiables para investigar el potencial mutagénico de contaminantes químicos, físicos y biológicos. Son importantes por que proporcionan información directa del daño que sufre el material genético de las células eucariontes cuando son expuestos a cualquier tipo de contaminante.

Considerando la calidad y la cantidad de los pesticidas que son utilizados en los diversos municipios del Estado de Baja California, así como los problemas ecológicos generados por el uso indiscriminado del que son objeto, es importante conocer la problemática actual en el Estado. Así mismo

realizar estudios sobre la genotoxicidad de los agroquímicos más utilizados y para los cuales no se hayan realizado pruebas por medio de las técnicas citogenéticas antes mencionadas.

En el presente trabajo se abordan algunos de los planteamientos anteriores, considerando que: a) en el Estado existe poco o ningún control sobre el uso de agroquímicos, b) se aplican pesticidas altamente tóxicos como el Carbofuran, Oxidemeton-metil, Azinfos metílico, Disulfoton, Methamidophos, entre otros muchos. c) se carece de las medidas de seguridad mínimas indispensables para los trabajadores que aplican los pesticidas y, d) ha sido detectada la presencia de pesticidas en diferentes ecosistemas.

Por tal motivo, se realizó una investigación de laboratorio que permitió conocer el daño citogenético que producen los pesticidas Azinfos-metílico y el Oxidemeton-Metil, ambos de amplio uso en Baja California y los cuales han sido considerados por los riesgos que su manejo implica para la salud. Adicionalmente se llevó a cabo una investigación de campo que brindó un panorama general del uso de plaguicidas en los campos agrícolas del municipio de Ensenada.

## ANTECEDENTES:

El uso de plaguicidas constituye una práctica que data del año 400 antes de Cristo, cuando en Persia se empezaron a utilizar las flores de piretro para controlar algunas plagas de insectos. Hasta 1848, el uso de plaguicidas se basó en la utilización de productos de origen natural, incluyendo azufre, arsenitos, tabaco, entre otros (Loera y Albert, 1990). Posteriormente con el desarrollo de la revolución industrial y de algunas ciencias como la química y la agricultura se incorporaron compuestos inorgánicos tales como sulfato de cobre mezclado con cal (mezcla de Burdeos), acetoarsenito de cobre (verde de Paris) y otros como el bromuro de metilo. Finalmente es a partir de la segunda mitad de este siglo cuando se desarrolla el uso masivo de plaguicidas, apareciendo primero los compuestos organoclorados, luego los organofosforados, carbamíticos y piretroides, además de una amplia gama de otros plaguicidas. A la fecha el uso de plaguicidas constituye una práctica indispensable ante la necesidad de seguir produciendo alimentos y la amenaza que representan las más de 20,000 plagas de insectos, hongos, malezas, nemátodos, bacteria y virus que atacan constantemente a los cultivos y generan la

pérdida de alrededor del 30-40% de las cosechas mundiales (Gómez-Arroyo *et al.*, 1992; Melo-Manzur, 1993).

El uso masivo e indiscriminado ha generado problemas adicionales a aquellos relacionados con la salud de los seres vivos y de la contaminación de los ecosistemas. Actualmente existen más de 600 plagas resistentes a los plaguicidas (Restrepo, 1988), grandes extensiones de tierras, tanto en México, como en otros países se han vuelto improductivas y en ello han influido la enorme cantidad de plaguicidas vertidos al ambiente que además de combatir plagas, eliminan organismos benéficos, incluyendo aquellos involucrados en la degradación de la materia orgánica y aeración del suelo (Restrepo, 1988).

En México el uso intensivo de plaguicidas se inicia en los años cuarentas, con los sistemas de agricultura intensiva de la llamada Revolución Verde. A partir de entonces su uso ha sido indiscriminado. En la actualidad se continúan usando pesticidas con un alto grado de toxicidad como Aldicarb, Clordano, Malation, Paration y Paraquat, los cuales ocasionan fuertes problemas de salud pública y daños a los ecosistemas, ecosistemas, lo que a dado lugar a la exclusión de ellos en países, tales como Holanda, Suiza, Ecuador y Nicaragua.

Se calcula que en México se comercializan al menos seis de los pesticidas prohibidos por la Organización Mundial de la Salud y son utilizados más de una decena de pesticidas que han sido declarados como altamente riesgosos para la salud humana y el ambiente por la "Pesticide Action Network International" (PAN). En contra de ellos se han emprendido campañas para eliminar su producción y comercialización (Siedenburg, 1991). Algunos son fabricados en México a pesar de que la Ley de Equilibrio Ecológico establece claramente en su capítulo III, artículo 14, que no se otorgarán permisos para la importación de los pesticidas y sus tecnologías que hallan sido restringidos en otros países.

Las consecuencias más palpables del uso y abuso de los agroquímicos se han manifestado de diferentes formas. A través de envenenamiento masivos producidos por el uso de pesticidas extremadamente tóxicos, como los ocurridos en México por Paratión en 1968, en Córdoba, Veracruz (1991) y recientemente en Los Mochis, Sinaloa. (1993). Estos últimos como consecuencias de incendios en los centros de producción y almacenamiento respectivamente. Por otra parte, las detenciones de embarques de productos agrícolas ha sido más frecuente, tan solo en 1988 más de 50 embarques fueron

regresados por no reunir los requisitos de seguridad indispensable para su consumo (Moreno, 1991).

La contaminación de diversos ecosistemas y degradación de la calidad de vida de sus habitantes así como la desaparición de especies de insectos y fauna benéfica de los agrosistemas además del surgimiento de plagas altamente resistentes a los agroquímicos han despertado el interés de la sociedad en general.

De acuerdo a los trabajos de Rincón y Loera (1986) la problemática general del país sobre el uso de los pesticidas se resume a seis puntos:

- 1.- "El uso de pesticidas en México es indiscriminado y masivo en términos generales, con el predominio de productos peligrosos restringidos en otros países";
- 2.- Existe una tendencia para la importación de tecnologías obsoletas y peligrosas;
- 3.- La población de alto riesgo comprende, principalmente menores de edad, mujeres, pobladores de rancherías aledañas a los campos agrícolas;
- 4.- Indirectamente, prácticamente toda la población del país está expuesta a plaguicidas;
- 5.- Los plaguicidas han alterado considerablemente la estabilidad de los ecosistemas naturales
- y 6.- Existen deficiencias para el control de la producción,

distribución y uso de los plaguicidas.

Baja California se ha caracterizado por la alta productividad agrícola de algunos de sus valles, como los de Mexicali, que en su momento fue el mayor productor de algodón a nivel nacional.

En el municipio de Ensenada la actividad en el campo es significativa. El número de productores supera los 4000, de los cuales 3,472 emplean riego y el resto trabaja de temporal. El valor de la producción en 1993, tanto de riego como de temporal superó los 263 millones de nuevos pesos (Avance del Plan de Cultivo, documento no publicado S.A.R.H., 1994) y se cultivaron más de 50 especies en una superficie de 45,000 hectáreas (Quezada, 1994, Departamento de Informática de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, comentario personal).

Entre las principales zonas agrícolas de la costa de Baja California se encuentran el Valle de Guadalupe, famoso por su vid, Valle de Maneadero que ha mantenido la producción de una gran variedad de hortalizas y los Valles de Camalú y San Quintín, donde se producen anualmente grandes cantidades de tomate.

En menor escala, sin que su productividad deje de ser

significativa, se encuentran el Ejido Uruapan, Eréndira, Colonet, Colonia Vicente Guerrero y San Telmo, donde se producen cereales como el trigo, cebada, avena y hortalizas entre los que destacan el tomate, repollo, chícharo, chile, pepino, col; frutas como sandía, melón, fresa, y diversas variedades de flores y semillas.

En buena medida, la alta eficiencia de la agricultura de la costa se ha basado en la utilización de diversos agroquímicos, incluyendo insecticidas, fungicidas, herbicidas nematocidas y rodenticidas, además de una gran variedad de fertilizantes.

La agricultura de la región se considera que es de las más desarrolladas del país debido a la cercanía con los centros más importantes de innovación tecnológica en California, E.U.A., a la presencia de trasnacionales y a las relaciones comerciales que se establecieron entre ambos países.

En Baja California existen múltiples contradicciones, en cuanto a que aquí se conjugan características de los países desarrollados con los que están en vías de desarrollo: pero en lo referente al manejo de agroquímicos parece ser que no escapa a las condiciones señaladas para el país en general.

No obstante mucha de la producción es exportada hacia el mercado de los Estados Unidos de Norteamérica.

Segun la información obtenida de diversos agricultores, la historia del uso de plaguicidas en la zona es la misma que para otras regiones del país y del mundo. Se inicia con la utilización de compuestos inorgánicos a base de azufre y mercurio, las sales de plomo y de algunos derivados de plantas como el queronseno y la nicotina.

Durante los años cuarentas son introducidos a la región los compuestos organoclorados como el DDT y otros derivados de los bifenil-policlorados (BPC) los cuales han causado daños al ambiente y a los organismos que en él se desarrollan incluyendo al hombre, lo que dió lugar al nacimiento del movimiento ecologista durante los años sesenta. Como resultado, éstos han sido gradualmente sustituidos por compuestos no menos tóxicos del tipo de los organofosforados, carbámicos y toda una generación de plaguicidas de los cuales los más recientemente incorporados son los piretroides, plaguicidas sintéticos análogos de productos naturales obtenidos a partir de vegetales.

Desde la introducción de los compuestos organoclorados hasta la comercialización de los piretroides han pasado cerca

de cincuenta años, período en el que se han acumulado una gran variedad de compuestos químicos. A la fecha continúan apareciendo nuevos productos.

De acuerdo con información proporcionada por la S.A.R.H., en 1991 en la zona costa se utilizaron cerca de un millon de kilogramos de pesticidas. Cantidad que se considera subestimada ya que dichas estimaciones están basadas en los pesticidas más utilizados, puesto que las cifras totales de los plaguicidas aplicados en la zona costa no son fácilmente cuantificables y por ello solo se hacen aproximaciones. El número de pesticidas que son utilizados en el Municipio de Ensenada tampoco puede ser cuantificado con exactitud, sin embargo de acuerdo a cálculos basados en la información proporcionada por dependencias oficiales, distribuidores y agricultores, indican la utilización de alrededor de 85 principios activos que se comercializan en más de 150 plaguicidas diferentes. De estos el 46% son insecticidas, el 33% fungicidas y el 21% restante comprenden herbicidas, nematicidas y rodenticidas. Cabe destacar que aunque los nematicidas comprenden solo 5% de los plaguicidas utilizados, compiten tanto en cantidad como en toxicidad con los primeros.

Los nematocidas más utilizados son: Aldicarb, Carbofuran y Fenamifos. Ellos se caracterizan por el daño que producen sobre la salud y por los efectos nocivos que tienen sobre los organismos de los diversos ecosistemas. Los dos primeros están siendo sometidos a una severa revisión por parte de la E.P.A., debido al potencial cancerígeno que representan, independientemente de que el primero produce toxicidad aguda comprobada (Doull, 1989) y es causante de varios envenenamientos masivos, de los que resaltan el ocurrido en 1985 en los Estados Unidos, donde cerca de 1350 personas fueron afectadas y algunas de las cuales fallecieron (Levine, 1991). Aldicarb es un pesticida que ha sido prohibido por la Organización Mundial de la Salud. En cuanto al Carbofuran (Furadan), son bien conocidos los efectos que tiene sobre la vida silvestre. Muillie *et al.* (1991) observaron una significativa reducción de insectos benéficos, anfibios y aves, incluyendo la mortalidad de éstas últimas después de aplicar Furadan 3G. Observaciones adicionales dejaron ver una ausencia total de insectos y aves durante casi un mes posterior a la aplicación.

El Fenamifos por su parte, es un producto restringido por la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos

(Mouses 1991). Los tres productos antes mencionados son catalogados con categoría toxicológica I (altamente tóxicos) y cálculos muy conservadores señalan la utilización de cerca de 200,000 kg de dichos productos en cultivos de los Valles San Quintín y Maneadero. Según el Diario Oficial de la Federación y el Catálogo Oficial de Plaguicidas emitido por la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST 1993), el Carbofuran y el Fenamifos no deberían ser aplicados a cultivos de chile, repollo y tomate, pero a pesar de ello se aplican. Lo mismo sucede con el Aldicarb en tomate y chile.

La información proporcionada por diversas casas comercializadoras, agricultores y dependencias oficiales permitió hacer una estimación aproximada de los insecticidas utilizados: existen al menos 85 productos, pertenecientes a 35 principios activos. El 54% de ellos corresponde a compuestos organofosforados, 20% son carbámicos, 14% piretroides, 6% organoclorados y el 6% restante comprenden insecticidas biológicos y de otros tipo.

Muchos de estos insecticidas se caracterizan por su alto grado de toxicidad, por ejemplo: los compuestos

organofosforados como el Fosfamidion, Azinfos-metílico, Demeton, el Oxidemton-metil y el Paration; los carbámicos, Carbofuran, Sevin, Metomilo, los organoclorados; Endosulfan y Dicofol. Así mismo existen evidencias experimentales de que algunos piretroides como la Permetrina, Fenvalerato, Deltametrina y Cipermetrina inducen daños al material genéticos en los seres humanos (Cruz y Cagauan, 1981; Behera y Bhunya, 1987; Bhunya y Pati, 1988; Natarajan, 1989; Pandey, *et al.*, 1990).

Muchos de los insecticidas utilizados en el Estado se caracterizan por un largo historial relacionado con envenenamientos masivos que conducen eventualmente a la muerte prematura, a la esterilidad y en términos generales a la disminución de la calidad de vida de los individuos y de los ecosistemas. Por ejemplo, el insecticida Paration es responsable de más de 13 intoxicaciones masivas con cerca de diez mil envenenados (Levine, 1991) y alrededor de 200 muertes según datos oficiales, cifras muy por debajo de las que se pueden encontrar en la bibliografía.

El Carbofuran es un insecticida y nematocida de origen carbámico que es ampliamente utilizado, se aplican mas de 170,000 kg en San Quintín y en Maneadero, según datos de la

S.A.R.H., (1991). Es bien conocido por producir alteraciones fisiológicas y reproductivas sobre los organismos vivos de diferentes ambientes (Verma y Tonk, 1984; Johnson, 1986; Mullie *et al.*, 1991) y el Carbaril, insecticida carbámico con un uso muy extendido (16,975 Kg) es conocido por sus efectos mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos (Doull, 1989). También se le ha relacionado con la esterilidad en personas que han mantenido contacto laboral (Wilkinson, 1990). El Oxidemeton metil (Metasistox), es un producto extensamente utilizado en cultivos de papa, cebolla (Díaz, O. B., 1992. comentario personal, departamento de Entomología, I.N.I.F.A.P). Metasistox se caracteriza por los efectos tóxicos que tiene sobre diversos organismos incluyendo bacterias, levaduras, moluscos y peces (Wild, 1975; Verma y Tonk, 1984; Muley *et al.*, 1987; Natarajan, 1989). Existen informes de malformaciones congénitas en hijos de mujeres expuestas al producto durante las labores del campo (Romero *et al.*, 1989). Por otra parte, los efectos que el Oxidemeton-metil tiene sobre el medio ambiente han sido también muy bien documentados (Verma y Tonk, 1984; Muley *et al.*, 1987; Preiss *et al.* 1986, Jhon *et al.*, 1990).

Insecticidas como el Demeton, que es utilizado en

cultivos de la vid; el Diazinon que es aplicados a cebolla, lechuga, chile y calabaza; el Mevinfos (Phosdrin) que es utilizado en chícharo, sandía, pepino, papa, tomate, frijol, lechuga, maíz y uva; el Metamidofos que es aplicado a tomate, papa, brocoli y chile. todos ellos son la causa de evenenamientos masivos significativos en Egipto, Estados Unidos y Vietnam (Amer y Sayed, 1987; Levine, 1991).

Otros pesticidas utilizados en grandes volúmenes y cuyos efectos carcinogénicos y teratogénicos han sido observados, incluyen el Diclorvos, compuesto del cual se aplicaron más de 27,000 kg en el Valle de San Quintín, el Triclorfon, (Doull, 1989), el Monocrotophos (Tripathy y Patnaik, 1992), el Asafat (Behera y Bhunya, 1989) y el Naled (Doull, 1989).

De los pesticidas cuyos efectos negativos al ambiente han sido ampliamente investigados y los cuales son utilizados en diferentes grados en la costa el Baja California, Sevin (khazraju *et al.*, 1984; Ramasawami 1990), Disyston (Sherkar y Kulkarni, 1988) y el Azinfos-metílico o Gusation (Baticadas y Tendencia, 1991).

Entre los estudios más recientes sobre la genotoxicidad de algunos insecticidas se encuentran los del grupo de los

piretroides, plaguicidas sintéticos, de los cuales Permetrina, Cipermetrina, Deltametrina y Esfenvalerato son utilizados en los campos agrícolas de Baja California. De estos se ha encontrado que la Cipermetrina, Deltametrina, y el Fenvalerato producen daño genético y malformaciones en espermatozoides (Bunyha y Pati, 1988; Surreales *et al.*, 1990). Estos son los principales insecticidas utilizados en el municipio y los que mayor riesgo representan para el ser humano y el medio ambiente.

Por lo que a los herbicidas se refiere, según la información obtenida, la utilización de éstos no es significativa. Sin embargo se tienen referencias del uso de herbicidas altamente tóxicos como el Paraquat, el cual se aplica en cultivos de tomate y papa. Paraquat es uno de los plaguicidas prohibidos por la Organización Mundial de la Salud (O.M.S.).

Otros herbicidas utilizados con efectos nocivos, son el Oxifluorfen, Trifluoralina y herbicidas del grupo de las atrazinas (Doull, 1989; Meisner *et al.*, 1992).

Según la información, obtenida los fungicidas representan los agroquímicos más utilizados en el municipio de Ensenada, no obstante que algunas fuentes informativas subestiman estas

afirmaciones. De los fungicidas utilizados existen algunos de reconocida toxicidad, como el Captan, Maneb, Zineb y el Mancozeb, los cuales son utilizados en cultivos de tomate, papa, cebolla y calabaza entre otros muchos. Otros fungicidas potencialmente cancerígenos son: PCNB (Terrazan o Quintoseno), Fosetil-al, y Dinocap del que se sospecha produce malformaciones en la descendencia. Estos plaguicidas están siendo investigados por la E.P.A.

En cuanto a los sistemas de pruebas utilizados para la evaluación de la toxicidad, se menciona que éstas se han basado principalmente en la Dosis Letal (DL50) y la Concentración Letal (CL50), las cuales ofrecen información limitada y no proporcionan datos sobre los efectos mutagénico, carcinogénicos y teratogénico.

Sin embargo no son las únicas pruebas consideradas y en países como Estados Unidos, Canadá, el Reino Unido y toda la Comunidad Económica Europea, existen una batería de pruebas que constituyen importantes herramientas para determinar la permanencia en el mercado no sólo de los plaguicidas, sino de todas aquellas sustancias que impliquen un riesgo para la salud.

Entre estas pruebas se encuentran la de Ames con

*Salmonella* y pruebas para la determinación de mutación "in vitro" en células de mamíferos para el caso de mutación génica. También existen bioensayos "in vitro" e "in vivo" para el caso de daños cromosómicos y dentro de los que se incluyen pruebas para aberraciones cromosómicas y micronúcleos.

Para evidenciar riesgos heredables existen las pruebas de dominantes letales, traslocaciones heredables y locus específico

Las pruebas de toxicidad basadas en los análisis cromosómicos han sido utilizadas desde finales de los años sesentas como métodos para evaluar daño genético de diversos compuestos químicos (Stone, et al., 1969). Durante los años setentas se incorporan las técnicas de Intercambio de Cromátidas Hermanas y Micronúcleos. Actualmente estas técnicas son intensamente utilizadas para evaluar el potencial mutagénico que representan para el ser humano diversos agentes físicos como radiaciones ionizantes del tipo de los rayos X (Falkvoll, 1990; Gatemberg et al., 1991) y campos electromagnéticos (Nordenson, et al., 1988; Scarfi et al., 1991), aditivos para alimentos (Jeminson et al., 1984), farmacos (Cortinas de Nava et al., 1984) y

disolventes orgánicos (Villalobos-Pietrini *et al.*, 1989; Meng y Zhang, 1990; Maky-Paakkanen *et al.*, 1991).

El análisis de micronúcleos ha llamado la atención por la sensibilidad y seguridad para detectar el potencial mutagénico de las sustancias tóxicas (Evans, 1982; Norman *et al.*, 1985; E.P.A., 1988; Braithwaite y Ashby, 1988; Adhikori y Grover 1988). La E.P.A. ha montado un programa nacional de evaluación de mutagenesis ambiental basado en estas pruebas (Heddle *et al.*, 1983).

Algunos efectos genotóxicos que tienen los pesticidas sobre el ser humano son conocidos desde finales de los sesentas y existen una gran cantidad de recopilaciones bibliográficas con cientos de citas sobre el manejo de los pesticidas, sus efectos sobre los ecosistemas, exposición laboral y sus efectos sobre la salud humana (Boletín de Efectos Carcinogénicos, Teratogénicos y Mutagénicos, I.I.B, U.N.A.M., 1980; La Comisión Intersecretarial para el Desarrollo e Investigación sobre Contaminación Ambiental por Plaguicidas 1985).

Entre los pesticidas que se caracterizan por incrementar la frecuencia de aberraciones cromosómicas, así como de intercambio de cromátidas hermanas, micronúcleos y

anormalidades en células germinales, se encuentran Methamidophos, (Amer y Sayed, 1987), Curacron, (El-Nahas et al., 1988) Dimecron (Behera y Bhunya, 1987) Endosulfan (Pandey et al., 1990), el Metil-Paration (Mathew et al., 1990) y Diazinon (Altamirano-Lozano y et al., 1989). Estudios recientes muestran que plaguicidas del tipo de los piretroides tales como Cipermetrina, Deltameltrina y Esfenvalerato, producen daños a cromosomas e incrementan la frecuencia de micronúcleos en linfocitos humanos (Buyha y Pati, 1988; Surreales, et al., 1990)

En esta tesis se utilizaron micronúcleos en células mononucleadas y micronúcleos en células binucleadas, aberraciones cromosómicas, índice mitótico y heteropicnosis como indicadores de genotoxicidad de Azinfos metílico (Quiazinfos) y Oxidemeton metil (Metasistox). Los citados pesticidas son utilizados frecuentemente y en grandes cantidades en los valles de San Quintín y Maneadero.

Los criterios para seleccionar dichos agroquímicos están dado por los riesgos mutagénicos, carcinogénicos que pueden implicar para el humano, las grandes cantidades que se aplican en los diversos cultivos de la región y por los antecedentes sobre impactos negativos que tienen sobre los

diversos ecosistemas.

Las características más importantes de estos pesticidas y que dieron lugar a su selección son las siguientes:

OXIDEMETON-METIL:0,0,dimetil-S2 [etilsulfinil] fosforotioato.

Insecticida organofosforado de categoría toxicológica II (Altamente tóxico) Su presentación comercial disponible es Metasistox R. La dosis letal oral y cutánea para rata es de 75 mg/Kg y 250 mg/Kg, respectivamente. Se hace uso excesivo de este agroquímico principalmente en cultivos de cebolla, papa y pepino (información proporcionada por Díaz Ortiz, 1991, Programa de Entomología del Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias de Ensenada). Los efectos mutagénicos que el Oxidemeton-metil tiene sobre diversos organismos que incluyen: bacterias, levaduras, moluscos y peces han sido plenamente comprobados (Wild, 1975; Verma y Tonk, 1984; Muley *et al.*, 1987; Natarajan, 1989;). También se ha establecido una posible relación de este pesticida con la aparición de malformaciones congénitas en los productos de mujeres que estuvieron expuestas durante el embarazo (Romero *et al* 1989).

La genotoxicidad del Oxidemeton-Metil para seres humanos la ha sugerido Ladhar *et al.* (1989), sin embargo no se

se encontraron referencias que corroboren dicha propuesta. Por dicha razón y dada la escasa información referente a los posibles daños genéticos que provoca el Oxidemeton metil en humanos, ha escogido como tema de investigación.

AZINFOS-METILICO: Fosforodiotioato de 0,0 dimetil [(4-oxo1,2,3, benzotriazina-3,4-H-il) metil]-ditioposfato.

Insecticida organofosforado de categoría toxicológica I (extremadamente peligroso) según información de los catálogos comerciales y categoría toxicológica II de acuerdo al Diario Oficial de la Federación, 1991. La ingestión diaria permitida es de 0.0025 mg/Kg y la dosis letal vía oral y cutánea en rata es de 10 a 155 mg/Kg y mayor de 250 mg/Kg. Para el segundo lo que significa que es letal en ratas a dosis 5 o 7 veces menores que el oxidemeton metil. Las cifras oficiales señalan la aplicación de más de 60,000 kg de Azinfos-metílico, gran parte de éstos son aplicados en el Valle de San Quintín (S.A.R.H., 1991, documento interno inédito). Los cultivos a los que se les aplica son: tomate, chile y col de bruselas. Algunos estudios señalan su toxicidad la cual se ha demostrado en algunos organismos acuáticos por ejemplo moluscos (Baticadas y Tendencias, 1991). Sin embargo falta por evaluar si es genotóxico para el

ser humano y por ello se le escogió para el trabajo de esta tesis.

## OBJETIVOS

I.- Realizar una investigación de campo y una revisión de la literatura para conocer cuales son los plaguicidas más utilizados, problemas en torno a su manejo y sus efectos sobre la salud humana y el ambiente.

II.- Evaluar el daño genético que producen en linfocitos humanos cultivados los pesticidas Azinfos-metílico y Oxidemeton metil.

III.-Determinar los tipos de daños genéticos y sus frecuencias que son provocados por los dos pesticidas citados. Así mismo comparar dichos datos con los obtenidos de testigos positivos y negativos.

## MATERIALES Y METODOS

En el presente trabajo se desarrollaron tres puntos:

- 1) Investigación bibliográfica. Esta parte del trabajo consistió básicamente en consultar y revisar la literatura en las bibliotecas de la Universidad Autónoma de Baja California (U.A.B.C.), Centro de Investigaciones Científico y Estudios Superiores de Ensenada (C.I.C.E.S.E.), San Diego State University (S.D.S.U.) y la biblioteca de Biomédicas de la Universidad de California en San Diego (U.C.S.D.). Mediante esta revisión se logró obtener información en torno a los pesticidas y sus efectos mutagénicos, carcinogénicos teratogénicos y reproductivos, entre otros aspectos relacionados con daños a la salud humana y al ambiente. Así mismo se investigó los mecanismos legales que son requeridos por las dependencias de los Estados Unidos y de México para la regulación y control del uso y manejo de los agroquímicos.
- 2) Investigación de campo: Se realizó trabajo de campo con el propósito de conocer las condiciones bajo las cuales son utilizados los agroquímicos en la zona costa de Baja California. Esto incluyó aspectos tales como: el tipo de plaguicidas utilizados, seguridad de los trabajadores, control legal en torno a la venta y aplicación en los

diversos cultivos. Para esto, se realizaron entrevistas con distribuidores, ingenieros agrónomos, agricultores y personal de dependencias gubernamentales como INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias), SARH (Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos), SSA (Secretaría de Salubridad y Asistencia) y SEDESOL (Secretaría de Desarrollo Social).

3) Pruebas de laboratorio para evaluar la genotoxicidad del Oxidemeton metil (Metasistox R-25) y Azinfos metílico (Quiazinfos): en lo que se refiere a esta parte del trabajo, se evaluó el Índice Mitótico, el cual ha sido considerado como un parámetro importante para evaluar citotoxicidad (Altamirano y Lozano, 1989); presencia de micronúcleos en células mononucleadas y binucleadas, sistema de prueba que ha sido incorporado como una herramienta para conocer el potencial mutagénico de sustancias químicas y físicas (Fenech y Morley, 1985; Pascoe y Stemp, 1990; Surreales, *et al.*, 1990; Migliore *et al.*, 1991), y la presencia de aberraciones cromosómicas.

Para realizar las pruebas se adquirieron los pesticidas en una casa comercial. Azinfos metílico se obtuvo bajo el nombre de Quiazinfos M-200 al 20% con un equivalente a 200 gr

i.a./l (ingrediente activo/l), formulado por Quimical S. A. de C. V.

Oxidemeton metil se compró bajo la marca de Metasistox R-25 al 23.10 % (equivalente a 250 gr de i.a./l y elaborado por Bayer de México S. A. de C. V.

### Indice Mitótico

La técnica de cultivo de linfocitos utilizada, fue la descrita por Arakaki y Sparkes (1963), modificada por León Cázares (Márquez, Comentario personal), la cual consiste en colocar en tubos de ensayo de 12 X 100, 1 ml de medio McCoy 5A modificado, 0.05 ml de fitohemaglutinina, 1 gota de antibiótico (Penicilina- Estreptomina 1:1) y 0.5 ml de sangre periférica de un donador voluntario. Se aplicó Azinfos-metílico (QUIAZINFOS) a concentraciones de 200, 100, 50 y 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  a un grupo de cultivos y de manera independiente se aplicó Oxidemeton- metil (METASISTOX R-25) a concentraciones de 125, 62, 25, 12.5 y 3  $\mu\text{g}/\text{ml}$  a otro grupo de cultivos. También se preparó una serie de testigos a los cuales no se les agregó ningún plaguicida. En todos los casos se hicieron las pruebas por triplicado. Estas muestras fueron incubadas durante 72 horas a 37°C. A las 71 horas se les agregó tres gotas de colchicina preparada a una

concentración del 1%, se reincubó y a las 72 horas se procedió a centrifugar los tubos con cultivos a 1000 rpm durante ocho minutos, después se eliminó el medio de cultivo, se añadieron 5 ml de KCl 0.075 M y se reincubaron durante 15 minutos. Luego se volvió a centrifugar a 1000 rpm y se eliminó el sobrenadante cuidando de mantener intacto el paquete celular. Posteriormente las células fueron fijadas con ácido acético y metanol (1:3) durante 10 minutos, luego se centrifugaron bajo las condiciones ya citadas. Este paso se repitió hasta obtener un botón celular blanquecino.

Con el material precipitado se procedió a hacer preparaciones por goteo y fijado a la flama. Posteriormente se tiñeron con colorante Giemsa al 2% preparado con solución amortiguadora de Sorensen y agua destilada en una proporción de 1:2:47.

#### Prueba de Micronúcleos

Para establecer las condiciones para evaluar la frecuencia de micronúcleos se requirió llevar a cabo una serie de ensayos que a continuación se describen:

Se realizarón 15 cultivos los cuales fueron divididos en 5 grupos de tres. Siguiendo la técnica descrita previamente, se esperaron 48 horas para agregar Citocalacina B a una

concentración final de 3  $\mu\text{g/ml}$ , diluída en agua desionizada y estéril. La cosecha se inició transcurridas las 72 horas.

A cada grupo de tres cultivos se le dio el siguiente tratamiento:

Grupo 1.-Transcurridas las 72 horas de cultivo y a 24 horas después de haberse añáddo Citocalacina B, se tomó el cultivo y se resuspendió el paquete celular en el medio e inmediatamente se fijó directamente con ácido áctico y metanol (1:3) por tres ocasiones sucesivas. Posteriormente se hicieron preparaciones y se tiñeron.

Grupo 2.-El paquete celular fue resuspendido lentamente en una solución hipotónica de KCl 0.075 M mezclada cuidadosamente y reincubada durante 5 minutos antes de fijar de la misma forma que se describió en el grupo 1.

Grupo 3.- El Paquete de células fue resuspendido en una solución semi-hipotónica de citrato de sodio al 1%) y se reinreincubó durante 5 minutos. La técnica utilizada es aquella descrita por Pascoe y colaboradores (1990). Posteriormente se fijó de la manera citada y se hicieron preparaciones.

Grupo 4.-El Paquete celular fue resuspendido en medio McCoy 5A mod. y fijado inmediatamente.

Grupo 5.-El paquete celular fue resuspendido en una solución amortiguadora de Sorensen [partes iguales de  $(\text{Na}_2\text{HPO}_4)$  a 10.025 M y  $(\text{KH}_2\text{PO}_4)$  0.25 M] a 37°C. Después se fijó y luego se hicieron preparaciones.

La mejor alternativa es la que se describe a continuación con mayor detalle:

El cultivo de células se desarrolló de la mismo forma que la descrita para el análisis del índice mitótico y aberraciones cromosómicas. Los plaguicidas fueron aplicados al inicio del cultivo y en las mismas concentraciones que las citadas para determinar el índice mitótico y aberraciones cromosómicas (200, 100, 50 y 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  para el Azinfos metílico 165, 62, 25, 12, 6, y 3  $\mu\text{g}/\text{ml}$  para el Oxidemeton metil). Al igual que para los casos anteriores, las pruebas se realizaron por triplicado y con sus respectivos testigos.

Una vez hecho el cultivo e incubado, se esperó 48 horas para agregar Citocalacina B a una concentración de 3  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (Pascoe y Stemp, 1990). Los cultivos fueron puestos nuevamente en una incubadora a 37°C por 24 horas. Una vez transcurrido este tiempo, el cultivo de células fue resuspendido en 1 ml de solución Amortiguadora de Sorensen. Los cultivos fueron fijados directamente en ácido acético

metanol (1:3) y no fueron tratados con soluciones hipotónicas. Después de fijadas las células y reposadas durante 15 minutos se procedió a centrifugar a 1000 rpm durante 8 min. Este paso se repitió hasta obtener un botón blanquecino.

Se hicieron preparaciones a partir de este material tomándolo con una pipeta Pasteur y depositándolo en un portaobjetos. Posteriormente se secó al aire. Previamente se realizaron ensayos para determinar mediante que tipo de tinción se obtenían mejores resultados. Las técnicas utilizadas fueron las siguientes:

a) Tinción con Giemsa al 2% preparado con solución amortiguadora de Sorensen y agua destilada en una proporción de 1:1:48. (las preparaciones fueron teñidas durante 10 min).

b) Con policromo diluido en amortiguador de Sorensen y agua destilada. Se teñieron durante 10 min.

c) Se aplicó la tinción de Feulgen recomendada por Pascoe y Stemp (1990) que consistió en teñir las preparaciones durante 10 min con el reactivo de Schiff, posteriormente se colocó en una solución de sulfato de sodio durante tres min, se enjuagó y se secaron al aire.

Los mejores resultados se obtuvieron con la tinción (a)

que es con Giemsa y sucesivamente fueron utilizadas durante todo el desarrollo del trabajo.

#### TESTIGO

Además de las pruebas para evaluar la genotoxicidad de los pesticidas se realizaron controles positivos que sirviera de referencia y para lo cual se utilizó Mitomicina C, que es un fármaco empleado para el tratamiento del cáncer y que se conoce daña cromosomas y que también produce formación de micronúcleos. Para esto se tomaron 11 tubos de ensayo y se realizaron cultivos de células bajo las condiciones antes mencionadas. Posteriormente se incubaron por 72 horas. Transcurridas 24 horas se agregó Mitomicina C a cuatro concentraciones diferentes: 0.010  $\mu\text{g/ml}$ , 0.019  $\mu\text{g/ml}$ , 0.030  $\mu\text{g/ml}$  y 0.038  $\mu\text{g/ml}$ . En todos los casos se realizaron duplicados. Adicionalmente se prepararon tres muestras testigos las cuales no fueron tratadas con Mitomicina C. La técnica de cosecha y preparación de laminillas fue exactamente la misma que se describió para micronúcleos.

#### ANÁLISIS MICROSCÓPICO

Índice Mitótico: Para la determinación de este parámetro se analizaron 3000 células para cada uno de los testigos y de los tratamientos, que fueron sólo tres concentraciones de

Oxidemeton-metil y tres de Azinfos-metílico. Se detectó que causaron muerte celular tres de las concentraciones de Oxidemeton metil, estas son: 125, 62 y 25  $\mu\text{g/ml}$  y una de Azinfos-metílico (200  $\mu\text{g/ml}$ ). El índice mitótico se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{I.M.} = \frac{\Sigma \text{ Células en Mitosis}}{\Sigma \text{ Células analizadas}}$$

Micronúcleos: Al igual que para el caso anterior se analizaron 1000 células por cada uno de los tratamientos. En este caso a concentraciones de 6 y 3  $\mu\text{g/ml}$  para el Oxidemeton metil y 20  $\mu\text{g/ml}$  de Azinfos metílico. Además se analizaron 3000 células por cada uno de los tres testigos. En el registro de la frecuencia de micronúcleos en células binucleadas se siguieron los criterios señalados por Lasne et al (1984) que incluyen los siguientes puntos:

- a) Tinción similar a la del núcleo principal.
- b) Tamaño inferior al del núcleo principal.
- c) Localización dentro del citoplasma bien definida.
- d) No tener contacto con el núcleo principal.

#### Aberraciones Cromosómicas:

En muchos casos los plaguicidas provocaron muerte celular y abatimiento del índice mitótico y por esa razón la

evaluación de la aberraciones cromosómicas se basó en el análisis de 20 células en metafase por cada uno de los tratamientos. Se detectó la presencia de rupturas cromosómicas, fragmentos acéntricos, cromosomas trirradiados y tetrarradiados, entre otras aberraciones.

## RESULTADOS

### I LA SITUACION DE LOS PLAGUICIDAS EN EL MUNICIPIO DE ENSENADA, BAJA CALIFORNIA

#### Tipos de plaguicidas.

En lo que a la investigación de campo se refiere, previamente se mencionó que durante los últimos años se han utilizado alrededor de 85 ingredientes activos que se comercializan en más de 150 formulaciones diferentes. El resultado de la investigación en torno a los plaguicidas que son usados se muestra en la (Tabla I). De éstos el 46% son insecticidas, el 33% fungicidas y el 21% restante comprenden herbicidas, nematicidas y rodenticidas (Figura 1).

El 46% de los insecticidas están representados por compuestos organofosforados, el 20% carbamatos y el 6% son organoclorados, todos son ellos inhibidores de la colinesterasa. El resto constituyen plaguicidas del tipo de los piretroides, biológicos y otros (Figura 2).

Dentro de los grupos de herbicidas, fungicidas, nematicidas y rodenticidas se encuentra una amplia variedad de compuestos que incluyen organofosforados, carbámicos, nitrofenólicos, clorofenoxis, arsenicales, entre otros muchos.

Aunque la diversidad de insecticidas es mayor que la de los fungicidas y nematicidas, en el volúmen, los fungicidas

Tabla 1. Pesticidas mas utilizados en Baja California.

Principio Activo	Nombre Comercial
<b>INSECTICIDAS</b>	
<b>ORGANOCLORADOS</b>	
Dicofol	Dicofol, Kelthano.
Endosulfan	Endosulfan, Endosulfan, Tionex.
<b>ORGANOFOSFORADOS</b>	
Acefate	Acefate
Azinfos-Metilico	Azinfos-Metilico, Quiazinfos, Gusathion.
Carbofenotion	Lorbans
Demeton	Systox
Diazinon	Diazinon, Decis.
Diclorvos	DDVP, Diplex.
Dimetoato	Dimetoato, Roxion, Tro-Roxion.
Disulfoton	Disiston.
Ethion	Rodocido.
Fentoato	Elsan.
Malation	Malation.
Metamidofos	Metamidofos, Tamaron, Agresor, Hamidop, Tranofos.
Metadition	Supracid 48E.
Mevinfos	Mevinfos, Phosdrin
Monocrotofos	Monocrotofos, Nuvacron, Azodrin.
Naled	Naled, Selexona, Dibromo.
Ometoato	Folimat.
Oxidemeton metil	Metasistox R-25.
Paration metilico	Paration metilico
Triclorfon	Triclorfon, Diptarx.
<b>CARBAMICOS</b>	
Aldicarb	Aldicarb, Temk.
Carbarilo	Carbaril, Sevimol, Sevin.

\* Información obtenida de agricultores, distribuidores y de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidraulicos.

Tabla I. continuación

Principio Activo	Nombre Comercial
<b>INSECTICIDAS</b>	
Carbofuran	Carbofuran, Furadan.
Metomilo	Metomilo, Lannate, Nudrin.
Thiodiocarb	Thiodiocarb
<b>PIRETROIDES</b>	
Alfa-Cypermctrina	Dominextermina.
Cypermctrina	Cypermctrina, Arribo, Cymbush.
Cyflutrín	Baytroid
Deltametrina	Deltametrina, Pounce.
Fenvalerato	Belmark.
<b>TRIAZINAS</b>	
Cyromazina	Cyromazina.
<b>BIOLOGICOS</b>	
Bacillus thurgensis	Dipel, Javeling, Thuncide.
Biobip	Biobip Wp, Biobip HP
<b>OTROS</b>	
Abamectina	Avermectina, Agrimec.
<b>HERBICIDAS</b>	
Atrazina	Gasaprim
Bentazon	Basagran
BHP	BHP
Daconil	Daconil
EPTC	EPTC, Eptan.
Decthol	Decthol.
Devrimol	Devrimol.
Fluazifop-P-Butil	Fusilade.
Glifosato	Faena.
Metrobuzin	Sencor.
Oxadil	Sandofan.
Oxifluorfen	Oxifluorfen, Goal.
Paraquat	Paraquat, Transquat, Gramaxone.

Tabla I. continuación.

Principio Activo	Nombre Comercial
<b>HERBICIDAS</b>	
Senthoxiain	Poast.
Simazina	Gesatop, Senthoxidin.
Trifluralina	Otilan.
<b>FUNGICIDAS</b>	
Anilazina	Anilazina, Direno.
Azufre Elemental	Azufre Elemental, Azufre 93, 98, 68, Sagarul, Sultron.
Benomilo	Benlate.
Captan	Captan, Vitizan.
Carbenzadim	Carbenzadim, Babistin.
Clorotalonil	Clorotalonil, Daconil W, Daconil, Bravo.
Difolatan	Difolatan.
Dinocab	Kerantotane.
Estreptomina	Estreptomina.
Folpet	Folpeto.
Fosetil-Al	Fosetil-Al, Aliete.
Hidroxido cuprico	Hidroxido cuprico, Hodroxil plus.
Iprodiona	Iprodiona.
Mancozeb	Manzate, Ricoil, Flonex, Manzeb, Mangus, Funcozeb.
Maneb	Maneb.
Oleato cuprico	Cosmocel, Sagal C-38.
Oxicloruro de cobre	Cupravit.
Oxido cuproso	Oxido cuproso, Cobresadox.
Oxido de cobre	Oxido de cobre.
Oxitetraciclina	Tetraciclina, Terra.
Qintoceno	Terrazan.
Triadimerfon	Bayleton.
Tiobendazol	Tiobendazol.

Tabla I. Continuación.

Principio Activo	Nombre Comercial
<b>FUNGICIDAS</b>	
Trifloraina	Suprol.
Vinclozolin	Vinclozlin, Ronilan.
Zineb	Zineb. Flonex.
<b>NEMATOCIDAS</b>	
Aldicarb	Aldicarb, Tomik.
Bromuro de Metilo	Bromuro de Metilo
Carbofuran	Furadan 3G, Furadan 50, Curator.
Fenamifos	Fenamifos, Nemacur.
Fenarphos	Netnacut
<b>RODENTICIDAS</b>	
Warfarina	Warfarina

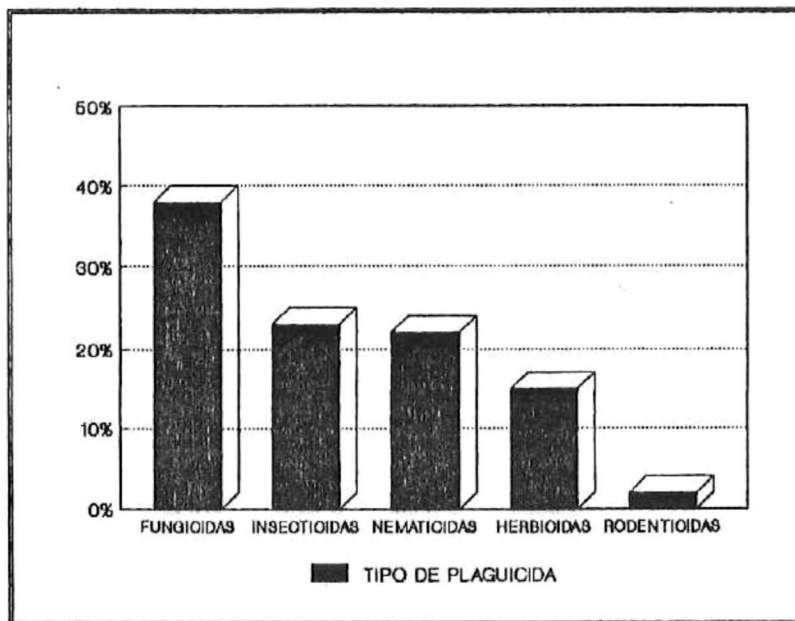


Figura 1.- En la zona costa de Baja California, los principales plaguicidas utilizados son los fungicidas, seguidos de los insecticidas y los nematicidas. Las cantidades aplicadas de herbicidas y nematicidas son mucho menores.

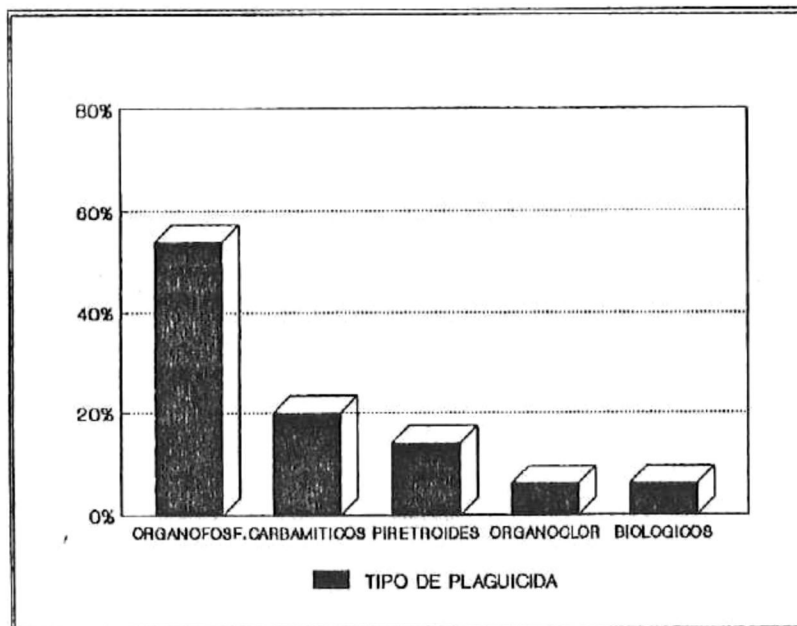


Figura 2.- Durante muchos años los principales plaguicidas utilizados han sido los compuestos organofosforados. En Baja California, estos representan la mayoría. Los compuestos carbámicos y piretroides han cobrado importancia y su uso se ha venido incrementando. En cuanto a los organoclorados, estos muestran una disminución significativa

son más utilizados, ya que en la zona costa los principales problemas son causados por enfermedades fúngicas. En lo que a nematicidas se refiere, las cantidades aplicadas son grandes y en cuanto a la toxicidad de los tres principales productos (Aldicarb, Furadan y Carbofuran), compiten con la de los insecticidas, herbicidas y fungicidas.

Los antecedentes señalan que algunos de los plaguicidas utilizados en la zona costa del Estado se han visto involucrados en envenenamientos masivos. La tabla II hace referencia a algunos casos de exposición accidental que han tenido consecuencias significativas y que están relacionados con plaguicidas que son utilizados en la zona.

En cuanto a los efectos mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos, la bibliografía detectada es menos abundante. Las tablas III y IV muestran listados de plaguicidas cuyos efectos cancerígenos y teratogénicos, respectivamente han sido demostrados y se conoce que algunos son utilizados en el Municipio de Ensenada. Tal información está basada en estudios de caso e investigaciones de diversos laboratorios así como en los estudios realizados por la Federal United States Environmental Protection Agency (U.S.E.P.A) por la Oficina del Programa de Pesticidas (O.P.P.) y por la Oficina

Tabla II.-Envenenamientos masivos en los que se han visto involucrados personas y causado por algunos de los plaguicidas que son utilizados en la zona en la zona costa de Baja California.

PLAGUICIDA	ENVENENADOS	MUERTES	PAIS	AÑO
PARATION METILICO	360	102	INDIA	1957
PARATION	30	9	MALASIA	1960
HEXACLORO-BENCENO	3000	400	TURQUIA	1960
DIAZINON	5	2	U.S.A.	1963
PARATION	17	15	U.S.A.	1963
PARATION	360	122	INDIA	1958
PARATION	200	0	EGIPTO	1967
PARATION	600	00	COLOMBIA	1967
PARATION	539	16	MEXICO	1968
CLORDANO	60		U.S.A.	1973
PARATION	79	17	JAMAICA	1977
METOMIL	5	3	JAMAICA	1977
MALATION	7490	5	PAKISTAN	1978
METAMIDOFOS Y AZINFOS METILICO	3000	30	EGIPTO	1978
ALDICARB	9	-----	U.S.A.	1979
CLORDANO				
KERONSENO	10500	-----	U.S.A.	1981
ALDICARB	1050	28	U.S.A.	1982
PARATION METILICO	7	2	U.S.A.	1984
ALDICARB	1350	0	U.S.A.	1986
ENDOSULFAN	350	31	SUDAN	1991

\* Adaptado de diversas fuentes, considerando solo los pesticidas utilizados en los campos agrícolas de la zona costa de Baja California.

Tabla III.- Pesticidas que se sabe o sospecha producen cáncer y que son utilizados en la costa de Baja California

INSECTICIDAS	FUNGICIDAS	HERBICIDAS
Acefate	Benomilo	Atrazina
Azinfos metilico	Captan	Bentazon
Diclorvos	Clorotalonil	Glifosato
Naled	Dinocob	Oxifluorfen
thiodiocarb		Paraquat
		Simazina
		Trifluralina

Tabla IV.- Pesticidas que se sabe o sospecha producen malformaciones y que son utilizados en la costa de Baja California

INSECTICIDAS	FUNGICIDAS	HERBICIDAS
Endosulfan	Benomilo	Bentazon
Etion	Benomancozeb	EPTC
Paration metilico	Maneb	
Triclorfon	Triadimefon	
Avermectina	Vinclozolin	

de Sustancias Tóxicas de la misma Agencia en el Estado de California.

Con respecto a la relación entre plaguicidas, esterilidad, infertilidad y los efectos tóxicos en embriones y fetos, la bibliografía es menos específica, pero igualmente se muestra una lista de plaguicidas cuyos efectos han sido reconocidos bajo las mismas condiciones que se señalan para los productos carcinogénicos y teratogénicos (Tabla V).

Se presenta un listado de los plaguicidas utilizados en el Municipio y cuyos efectos adversos sobre flora y fauna silvestre han sido comprobados y (Tabla VI).

#### Uso de plaguicidas

Las condiciones bajo las cuales son utilizados los agroquímicos a lo largo de toda la costa, no escapan a las señaladas previamente por Rincón-Valdez y Loera (1980). La problemática observada se resume en los siguientes puntos:

- 1.-La aplicación de plaguicidas se hace en grandes volúmenes. Según información proporcionada por el Ingeniero Carlos Hernández Aréchiga jefe del área de extensión agrícola de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos de Ensenada (S.A.R.H.) en promedio se hacen cuatro aplicaciones por hectárea en cada ciclo agrícola, otras fuentes señalan

Tabla V.- Pesticidas utilizados en los campos agrícolas de Baja California que han sido asociados a infertilidad, esterilidad y pesticidas que se sabe son embriotóxicos y fetotóxicos.

EFECTOS REPRODUCTIVOS	EMBRIOTOXICOS
<p>Dinoseb                      Triclorfon                      Fenamifos                      Metomilo                      Carbaril                      Diclorvos                      Dimethoato</p>	<p>Diclorvos                      Dimethoato                      Naled                      Triclorfon</p>

Tomado de diversas fuentes

Tabla VI. Efectos adversos sobre los organismos silvestres de los diversos plaguicidas que son utilizados en la zona costa de Baja California.

Principio Activo	Efectos adversos al ambiente
<b>INSECTICIDAS</b>	
Dicofol	Toxico a peces
Endosulfan	Toxico a insectos polinizadores
Acefate	Toxico a peces y abejas
Azinfos-Metilico	Toxico a peces y abejas
Carbofenotion	Toxico a peces y abejas
Diazinon	Toxico a aves e insectos beneficos
Diclorvos	Toxico para organismos beneficos y acuaticos
Disulfoton	Toxico para organismos de vida silvestres
Ethion	Toxico para organismos de vida silvestres
Fentoato	Toxico para peces
Malation	Altamente toxico para organismos de vida silvestres
Metamidofos	Toxico para organismos de vida silvestres
Mevinfos	Toxico para organismos de vida silvestres
Monocrotofos	Toxico para organismos Beneficos y acuaticos
Naled	Toxico para insectos beneficos
Ometoato	Toxico para insectos beneficos
Oxidometon metil	Toxico para organismos de vida silvestre
Paration-metilico	Altamente toxico para organismos de vida silvestres
Triclorfon	Toxico para organismos de vida silvestre
Aldicarb	Toxico para organismos beneficos y acuaticos
Carbarilo	Toxico para insectos polinizadores
Carbofuran	Altamente toxico para organismos de vida silvestre
Metomilo	Toxico para insectos polinizadores
Thiodiocarb	Toxico para insectos polinizadores
Abacmectina	Toxico para insectos beneficos y peces
Cypermctrina	Toxico para insectos beneficos y organismos acuaticos
Cyflutrin	Toxico para abejas y peces
Deltameltrina	Toxico para organismos de vida silvestres

\* Información obtenida de diversas fuentes bibliográficas, considerando solo los plaguicidas que son utilizados en la costa de Baja California.

Tabla VI, Continuación

Principio Activo	Efectos adversos al ambiente
<b>HERBICIDAS</b>	
EPTC	Toxico para peces
Fluasifop-P-Butil	Toxico para peces
Oxifluorfen	Toxico para peces
Paraquat	Toxico para peces y aves
Senthoxiain	Toxico para organismos acuaticos
Trifluralina	Toxico para peces
<b>FUNGICIDAS</b>	
Anilazina	Toxico para peces
Benomilo	Toxico para peces
Captan	Toxico para peces
Carbenzadim	Toxico para peces
Clorotalonil	Toxico para peces
Dinocab	Toxico para peces
<b>NEMATICIDAD</b>	
Aldicarb	Altamente toxico para la vida silvestre
Bromuro de metilo.	Toxico para insectos beneficos e invertebrados del suelo
Carbofuran	Toxico para organismos de vida silvestre
Fenamifos	Toxico para organismos de vida silvestre

que en algunas ocasiones se llegan hacer hasta 12 aplicaciones (Díaz, O. B. 1992, comentario personal, I.N.I.F.A.P.).

En observaciones realizadas por cuenta propia se llegó a observar la aplicación de plaguicidas durante dos días consecutivos en algunos campos agrícolas de San Quintín, no respetando los períodos de reingreso y sin la protección adecuada.

Con respecto a este último punto, no existen equipos de seguridad apropiados, tanto para las personas que lo venden y almacenan como para las que lo aplican; cuando se utiliza en muchas de las ocasiones, son obsoletos y no suele usarse protección en manos, nariz y ojos. La utilización de sistemas cerrados para la elaboración de las mezclas es más la excepción que la regla. En cuanto a las aplicaciones aéreas, éstas son realizadas sin considerar cuestiones atmosféricas (velocidad del viento, dirección, humedad, etc.) y en la mayoría de las veces la protección para el personal de tierra es nula.

También es frecuente el uso de mezclas altamente tóxicas las cuales son preparadas y aplicadas sin tomar en cuenta las mínimas precauciones y por personal no calificado.

La venta de plaguicidas se realiza sin control y a cualquier persona, independientemente del grado de toxicidad de los productos que se soliciten, y en general no se dan las recomendaciones adecuadas para la protección del usuario.

2.-La información que tienen las personas directamente involucradas en el manejo de los plaguicidas es escasa, en cuanto a los efectos crónicos que estos implican para la salud humana.

Los programas de educación encaminados hacia la concientización de los riesgos que implica el manejo de los plaguicidas son escasos y salvo algunas orientaciones llevadas a cabo por la Secretaría de Salud a personas frecuentemente expuestas a estas sustancias, en algunas regiones del sur del municipio, no hay campañas dirigidas a establecer medidas de seguridad que minimicen los riesgos de exposiciones accidentales.

3.-Se carecen de cuadros técnicos especializados para manejar, aplicar, investigar, custodiar y divulgar los riesgos que los plaguicidas tienen sobre la salud y el ambiente.

No se cuentan con tecnologías para el adecuado manejo, aplicación y disposición de los envases vacíos.

A diferencia de otros países donde la aplicación es efectuado por personal especializado con licencia de las dependencias correspondientes y bajo supervisión de las mismas, en el municipio se carece de personal capacitado para realizar dichas acciones.

### Normatividad y Vigilancia

En 1982 fue creada la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST) organismo encargado de todos los aspectos relacionados con el uso de plaguicidas, dicha comisión formada por la Secretaría de Comercio, Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Secretaría de Desarrollo Social y la Secretaría de Salud no cuenta con personal que se encargue de llevar un control sobre los aspectos relacionados con el uso de agroquímicos.

Cada Secretaría pretende trabajar por cuenta propia en las áreas que son de su responsabilidad, pero el control que éstas realizan es deficiente, lo cual es debido en parte a la falta de personal.

La falta de normatividad y de personal de las dependencias involucradas para aplicar las leyes ha promovido en buena medida el uso inadecuado de pesticidas y las

principales funciones de las diversas secretarías están enfocadas a la expedición de licencias sanitarias, registro de plaguicidas utilizados y otros trámites burocráticos que rara vez tienen que ver con las prácticas que se llevan a cabo en el campo y con la salud de los trabajadores expuestos.

Las principales irregularidades encontradas en cuanto a la control y vigilancia son las siguientes:

a) Falta de control sobre la venta de plaguicidas, la cual se hace sin considerar la capacidad técnica de los compradores. No existe personal que supervise la venta, preparación y aplicación de plaguicidas.

b) Falta de normatividad. Las leyes que regulan el uso de plaguicidas son las que corresponden a la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente; Ley General de Salud y Ley General Fitosanitaria. Sin embargo no existe la normatividad adecuada y cuando la hay esta no es debidamente aplicada como el caso de la norma técnica 79 que establece la vigilancia epidemiológica para los trabajadores que laboran en ambientes altamente riesgosos.

Por otra parte han sido encontradas algunas incongruencias entre los criterios establecidos por

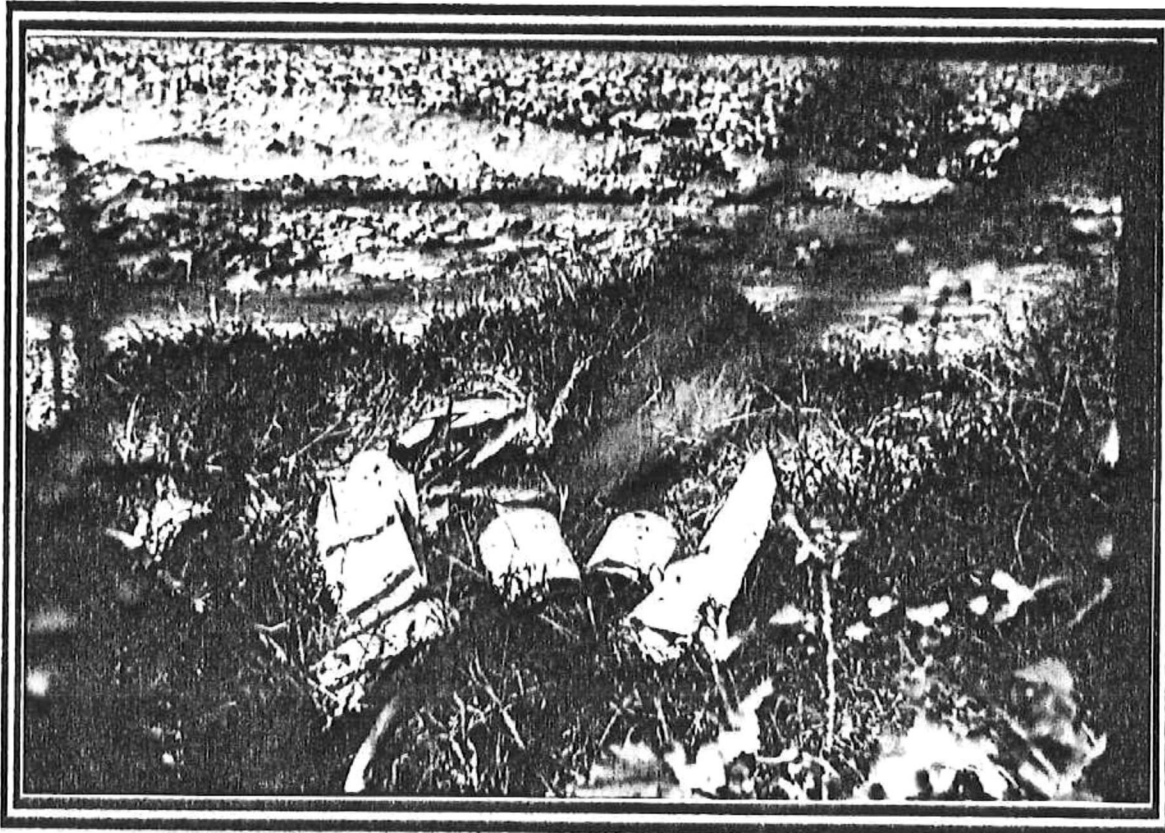
CICOPLAFEST y las leyes que rigen cada secretaría. Así mientras que la Ley del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente prohíbe el uso de plaguicidas restringidos en otros países, el catálogo del CICOPLAFEST, permite el uso de algunos de estos: como Clordano, Aldicarb, 2.4-D, Paration Malation, Paraquat, que son altamente tóxicos y cuyo uso se ha eliminado en muchos países.

### Investigación

En el Estado se carece de programas de investigación en diversos aspectos relacionados con los agroquímicos y aunque existen investigación sobre cuantificación para algunos pesticidas en ambientes particulares, control de plagas químico y biológico y otros encaminados a desarrollar la agricultura orgánica, no hay investigación epidemiológica, sobre control integrado, efectos sobre el ambiente y contaminación de mantos acuíferos y suelos

### Residuos tóxicos

Se carecen de programas de reciclamiento de los plaguicidas caducos, recipientes y envases vacíos, los cuales por la cantidad de agroquímicos utilizados se debe esperar la acumulación de una gran cantidad de ellos y cuyo destino es incierto. En muchos de los casos los recipientes son encontrados en los márgenes de los cultivos, en los canales de riego o a orillas de las carreteras (Figura 3).



**Figura 3.- La presencia de envases vacíos y desechos de las actividades agrícolas en los márgenes de los cultivos, canales de riego y carreteras es frecuente debido a que no existen lugares apropiados para su deposición**

## II EFECTOS GENOTOXICOS Y CITOTOXICOS DEL AZINFOS METILICO Y OXIDEMETON METIL

Los primeros resultados obtenidos fueron los correspondientes a los testigos negativos y positivos para la pruebas de micronúcleos. Los testigos positivos se hicieron utilizando Mitomicina C a concentraciones de 0.010, 0.019, 0.030 y 0.038  $\mu\text{g/ml}$ . La tabla VII muestra los resultados obtenidos incluyendo los controles negativos. La figura 4 muestra cual fue el comportamiento de la curva.

En cuanto a las pruebas para evaluar la genotoxicidad del Azinfos-metílico y el Oxidemeton-metil se aplicaron 4 y 6 dosis respectivamente, en esta parte se analizaron los siguientes aspectos: Muerte celular, Indice Mitótico Frecuencia de Micronúcleos y Aberraciones Cromosómicas.

Para el caso del Azinfos metílico se utilizaron las dosis de 200, 100, 50 y 20  $\mu\text{g/ml}$ , correspondiendo estas a concentraciones de 2, 1, 0.5 y 0.025%

En el oxidemeton metil se aplicaron dosis de 125, 62, 25, 12.6 y 3  $\mu\text{g/ml}$  que son equivalentes a concentraciones de 1, 0.5, 0.25, 0.12, 0.06 y 0.03% . Los resultados fueron los siguientes:

Tabla VII.- Frecuencia de micronúcleos encontradas en el análisis de células binucleadas en cultivos tratados con Mitomicina C (Testigos Positivo)

TESTIGO POSITIVO					
MUESTRA	CONCENTRACION	CELULAS BINUCLEADAS	MICRONUCLEOS	TOTAL	PORCENTAJE
1A	0.010 µg/ml	941	59	1000	5.9%
2A	0.010 µg/ml	955	45	1000	4.5%
3A	0.019 µg/ml	954	46	1000	4.6%
4A	0.019 µg/ml	950	50	1000	5.0%
5A	0.030 µg/ml	749	52	801	6.5%
6A	0.030 µg/ml	895	105	1000	10.5%
7A	0.038 µg/ml	290	23	313	7.3%
8A	0.038 µg/ml	889	111	1000	11.1%
CTROL	—————	996	4	1000	0.4%
CTROL	—————	997	3	1000	0.3%
CTROL	—————	538	1	539	0.18%

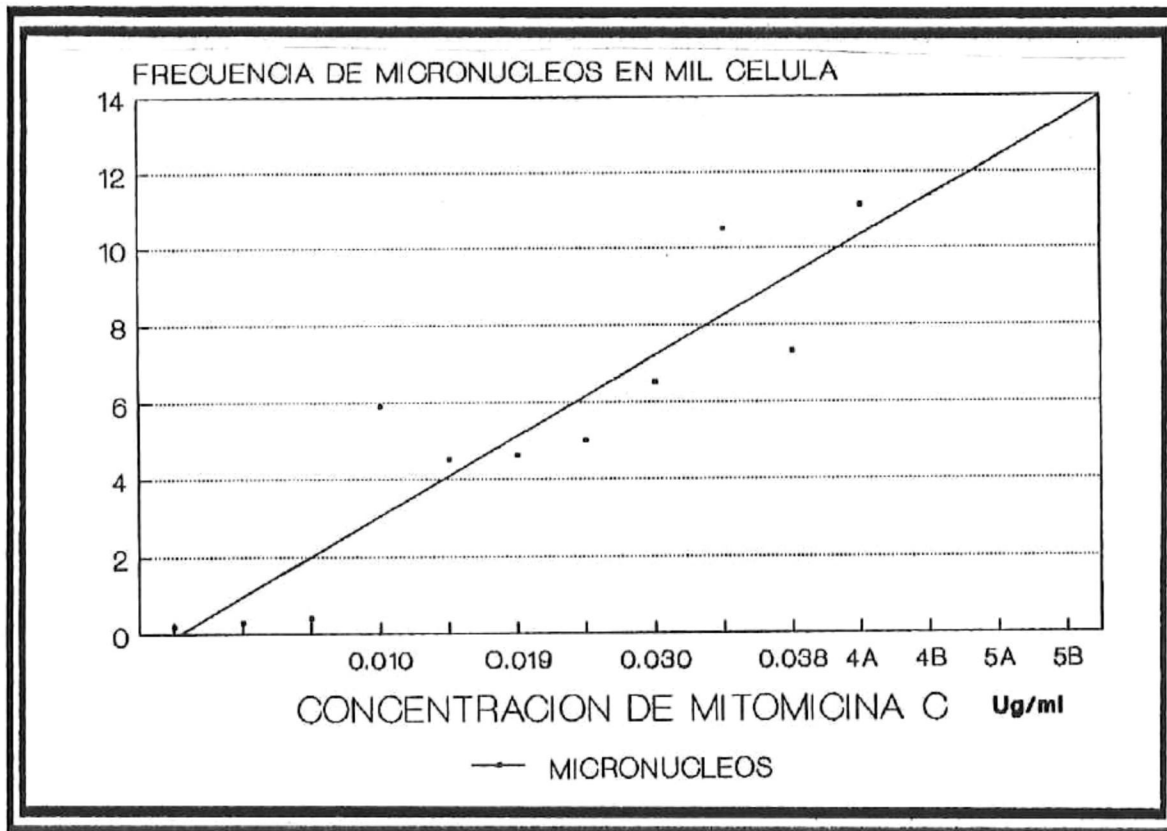


Figura 4.- La gráfica muestra un incremento en la frecuencia de micronúcleos en células binucleadas en relación con las concentraciones de Mitomicina C, fármaco que induce la formación de micronúcleos y que sirvió de testigo positivo.

## MUERTE CELULAR

### Azinfos-metílico

Para este insecticida las dosis que resultaron letales para las células fueron de 200  $\mu\text{g/ml}$  de Azinfos metílico, el cual equivale a una concentración de 2% (Tabla VIII).

Los cultivos en que se utilizó esta concentración no fueron viables y entre el material obtenido sólo se encontraron restos de material celular, compuestos por membranas y núcleos desnaturalizados. Los resultados son los mismos para las tres réplicas realizadas. La muerte celular se manifestó a concentraciones menores: 100 y 50  $\mu\text{g/ml}$  de Azinfos metílico (Tabla VIII).

### Oxidemeton-metil

Las concentraciones letales para este insecticida fueron de 125, 62 y 25  $\mu\text{g/ml}$ . (Tabla VIII). En estos cultivos, al igual que para los del Azinfos metílicos sólo se observaron restos de membranas celulares y núcleos desnaturalizados. A concentraciones de 25  $\mu\text{g/ml}$  se presentaron células en diversos estado de necrosis. Todos los cultivos realizados mostraron el mismo comportamiento. Pero a concentraciones menores: 12, 6 y 3  $\mu\text{g/ml}$  para Oxidemeton metil y 100, 50 y 20  $\mu\text{g/ml}$  de Azinfos metílico hubo viabilidad celular y se

Tabla VIII.- Resultados generales de los experimentos realizados en laboratorio para evaluar la genotoxicidad de Azinfos metílico y Oxidometon metil.

Plaguicida	Muerte celular	Anormalidad Nuclear	Indice mitótico	Micronúcleos en cel. binucleadas	Micronúcleos en cel. mononucleadas	Aberraciones Cromosómicas
Azinfos metílico	NO	NO	18 / 1000	2.6 / 20	1.6 / 1000	1.6 / 20
200 ug/ml	SI	NO	NO	NO	NO	NO
100 ug/ml	SI	NO	2.9 / 1000	NO	NO	11.2 / 20
50 ug/ml	NO	SI	3.7 / 1000	NO	NO	4 / 20
20 ug/ml	NO	SI	9.7 / 1000	9.7 / 1000	2.66 / 1000	5 / 20
Metasistox						
125 ug/ml	SI	NO	NO	NO	NO	NO
62 ug/ml	SI	NO	NO	NO	NO	NO
23 ug/ml	SI	SI	I.M. Abatido	NO	NO	NO
12ug/ml	NO	SI	I.M. Abatido	NO	NO	NO
6 ug/ml	NO	NO	0.3 / 1000	7.4 / 1000	2.3 / 1000	SI
3 ug/ml	NO	NO	4 / 1000	7 / 1000	1.6 / 1000	SI
Mitomicina C	NO	SI	Normal	52 / 1000	33 / 1000	SI

pudo realizar la otra parte del trabajo.

Dentro de las observaciones realizadas durante el análisis del índice mitótico, micronúcleos y aberraciones cromosómicas, se notó una alta tasa de mortalidad celular que se manifestó por la presencia de células heteroploides, núcleos cariorréticos y núcleos con apoptosis, los cuales representan diversos tipos de daño celular (Figuras 5 y 6).

#### INDICE MITOTICO

La determinación del índice mitótico tuvo como objetivo conocer las concentraciones que abaten la tasa media de división celular y la tasa media de división celular o índice mitótico en las muestras testigo.

#### AZINFOS METILICO

Se probaron dosis de 200, 100, 50 y 20  $\mu\text{g/ml}$  de Azinfos metílico. Los resultados muestran muerte celular a 200  $\mu\text{g/ml}$ . A concentraciones de 100 y 50  $\mu\text{g/ml}$  se abate la tasa media de división celular apareciendo 2.9/1000 y 3.7/1000. Los resultados de los análisis se muestran en la tabla IX. Los valores están por debajo de los encontrados en las muestras testigo (Figura 7).

A 20  $\mu\text{g/ml}$  el índice mitótico resultó de 9.7/1000. El promedio obtenido en la muestra testigo fue de 10.33/1000

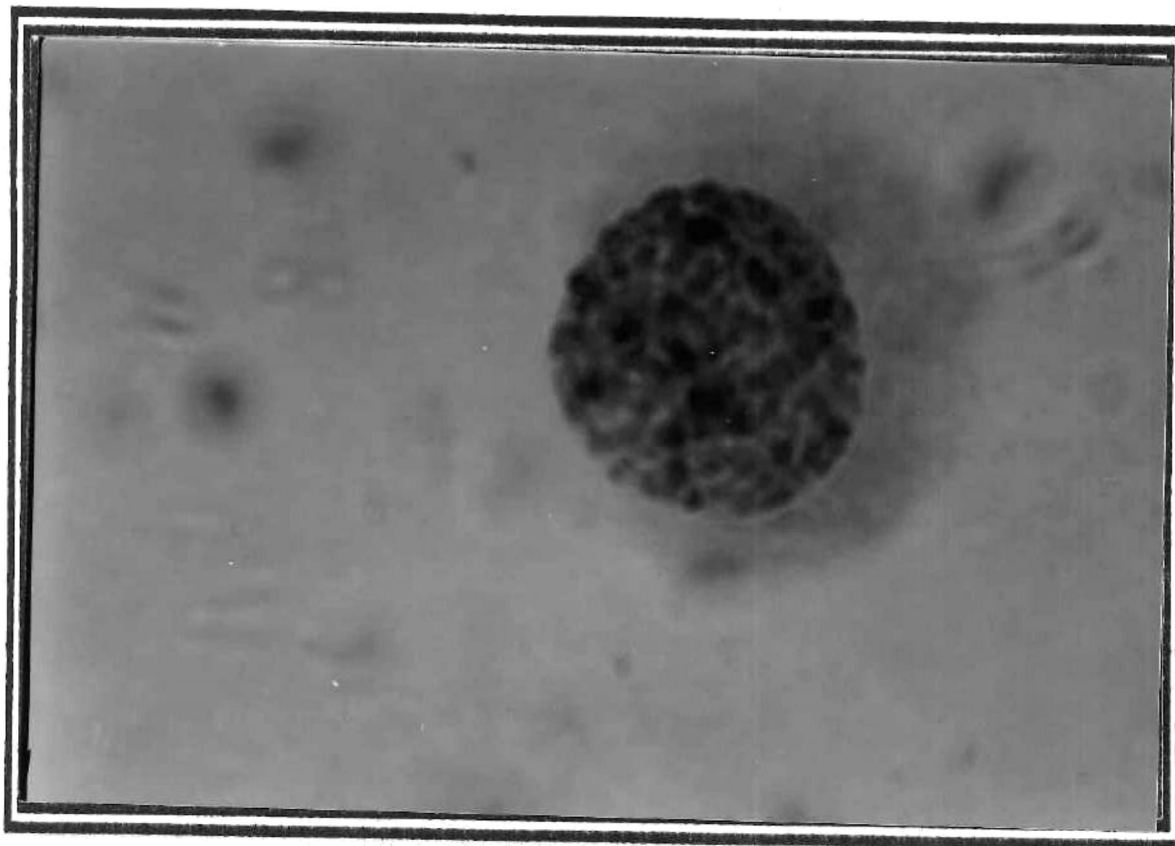
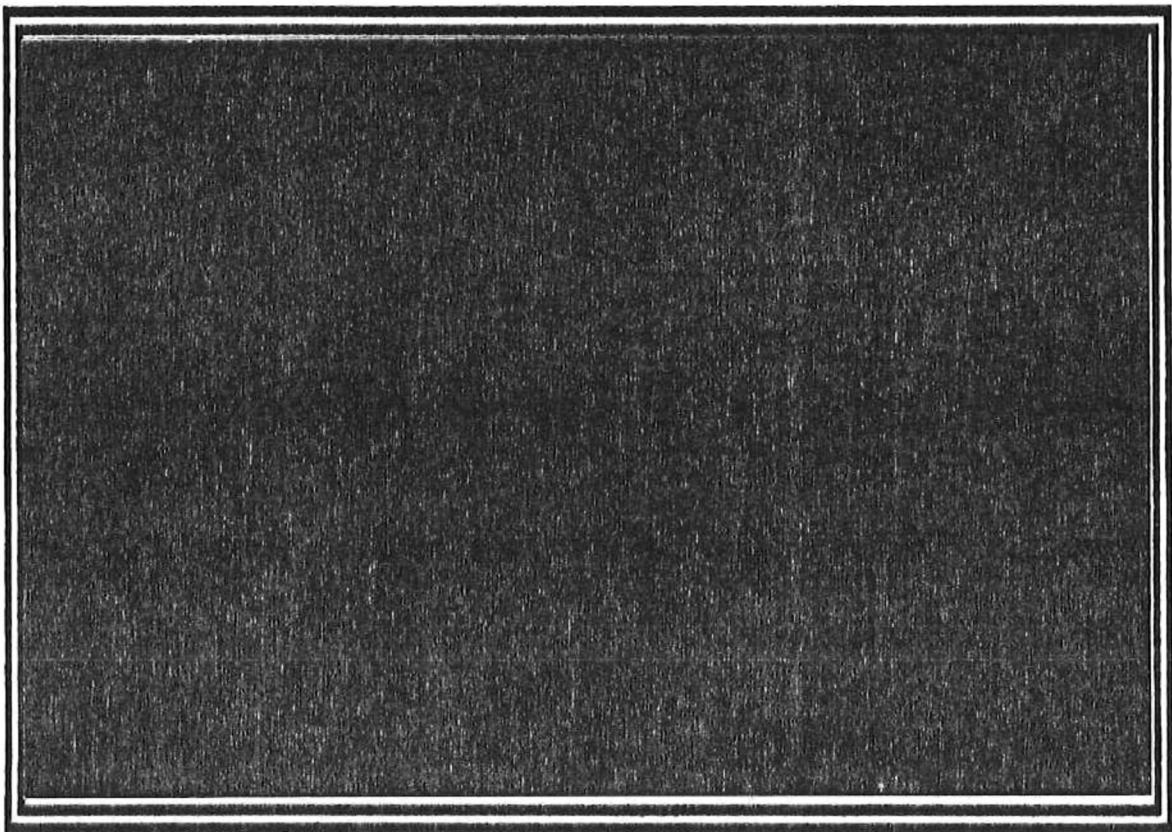


Figura 5.- Núcleos heteroploídicos. Este tipo de fenómenos representa un estado de daño celular que se ha interpretado como zonas inactividad génica.



**Figura 6.- Núcleos Apoptóticos en una célula binucleada. Este fenómeno se caracteriza por la presencia de agujeros o huecos en el núcleo interfásico y se considera es una manifestación de muerte celular. En este casos es el resultado de exposición a Azinfos metílico.**

Tabla IX.- Resultados obtenidos de los análisis del Índice Mitótico en las muestras testigo y a concentraciones de 20, 50 y 100 ug/ml de Azinfos metílico.

	No M.	Células	Metafasas	Indice Mitótico
Testigos	1A	987	13	$I.M = \frac{\Sigma \text{ oel. en mitosis}}{\Sigma \text{ oel. analizadas}}$
	1B	989	11	
	1C	993	7	10.33/1000
100 ug/ml	2A			2.9/1000
	2B			
	2C			
50 ug/ml	3A	999.3	0.66	3.7/100
	3B	999.3	0.66	
	3C	990	10	
20ug/ml	4A	992	0	9.7/100
	4B	988	12	
	4C	991	9	

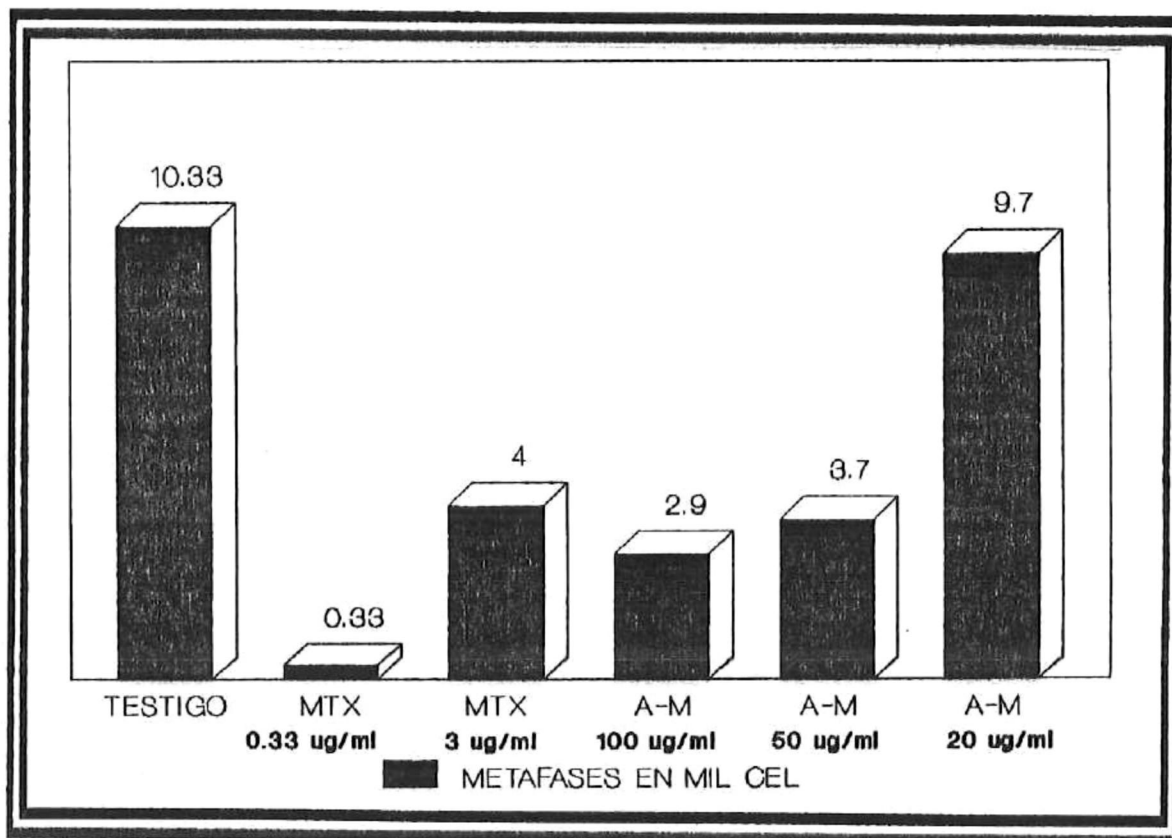


Figura 7.- Comparación entre los valores obtenidos para índice mitótico en los testigos y en las muestras tratadas con Azinfos metílico (A-M) y Oxidemeton metil (MTX).

(Figura 7).

#### OXIDEMETON METIL

Se aplicaron concentraciones de 125, 62, 25, 12, 6 y 3  $\mu\text{g/ml}$ . Los resultados se muestran en la tabla X. A concentraciones de 125, 62 y 25  $\mu\text{g/ml}$  hubo muerte celular. En ningún caso se observaron células en mitosis. A dosis de 12  $\mu\text{g/ml}$  no hubo muerte celular (índice mitótico de 0/1000); en el caso de 6 y 3  $\mu\text{g/ml}$  el índice mitótico estuvo muy por debajo de los testigos (Figura 7).

#### Micronúcleos en células Mononucleadas

##### Azinfos Metílico

Para el caso de este plaguicida, a concentraciones de 200  $\mu\text{g/ml}$  hubo muerte celular, a concentraciones de 100 y 50  $\mu\text{g/ml}$  la tasa de división fue muy baja y no se pudo obtener buenas preparaciones para el análisis de micronúcleos. Tanto en células mononucleadas como en binucleadas, sólo fue posible obtener resultados a concentraciones de 20  $\mu\text{g/ml}$ . Aunque estadísticamente no se existen diferencias (Tabla XI), si se observa un incremento notorio en las células tratadas con Azinfos metílico a concentraciones de 20  $\mu\text{g/ml}$  (Figura 8), de tal modo que aquí, dicho incremento puede tener importancia desde el punto de vista biológico.

Tabla X.- Resultados obtenidos de los análisis del Índice Mitótico en las muestras testigos y a concentraciones de 3 y 6 ug/ml de Oxidometon metil.

	No N.	Celulas	Metafasas	Indice Mitotico
Testigos	1A	987	13	$I.M = \frac{\Sigma \text{ cel. en mitosis}}{\Sigma \text{ cel. analizadas}}$
	1B	989	11	
	1C	993	7	10.33/1000
6 ug/ml	2A	1000	0	
	2B	1000	0	
	2C	999	1	0.33/1000
3 ug/ml	3A	999	7	
	3B	999	3	
	3C	998	2	4/1000

Tabla XI-Tabla de contingencia para Ji cuadrada en las que se muestran los resultados de comparar células expuestas a Azinfos metílico y los testigos en análisis de micronúcleos en células mononucleadas.

Tratamiento	Células con micronúcleos	Células sin micronúcleos
Testigos	0.16	99.84
20 ug/ml A-M	0.48	99.60

$\chi^2 = 1.834$  con un grado de libertad

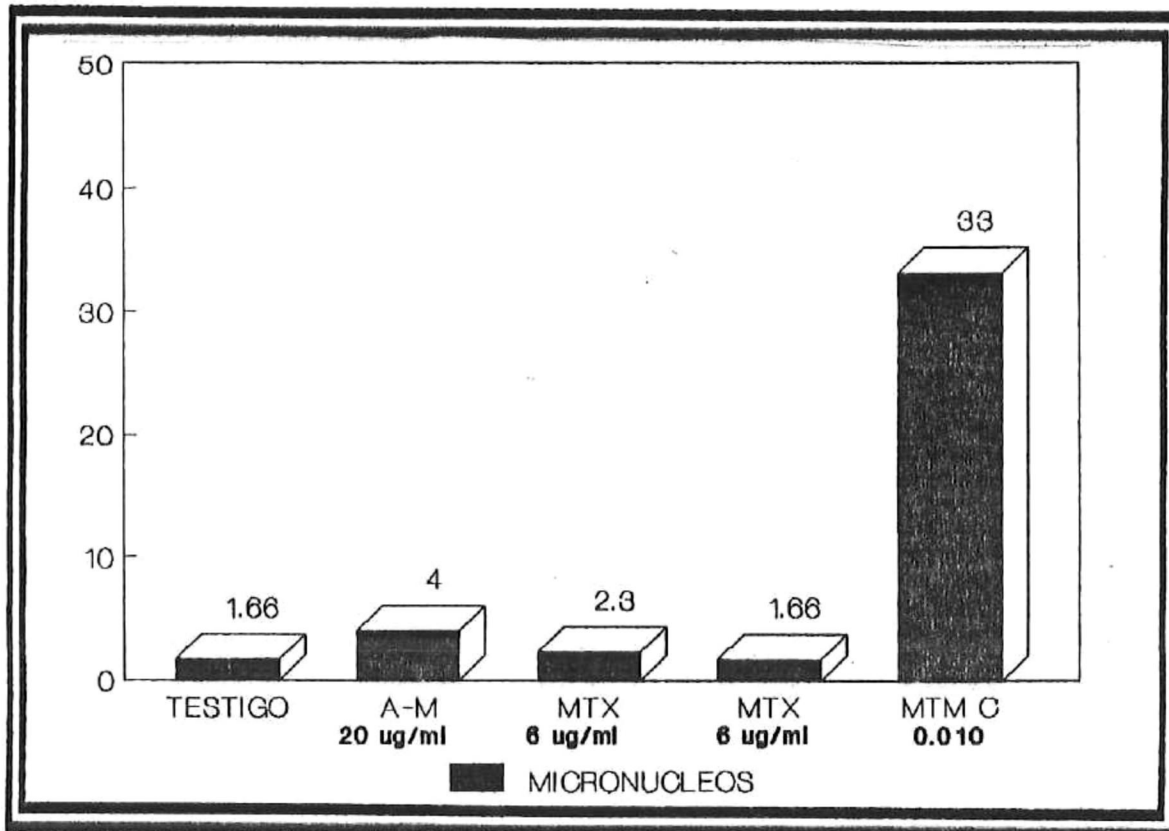
P = 0.389

Tabla XII-Tabla de contingencia para Ji cuadrada en las que se muestran los resultados de comparar células expuestas a Oxidemeton metil y los testigos en análisis de micronúcleos en células mononucleadas.

Tratamiento	Células con micronúcleos	Células sin micronúcleos
Testigos	0.16	99.84
6 ug/ml MTX	0.26	99.74
3 ug/ml MTX	0.16	99.84

$\chi^2 = 0.881$  con dos grados de libertad

P = 0.991



**Figura 8.- Frecuencia de micronucleos en células mononucleadas observadas en los testigos negativos y en cultivos expuestos a concentraciones de 20 ug/ml de Azinfos metílico (A-M) y a concentraciones de 6 y 3 ug/ml de Oxidemeton metil (MTX).**

## OXIDEMETON METIL

Para el caso de Oxidemeton metil se logró analizar la frecuencia de micronúcleos a concentraciones de 6 y 3  $\mu\text{g/ml}$ . El resto de los tratamientos resultaron en muerte celular y abatimiento del índice mitótico. Los resultados muestran que no existen diferencias significativas entre los testigos y las muestras tratadas a 3 y 6  $\mu\text{g/ml}$  de Oxidemeton metil (Tabla XII). Como se observa en la figura 8, el promedio de micronúcleos en los testigos fue 1.66, contra 2.3 en muestras tratadas a 3  $\mu\text{g/ml}$  de Oxidemeton metil y 1.66 con 6  $\mu\text{g/ml}$  del mismo agente.

En ambos casos la frecuencia de micronúcleos se encuentran muy por debajo de los valores obtenidos en el testigo positivo (Figura 8), lo cual significa que los pesticidas aquí probados son genotóxicos, pero no tanto como la Mitomicina C.

### Micronúcleos en células Binucleadas

#### Azinfos Metílico

En el caso del Azinfos metílico, sólo se obtuvo material para analizar micronúcleos en células binucleadas a concentraciones de 20  $\mu\text{g/ml}$ . La frecuencia de aparición de micronúcleos, fue de 6/1000 a diferencia de 4/1000, 3/1000

y 1/1000 encontradas en los testigos. En la figura 9 se muestra una comparación entre los resultados obtenidos con los testigos positivos y negativos así como las células expuestas a Azinfos metílico y Oxidemeton metil. La prueba de Ji cuadrada (Tabla XIII) señala una similitud entre la muestra testigo y la muestra tratada a 20  $\mu\text{g/ml}$  de Azinfos metílico, aunque el incremento es notable (2.66 en los testigos contra 6 en la muestra tratada), como se observa en la figura 9.

Por otra parte, se encontró una frecuencia relativamente alta de células binucleadas con dos micronúcleos, (Figura 10 y 11). En las muestras tratadas con Azinfos metílico, un promedio de 2 casos de células binucleadas con dos micronúcleos por cada muestra analizada. El tamaño de los micronúcleos varió de manera significativa entre estructuras muy pequeñas (Figura 12) y micronúcleos que presentaban un tamaño equivalente a 1/3 parte del núcleo principal (figura 13). Su frecuencia fue similar.

#### Oxidemeton metil

En el caso del oxidemeton metil a concentraciones de 6 y 3  $\mu\text{g/ml}$  se presentó una frecuencia de 7 y 7.2 micronúcleos en 1000 células contra 2.66 de los testigos. Las diferencias

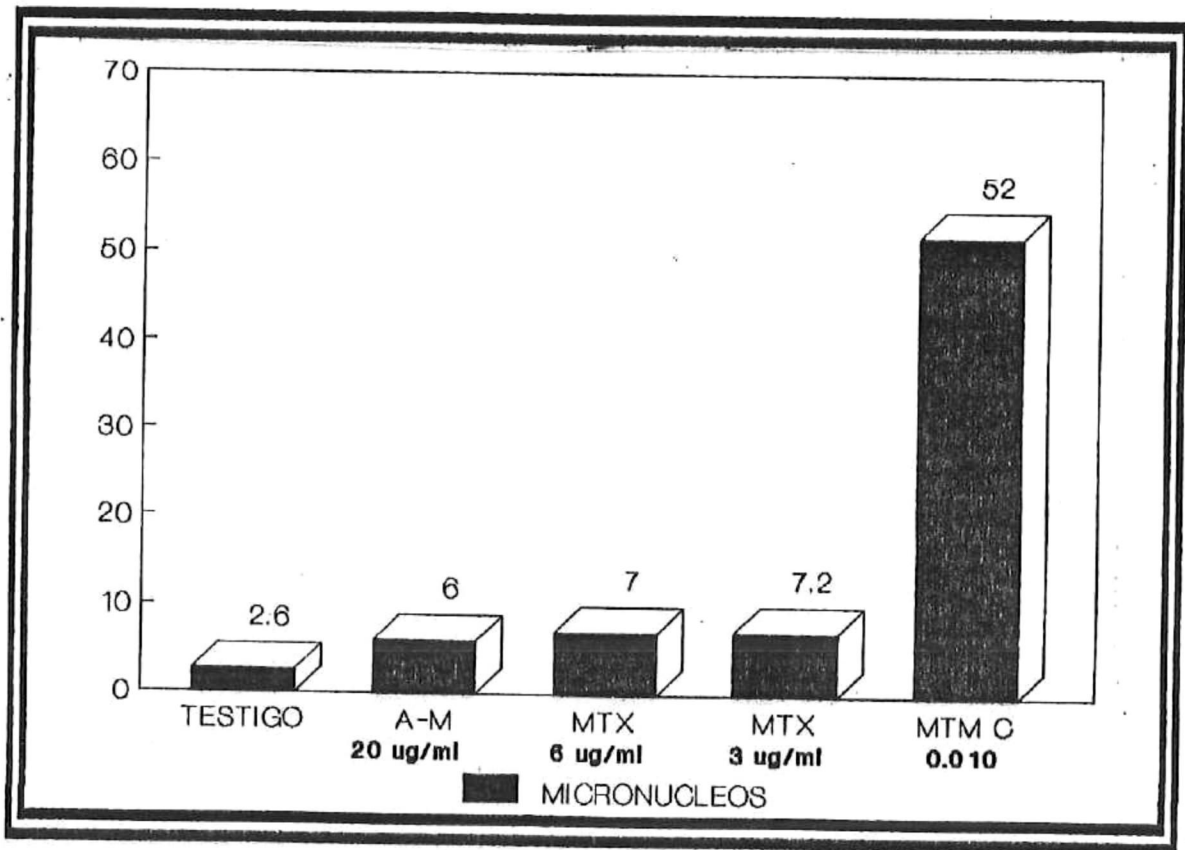


Figura 9.- Frecuencia de micronucleos en células binucleadas observadas en los testigos negativos y en cultivos expuestos a concentraciones de 20 ug/ml de Azinfos metálico (A-M) y a concentraciones de 6 y 3 ug/ml de Oxidometon metil (MTX).

Tabla XIII-Tabla de contingencia para Ji cuadrada en las que se muestran los resultados de comparar células expuestas a Azinfos metílico y los testigos en análisis de micronucleos en células binucleadas.

Tratamiento	Células con micronucleos	Células sin micronucleos
Testigos	0.26	99.74
20 ug/ml A-M	0.63	99.40

$\chi^2 = 0.589$  con un grado de libertad

P = 0.476

Tabla XIV- Tabla de contingencia para Ji cuadrada en las que se muestran los resultados de comparar células expuestas a Oxidemeton metil y los testigos en análisis de micronucleos en células binucleadas.

Tratamiento	Células con micronucleos	Células sin micronucleos
Testigos	0.26	99.74
6 ug/ml MTX	0.76	99.24
3 ug/ml MTX	0.70	99.30

$\chi^2 = 0.261$  con dos grados de libertad

P = 0.887

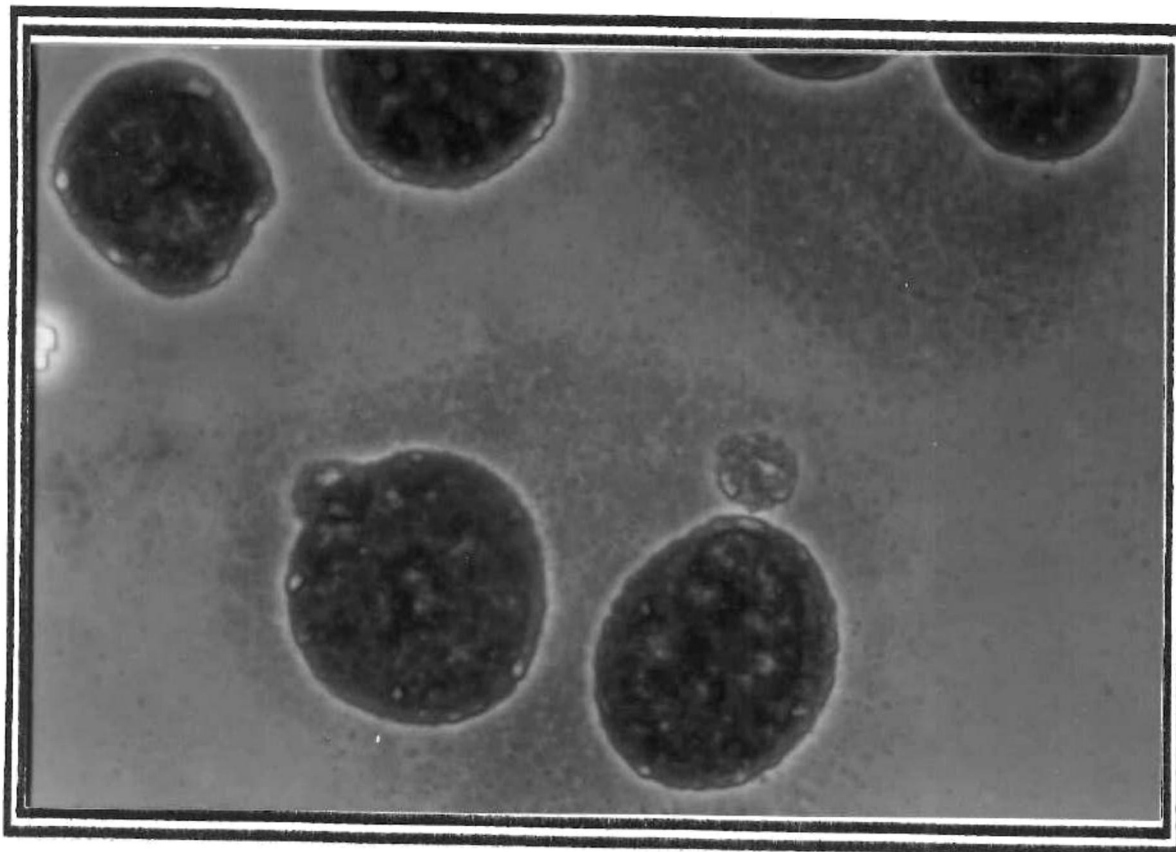


Figura 10.- Célula binucleada con dos micronúcleos.

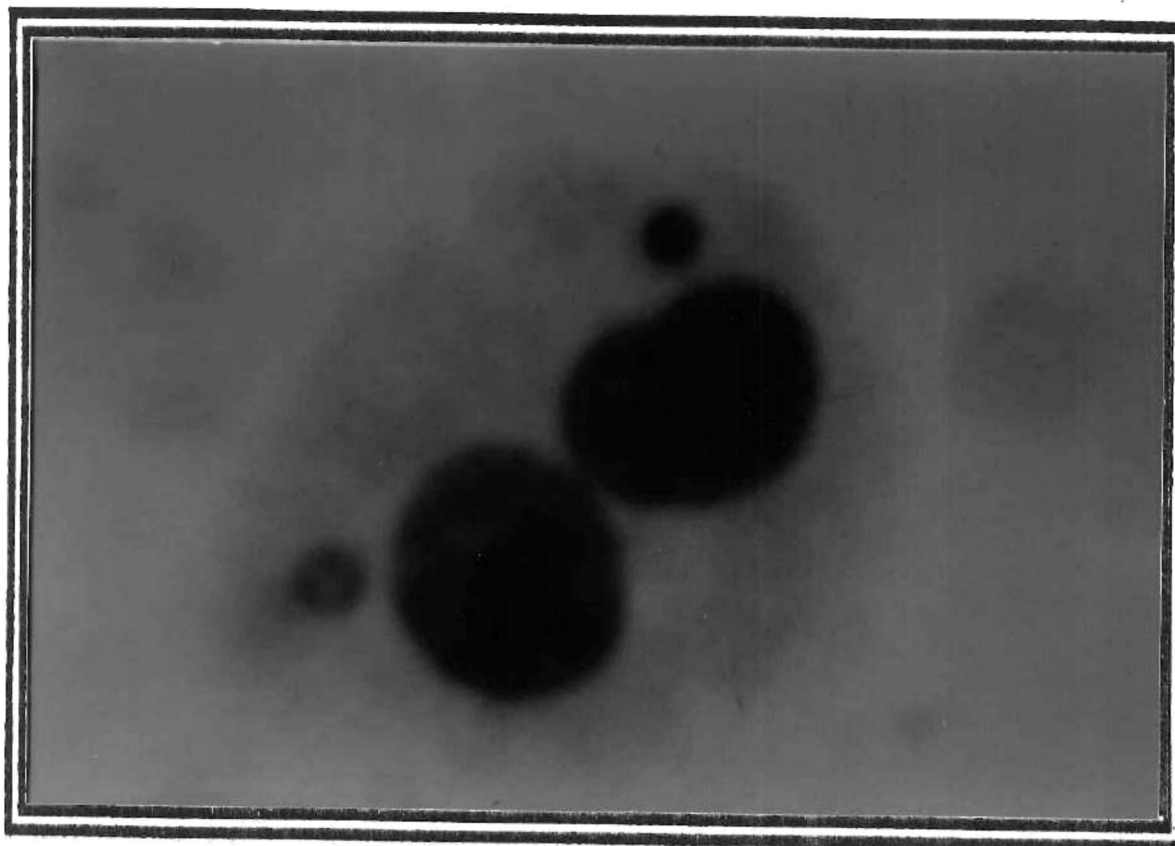


Figura 11.- Célula binucleada con presencia de dos micronúcleos.

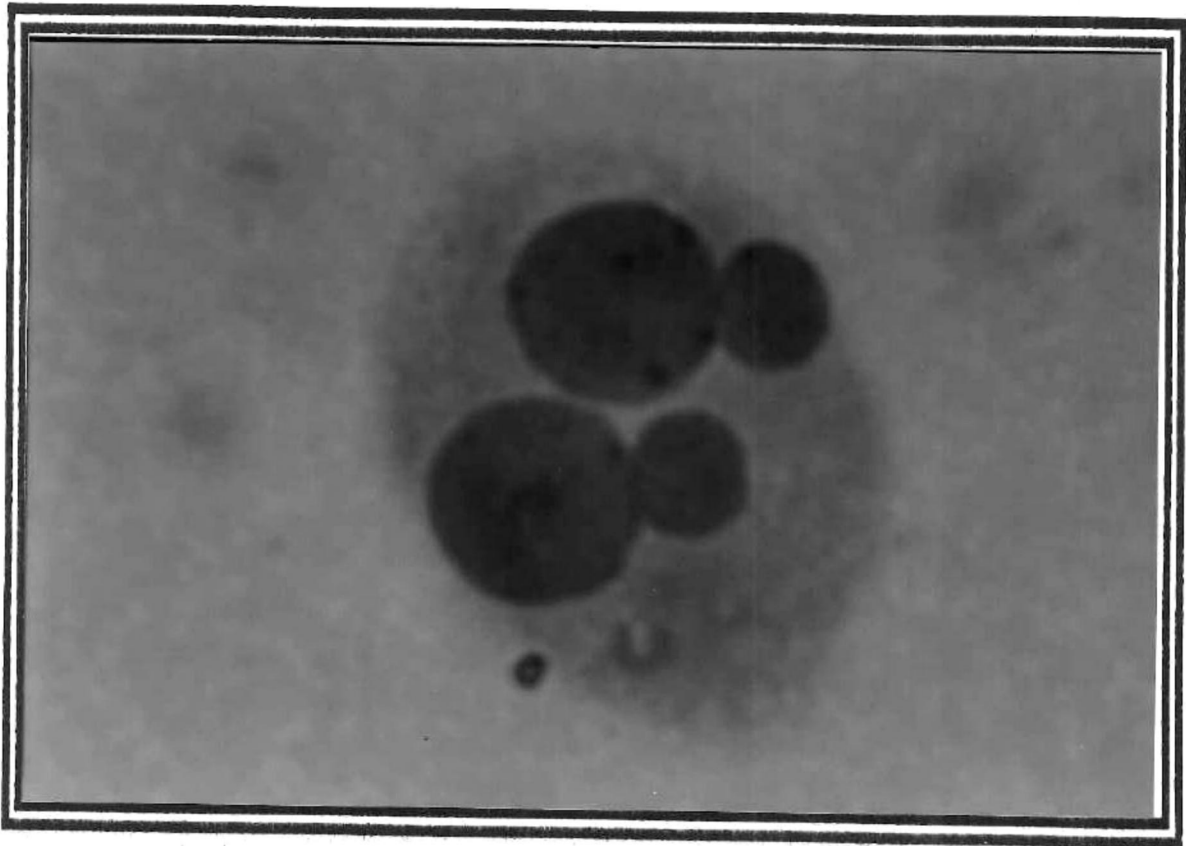
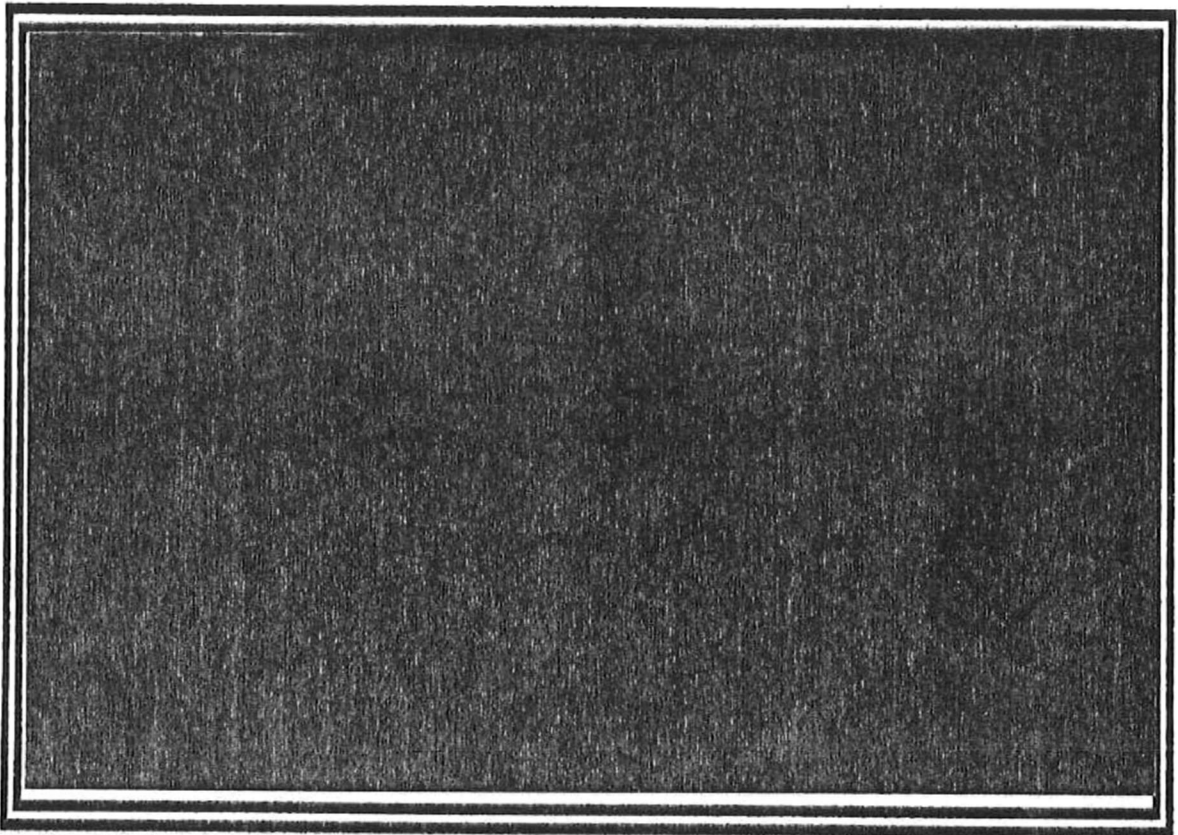


Figura 12.- Célula binucleada presentando dos micronúcleos cuyo tamaño es  $1/3$  parte del núcleo principal.



**Figura 13.-** Célula binucleada presentando dos pequeños micronúcleos. El tamaño de estas estructuras vario ampliamente.

son claras, aunque el análisis estadístico proporciona un valor de  $P = 0.887$  (Tabla XIV), mostrando que no existen diferencias significativas entre testigos y tratamientos.

Al igual que para el Azinfos metílico y en mayor proporción se detectó la presencia de diversos estados de daño celular.

La frecuencia con que se observaron células binucleadas con dos micronúcleos fue también ligeramente mayor que la observada para el Azinfos metílico con variaciones similares en el tamaño y en frecuencia.

Al igual que para el análisis de micronúcleos en células mononucleadas, la frecuencia de micronúcleos en los testigos positivos estuvieron muy por encima de los tratamientos.

#### Aberraciones Cromosómicas

Dada la baja tasa de división celular que resultó de los tratamientos, sólo fue posible realizar el análisis de aberraciones cromosómicas a concentraciones de 100, 50 y 20  $\mu\text{g/ml}$  en los que corresponde a Azinfos metílico.

Los resultados muestran un ligero incremento en la presencia de aberraciones cromosómicas con respecto a los testigos (Figura 14).

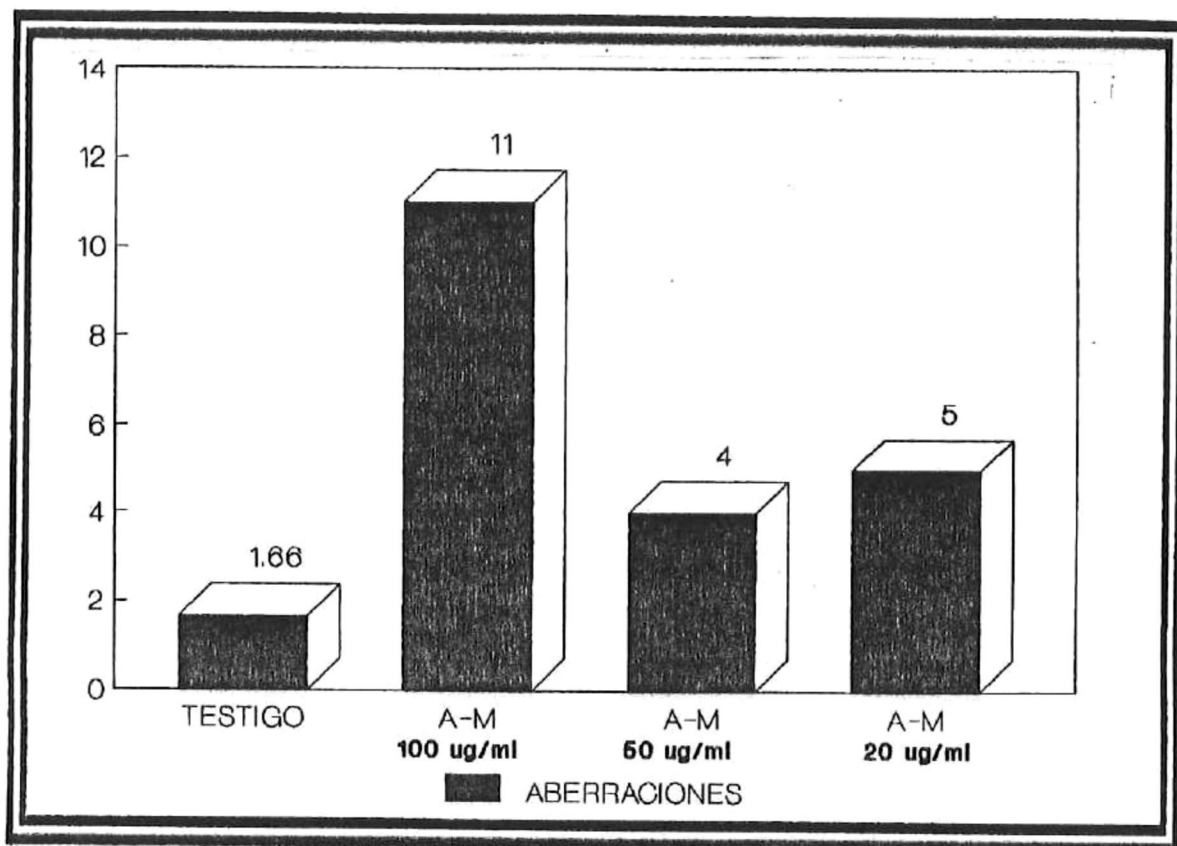


Figura 14.-Frecuencia de aberraciones cromosómicas encontradas entre la muestra testigo y células tratadas con Azinfos notílico a concentraciones 100, 50 y 20 ug/ml.

Las aberraciones detectadas fueron principalmente rupturas, fragmentos acéntricos, y en casos aislados de cromosomas tetrarradiados y pulverizaciones cromosómicas entre otras (Figuras 15, 16 y 17).

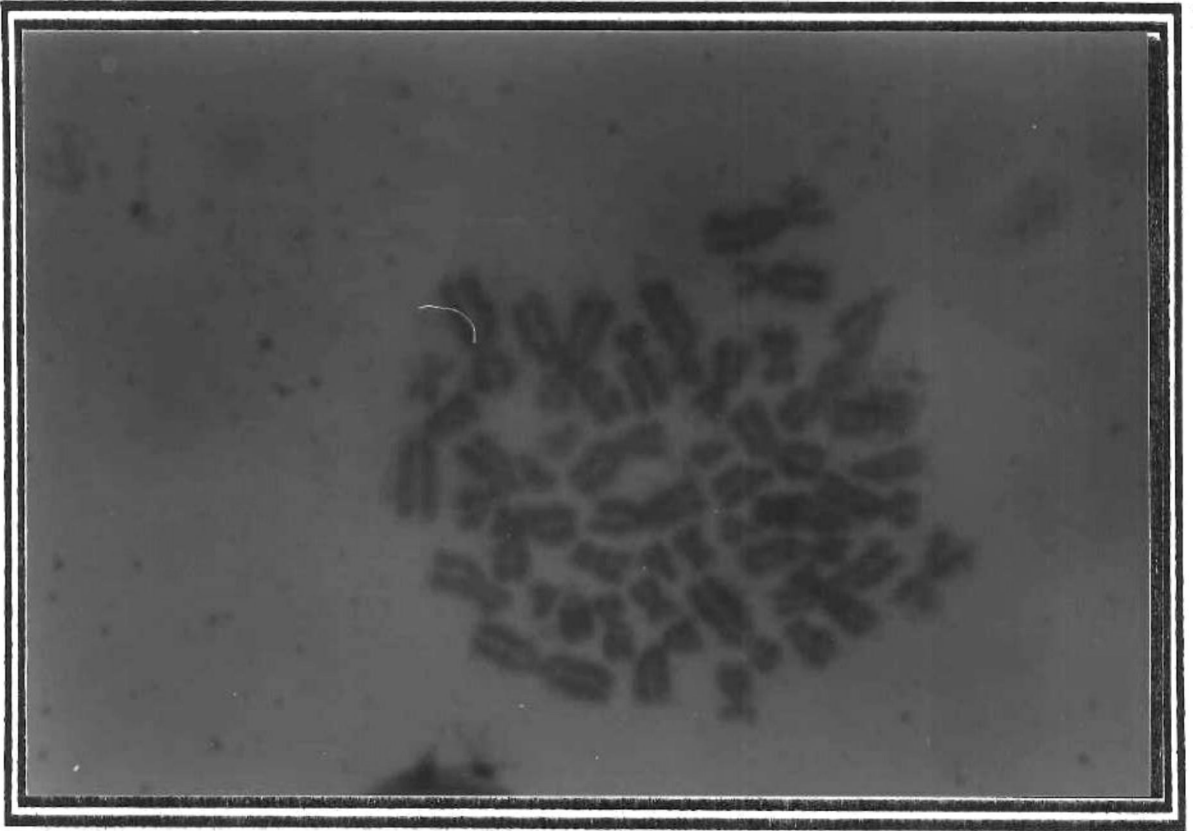


Figura 15.- Cromosomas metafásicos expuestos a Azinfos metílico mostrando fragmento acéntrico.

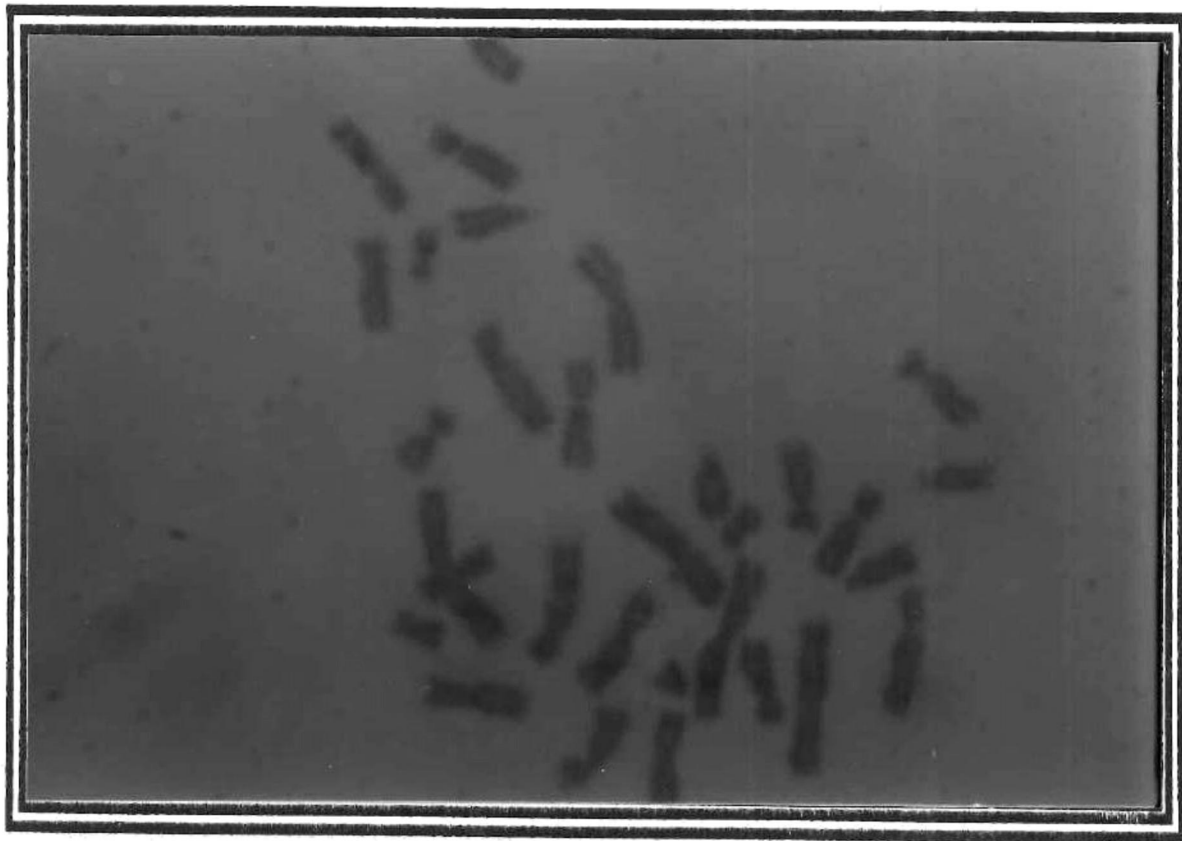


Figura 16.- Cromosomas metafásicos expuestos a Azinfos metílico con aberraciones cromosómicas: (1) brochas y cromosomas tetraradiados.

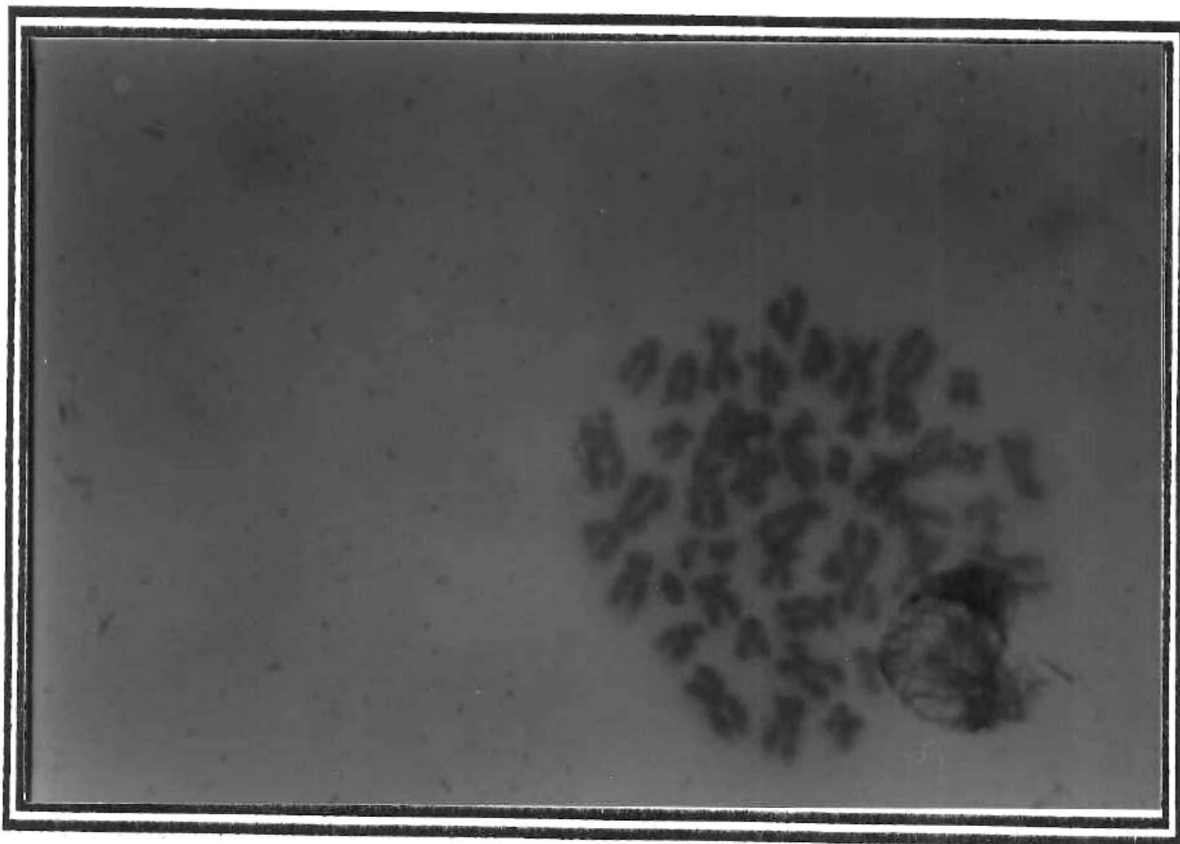


Figura 17.- Cromosomas metafásicos que expuestos a Azinfos metílico con aberraciones cromosómicas: (1) ruptura con pérdidas de fragmentos; (2) cromosomas con intercambios cromatídicos.

## DISCUSION:

### I SITUACION DE LOS PLAGUICIDAS EN EL MUNICIPIO DE ENSENADA, BAJA CALIFORNIA

En la Zona Costa de Baja California el uso de plaguicidas se ha venido dando de manera constante durante los últimos 50 años. De 1990 a la fecha, hay indicios del uso de mas de 80 principios activos comercializados, aproximadamente en 150 formulaciones diferentes. Esto es aproximadamente el 38% de los plaguicidas autorizados para ser utilizados en México.

Existen diversos aspectos que deben ser considerados en torno a los plaguicidas empleados, tanto en el Estado de Baja California, como en el resto del país. El primero de ellos se refiere a la forma en que estos son utilizados. Las observaciones realizadas en el campo mostraron serias deficiencias en todos los aspectos relacionados con el uso de los agroquímicos, partiendo del almacenamiento, los lugares de comercialización, transporte, aplicación y hasta la disposición final de los desechos.

El primer punto está relacionado con el personal que maneja los productos químicos, el cual en la mayoría de los casos no está debidamente preparado para su manejo, tanto en los centros de almacenamiento y comercialización como en los

campos agrícolas.

Resalta el hecho de la presencia de un número elevado de menores de edad laborando bajo condiciones de inseguridad, principalmente en las zonas agrícolas en donde se aplican.

Los conocimientos que las personas involucradas en el manejo de los plaguicidas tienen sobre estas sustancias tóxicas, por lo común son escasos y generalmente la información proporcionada se limita a la que se presenta en la etiqueta o en folletos cuyo principal fin es resaltar las virtudes de los plaguicidas, pero no los riesgos para humanos y otras formas de vida.

Las especificaciones raramente son proporcionadas y generalmente van dirigidas a presentar a los productos como extremadamente peligrosos, alta, moderada y ligeramente tóxicos; como inhibidores de la acetil-colinesterasa, para el caso de los compuestos organoclorados, organofosforados y carbámicos. Cuando es otro el mecanismo de acción, como en el caso de los herbicidas y fungicidas estos no son advertidos de los riesgos aunque en muchos de los casos las experiencias indican alta toxicidad, tales son los casos del Paraquat, 2-4 D, Diquat, Pentaclorofenol, Captan, y Benomil entre otros.

Muchos de estos compuestos tienen efectos mutagénicos cancerígenos, teratogénicos, esterilizantes, fetotóxicos como los indicados en las tablas III, IV y V. Además de los graves efectos crónicos de otro tipo como la neuropatía periférica tardía y el deficit neuro-psicológico.

Los locales comerciales y de almacenamiento, son por lo general, inadecuados y peligrosos, carecen de ventilación necesaria y con frecuencia están ubicados de manera inapropiada.

Muchos de estos establecimientos se localizan en zonas urbanas y en ocasiones están situados a corta distancia de los centros comerciales y las escuelas. Tal es el caso de la zona de Maneadero, en la cual se ubican por lo menos 10 comercializadoras, entre las más importantes Quimical S. A. de C. V., Agrocalifornia, Agrocosta, California Química y Agroquímica Yaqui;. En el valle de San Quintín y dentro de la zona urbana están distribuídos numerosos establecimientos similares, entre los más importantes, Quimical (Colonia Vicente Guerrero), Agrocosta, Cia Sym (esta última con un establecimiento en el Fraccionamiento Acapulco en Ensenada), Trical, Plaguicidas del Valle, y Agrotecnias de San Quintín, entre otras más.

Un problema notable es la forma en que son comercializados los plaguicidas ya que prácticamente no existe ningún requisito para la compra de un plaguicida, a pesar de los requerimientos especiales que debieran existir para su obtención. Existen referencias sobre la venta de productos altamente tóxicos a menores de edad y en recipientes improvisados tales como: frascos que fueron envases de leche, mermeladas, etc. Se llegó a obtener productos con categoría toxicológica I, como el Parathion Metílico, producto que está incluido dentro de la docena peligrosa (nombre asignado a un grupo de plaguicidas altamente tóxicos) y que son objeto de una campaña internacional para eliminarlos del mercado mundial por organismos como la "Pesticide Action Network"; que es una institución con oficinas en los cinco continentes. La forma en que son aplicados en ocasiones es inadecuada ya que no se respeta cantidades, concentraciones ni el número de aplicaciones. Algunas veces son utilizados en cultivos no autorizados y excediendo el número de aplicaciones (Díaz-Ortiz, 1992). Corresponde a la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos ejercer la acción legal correspondiente, sin embargo en la actualidad dicho control

se a limita supervisar el registro de los plaguicidas comercializados (Hernández, S.A.R.H. comentario personal 1994).

La utilización de equipos de seguridad es más bien la excepción que la regla, al igual que la determinación de de períodos de reingreso después de la aplicación de los productos. Con respecto a este último punto es necesario recordar que corresponde a la Secretaría de Salud llevar a cabo el control sanitario según lo especifica la Ley General de Salud en el Artículo 194, fracción III (SSA, 1987). Así mismo se hace responsable a esta misma Secretaría de la aplicación de la norma técnica 79 de la vigilancia epidemiológica de la salud en el trabajo según, se asienta en la declaración emitida en el Diario Oficial de la Federación (1987). La cual señala en el artículo 22 y 23 que "La vigilancia epidemiológica se llevará a cabo en personas con riesgo, caso probable y caso comprobado de exposición a plaguicidas organoclorados, organofosforados y carbamatos". Según comentario personal del Doctor Juan Manuel Ibañez Pedrín, jefe del Departamento de Regulación Sanitaria, esta norma se aplica sólo parcialmente a aplicadores, considerando el registro que se tiene en la propia dependencia.

Es conveniente señalar que fueron pocas las visitas a los campos agrícolas. Sin embargo, en todas ellas se pudo constatar la situación que priva en torno a los plaguicidas.

Además se desconoce en buena medida el destino de los recipientes contenedores de estas sustancias químicas ya que se carece de un confinamiento para residuos tóxicos de este tipo. En muchas de las ocasiones estos desechos pueden ser localizados en los márgenes de los campos de cultivo, en los canales de riego y es común la reutilización de los contenedores grandes como depósitos de agua en las zonas rurales. Existen casos de muertes y malformaciones congénitas asociadas a envenenamientos ocasionados por reutilizar los recipientes desechados en diversos poblados a lo largo de la costa entre Ensenada y San Quintín. Así mismo es reconocida la existencia de basureros clandestinos (José Luis Aguilar, Instituto de Ecología. Comentario personal. 1994).

Otro punto importante es el referente a la toxicidad de los plaguicidas utilizados.

La Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST), es a su vez la encargada de registrar,

autorizar y controlar el uso de plaguicidas, basados en la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente, la Ley General Fitosanitaria, la Ley General de Salud y la Ley General de Metrología y Normalización. Las cuales regulan las actividades de las cuatro dependencias involucradas en ésta comisión que son Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL), Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH), Secretaría de Salubridad y Asistencia (SSA) y la Secretaría de Comercio (SECOFI).

Mediante la elaboración del catálogo oficial de plaguicidas la comisión establece los productos prohibidos, restringidos y aquellos que pueden ser utilizados.

Los criterios para el establecimiento del grado de toxicidad de estos productos se siguen basando en la Dosis Letal ( $DL_{50}$ ) y la Concentración Letal ( $CL_{50}$ ), considerando la clasificación recomendada por la Organización Mundial de la Salud. Actualmente se ha introducido el concepto de "Potencial Tóxico" [pT] que combina la  $DL_{50}$  con el cálculo de la concentración molar. Esto permite obtener una escala en la que cada incremento de unidad absoluta significa un incremento de diez veces en la toxicidad de un compuesto dado. La fórmula para calcular el pT es:

$$pT = \frac{1}{[T]} = -\text{Log}(T)$$

En donde pT es el potencial tóxico y  $-\text{Log}(T)$  es el logaritmo base 10 de la función inversa de la concentración molar del compuesto en estudio. El valor (T) se obtiene al convertir la  $DL_{50}$ , expresada en mg/Kg, a gramos y de dividir el resultado entre el peso molecular.

Aunque este concepto permite establecer la toxicidad en una base molar, expresa la misma en números absolutos y elimina los términos ambiguos, no deja de ser aproximaciones al potencial tóxico real.

Por otra parte, da lugar a la utilización de compuestos altamente peligrosos cuyas  $DL_{50}$  y  $CL_{50}$  son poco significativas, como son: el Clordano, Paraquat, Fenamifos y Benomil, por citar solo algunos que han sido prohibidos en muchos países, pero siguen autorizados para su uso en México. Esto a pesar de que, como se mencionó anteriormente, la ley prohíbe el uso de plaguicidas restringidos en otros países (Capítulo III, Artículo 14, Ley de General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente, S.E.D.U.E., 1988).

La información sobre el grado de toxicidad que se

manejan en el país, frecuentemente es confusa principalmente en lo que se refiere a la clasificación toxicológica. Existen contradicciones entre la información que proporciona la propaganda de las compañías fabricantes, el catálogo de CICOPLAFEST y aquella obtenida de los estudios realizados por la E.P.A. Por ejemplo el Clordano es presentado como un pesticida ligeramente tóxico y al mismo tiempo aparece dentro del listado de plaguicidas restringidos (Diario Oficial de la Federación, 1991; CICOPLAFEST, 1993). Este mismo plaguicida ha sido causante de algunos envenenamientos masivos graves (tabla II, con miles de personas afectadas (Hayes, 1991) y ha sido retirado del mercado de los Estados Unidos por su efecto carcinogénico comprobados (Doulls 1989). Así mismo el Carbofuran, que es un nematocida e insecticida es catalogado por CICOPLAFEST como un pesticida de categoría II y III (moderadamente y ligeramente tóxico, respectivamente) mientras que las compañías formuladoras lo presentan como altamente tóxico (categoría I).

El Catálogo proporciona además información técnica sobre dosificación, cultivos en los que se permite utilizar cada uno de los plaguicidas, sin embargo no cita nada acerca de los tiempos de reingreso, número de aplicaciones, ni un

listado de los plaguicidas cuyos efectos mutagénicos, carcinogénicos teratógenicos, embrio-tóxicos, feto-tóxicos, y esterilizantes se hayan comprobados. Así mismo se omite por completo cualquier referencia a los componentes inertes o sustancias dentro de las que se disuelve el principio activo del pesticida y que en mucha de las ocasiones están formados por compuestos aromáticos altamente tóxicos como el Xileno.

A la fecha a sido difícil establecer los efectos mutagénicos, carcinogénicos y teratógenicos de los plaguicidas, aunque existe información sobre algunos de ellos.

Otro punto importante a citar es el hecho de que el Cátlogo Oficial de Plaguicidas elaborado por el CICOPALFEST es un documento que sólo fue posible localizar en las oficina del Departamento de Control Fitosanitario de la SARH y tal oficina no realiza ninguna actividad de control sobre el uso de plaguicidas.

Las regulaciones para el control de plaguicidas que se ejercen en México son poco enérgicas en comparación con otros países. Así vemos que mientras que Guatemala, Egipto, Ecuador y Holanda prohíben al menos 14 de los 18 pesticidas de la llamada "docena peligrosa", en México sólo se prohíben

7; Luego mientras que la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos EPA, tiene una lista de 111 plaguicidas restringidos en dicho país (Moses, 1992), en México sólo se restringen 16 según lo especifica el catálogo de CICOPLAFEST, (se entiende por restringido aquellos productos que solo pueden ser utilizados bajo supervisión gubernamental). La EPA, para otorgar el registro de un pesticida requiere, entre otras cosas, lo que a continuación se citan: 1) Información físico-química de los plaguicidas, incluyendo lista de ingredientes activos e inertes, descripción del proceso de manufactura, producción de impurezas, hidrólisis en el ambiente, disipación terrestre, vida media, fotodegradación; 2) Toxicología, en donde se incluye toxicidad aguda oral, dermal, respiratoria, irritación ocular, toxicidad sub-crónica y crónica, información sobre mutagenicidad, carcinogénesis, defectos del nacimiento, reproducción y fertilidad y 3) Efectos ecológicos, incluyendo contaminación en ambientes acuáticos, toxicidad aguda en aves entre otras más (EPA, 1991), En México en cambio solo se solicita certificado de registro del país de origen, toxicidad aguda oral y dermal, y proyecto de etiqueta. Por otra parte existe una comunicación estrecha en cuanto al conocimiento de los

efectos agudos y crónicos entre los Estados Unidos, Canada, el Reino Unido y la Comunidad Económica Europea, mientras que con México no se establece firmemente dicho vínculo.

#### EFECTOS GENOTOXICOS Y CITOTOXICOS DE LOS PESTICIDAS AZINFOS METILICO Y OXIDEMETON METIL

En este trabajo se ha utilizado linfocitos humanos para evaluar el potencial genotóxico y citotóxico del Azinfos metílico y Oxidemeton-metil mediante la evaluación de cuatro pruebas (muerte celular, índice mitótico, micronúcleos, tanto en células binucleadas como en mononucleadas y aberraciones cromosómicas).

El uso de linfocitos humanos como un sistema de prueba diversos tipos de investigaciones data desde hace más de 50 años (Lerner y Dixon, 1973). Su utilidad para evaluar los efectos mutagénicos han sido ampliamente utilizados desde los años sesentas debido a las ventajas que implica la facilidad de mantenerlos en medio de cultivo por tiempo indefinido sin alterar su expresión fenotípica, incluyendo forma y función, además se pueden aislar y clonar con facilidad (Lerner y Dixon, 1973).

La depuración de las técnicas de cultivo de linfocitos y la incorporación de nuevas técnicas como los de intercambio de cromátidas hermanas y micronúcleos a mediados de los

setentas, han resaltado la importancia que el linfocito tiene como un sistema animal experimental que proporciona información directa del daño que ocasionan las sustancias xenobióticas al ser humano.

Este sistema de prueba ha sido extensamente utilizado en México para evaluar los efectos mutagénicos de una gran variedad de compuestos químicos, incluyendo pesticidas (Cortinas de Nava *et al.*, 1980; Gomez-Arroyo *et al.*, 1992).

En el trabajo que aquí se presenta se ha tomado al linfocito humano para evaluar los efectos genotóxicos de dos pesticidas organofosforados de amplio uso y en torno a los que se ha generado algunas controversias debido a la falta de evidencias convincentes. Los resultados son discutidos a continuación.

Como referencia inicial se consideran los resultados obtenidos del análisis del daño que presentan los testigos, que han servido como base para establecer el daño inducido en las células experimentales expuestas a un agente genotóxico.

El índice mitótico determinado bajo condiciones normales de cultivo se estableció en un promedio de 10.33 células en metafase por cada 1000 células.

Este promedio se encuentra dentro de los rangos que durante mucho tiempo se han tenido en el Laboratorio de Genética de la Facultad de Ciencias, UABC, por lo que se ha considerado adecuado para que sirva como referencia en el estudio que aquí se ha realizado.

La información obtenida del análisis de los testigos constituyen una referencia necesaria para una evaluación precisa del potencial genotóxico de las sustancias tóxicas.

En cuanto a la frecuencia con que aparecen micronúcleos en células mononucleadas y binucleadas, esta se determinó en 2.16 células con micronúcleos de un total de mil. Estos datos están dentro de los rangos obtenidos ya que varían entre 1.75/1000 (Nordenson *et al.*, 1988) y 5/1000 (Surrals *et al.*, 1990). El análisis de los testigos indica que no existen diferencias entre la frecuencia de células mononucleadas y binucleadas ya que las cifras detectadas son 1.6 para mononucleadas y 2.6 para binucleadas (Tabla VIII).

El tamaño de los micronúcleos en todas las muestras testigos siempre fue extremadamente inferior al del núcleo principal (Figura 10).

En lo que respecta a la frecuencia de aberraciones cromosómicas en los testigos, aquí se detectó un promedio de

1.6 aberraciones cromosómica por cada 20 metafases analizadas lo cual equivale al 5%.

Tales frecuencias coinciden con la de otros autores que han estudiado la tasa espontánea de mutación y cuyos valores detectados varían del 1% al 8% (Ivanov et al., 1978; Mattel et al., 1979; Evans, 1982; Heddner et al., 1982; Norman et al., 1985; Tawn, 1987; Matsumoto et. al., 1988).

Existe consenso en cuanto a que las diferencias entre la frecuencia de aberraciones cromosómicas espontáneas entre los diferentes investigadores es causada por factores tales como el tipo de población, la edad, hábitos alimenticios y diferencias técnicas propias de cada laboratorio. Por ello se recomienda que cada laboratorio determine dichos valores.

En cuanto a la información obtenida de los efectos del Azinfos metílico y el Oxidemeton metil se tiene lo siguiente.

El análisis de los efectos genotóxicos en linfocitos humanos presentan al Azinfos metílico (Tabla VIII), como un pesticida citotóxico que produce muerte celular, abatimiento del índice mitótico y aberraciones cromosómicas, a concentraciones tan bajas como 50  $\mu\text{g/ml}$ . Además, muestra un ligero incremento en la frecuencia de micronúcleos a concentraciones de 20  $\mu\text{g/ml}$  (Figura 9).

Por su parte, Oxidemeton metil, resultó ser el citotóxico de mayor potencia ya que produce muerte celular a concentraciones de 62  $\mu\text{g/ml}$  (Tabla VIII), reduciendo la tasa de división celular a concentraciones de 12  $\mu\text{g/ml}$  (Figura 7) e incrementa la frecuencia de micronúcleos en células binucleadas a 6 y 3  $\mu\text{g/ml}$  (Figura 9).

En lo que se refiere a muerte celular, ambos pesticidas mostraron ser capaces de provocarla a concentraciones tan bajas como 50  $\mu\text{g/ml}$  para caso del Azinfos metílico y 6  $\mu\text{g/ml}$  en Oxidemeton metil (Tabla VIII). Existe poca bibliografía que haga referencia a tal situación, no obstante que esta es ocasionalmente referida en diversos estudios relacionados con la exposición a pesticidas en pruebas *in vitro*.

La muerte celular constituye un fenómeno relativamente poco estudiado desde el punto de vista de la toxicología, su enfoque principal consiste en analizar muerte celular asociada a estados patológicos y desarrollo embrionario (Wyllie *et al.* 1980). Por otra parte, este proceso constituye parte de la dinámica regenerativa de algunos tejidos como el epitelial y el sanguíneo, las cuales se regeneran constantemente. No obstante algunos autores han destacado la importancia de diferenciar entre los procesos que conducen

a la muerte celular normal y aquellos que dan lugar a una muerte celular provocada accidental o experimentalmente (Wyllie *et al.*, 1980). En este trabajo se asume como una consecuencia de los efectos tóxicos que los dos pesticidas tienen sobre los linfocitos humanos cuando se exponen a períodos prolongados bajo las dosis señaladas.

Como se comentó previamente en los resultados, la muerte celular se presenta de manera total a 200  $\mu\text{g/ml}$  de Azinfos metílico y a 62  $\mu\text{g/ml}$  de Oxidemeton metil. Pero la muerte celular se sigue manifestando de diversas formas a concentraciones menores. También se hizo mención de la presencia de diversos estados de necrosis incluyendo células con núcleos heteropícnóticos y núcleos cariorrécticos que representan dos situaciones de cititoxicidad diferentes. La importancia de esta información radica principalmente en el hecho de que son evidencias que pueden llevarnos a comprender diversas manifestaciones clínicas tales como las represiones inmunológicas que resultan de intoxicaciones agudas y sub-crónicas de algunos plaguicidas así como el envejecimiento prematuro que ocasiona la pérdida de la funcionalidad real las células y que finalmente llevan a la muerte de los tejidos (Vilenchik,

1987). Además, la muerte celular en estadios tempranos del desarrollo embrionario, puede dar lugar a malformaciones debido a que algunas estructuras aun no completan su desarrollo.

Con respecto al índice mitótico, la acción citotóxica de este tipo es común a todos los compuestos organofosforados (Chen *et al.*, 1981, citado por Altamirano-Lozano *et al.*, 1989). Sin embargo pocas veces es referido en términos de toxicidad real para las células expuestas a contaminación física, química y biológica.

Altamirano-Lozano *et al.* (1989), señalaron la importancia que tiene la determinación del índice mitótico como parámetro para medir toxicidad. Por su parte, Vilenchik (1987), mencionó que el índice mitótico es un fenómeno importante que se encuentra involucrado con los procesos de envejecimiento prematuro, ya que la disminución de la capacidad reproductiva de las células lleva consigo la disminución en la síntesis de factores relacionados con el mantenimiento y funcionalidad de tejidos, órganos y sistemas. Al igual que en el caso de muerte celular, el índice mitótico o índice de división celular, si es alterado, puede representar una causa importante en la generación de malformaciones cuando se

presenta en estados tempranos del desarrollo embrionario o fetal (Kitos y Suntornwat, 1992).

Azinfos metílico reduce significativamente la tasa de división celular a concentraciones de 50  $\mu\text{g/ml}$ , mientras que Oxidemeton metil lo hace a concentraciones tan bajas como 3  $\mu\text{g/ml}$ .

El efecto inhibitor de la división celular de estos compuestos se manifestó también por un decremento en la frecuencia de células binucleadas con respecto a las mononucleadas. La baja frecuencia de células binucleadas, significa que pocas células llegaron al estadio de metafase lo cual pudo ser causado por algún efecto de inhibición.

A 20  $\mu\text{g/ml}$  de Azinfos metílico el índice mitótico se colocó al nivel de los testigos y es precisamente a la concentración en que no se tuvo problema para evaluar la frecuencia de micronúcleos en células binucleadas. Aunque Oxidemeton metil manifiesta también decrementos del índice mitótico a concentraciones mas bajas, no se logra apreciar un efecto tan drástico ya que se obtuvo un buen número de células binucleadas que permitió realizar el análisis de micronúcleos.

El análisis de micronúcleos en células mononucleadas

expuestas a Azinfos metílico, permitió obtener información a concentraciones de 20  $\mu\text{g/ml}$ , ya que a concentraciones superiores (50 y 100  $\mu\text{g/ml}$ ) el análisis se dificultó debido a que se presentaron muchas células con citoplasma muy reducido. El incremento en la frecuencia de micronúcleos a 20  $\mu\text{g/ml}$  no es significativo con respecto a los testigos (Tabla VIII). En cuanto a Oxidemeton metil se obtuvo información de estos a 3 y 6  $\mu\text{g/ml}$ . Al igual que para el caso anterior, no se dieron diferencias significativas en las muestras testigos (Tabla VIII).

El análisis de células binucleadas, a diferencia de los anteriores, muestra un ligero incremento en la frecuencia de micronúcleos, tanto en Azinfos metílico como en Oxidemeton metil (Figura 9). El promedio de micronúcleos a concentraciones de 20  $\mu\text{g/ml}$  para Azinfos metílico fue de 6 y en Oxidemeton metil se presentó una frecuencia de 7.6 y 7 a concentraciones de 6 y 3  $\mu\text{g/ml}$ , como se indica en la figura 9.

El hecho de que la frecuencia de micronúcleos se incremente en células binucleadas es de interés ya que esto demuestra que durante el ciclo de generación celular ocurren daños directos sobre los cromosomas o alteraciones en el

aparato mitótico que dan lugar a fragmentos acéntricos o cromosomas retardados (o con centrómeros inactivados, expresión propuesta por Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini, 1983) que posteriormente son incorporados dentro de una envoltura diferente de la principal y que durante interfase aparece como un micronúcleo (Lasne *et al.*, 1985; Surrales *et al.*, 1990).

Otro aspecto interesante es la presencia de células binucleadas con dos micronúcleos, ya que esto puede interpretarse como daños en varios cromosomas que quedaron incorporados en dos micronúcleos.

El tamaño de los micronúcleos constituye un dato significativo, ya que esto habla de dos posibles mecanismos de acción; el primero es el de un agente mutagénico que actúa directamente sobre la estructura de un cromosoma produciendo rupturas que generan pequeños fragmentos cromosómicos que posteriormente se envuelven en una membrana nuclear para formar un micronúcleo. Bajo estas circunstancias, el tamaño de la estructura se espera sea pequeño, dado que se trata de solo un fragmento. Los agentes causales de dichos fenómenos son conocidos como clastógenos. El segundo es el de un agente, en este caso un pesticida que afecta a uno o más cromosomas o

que interfiere con el aparato mitótico responsable de llevar a buen término el fenómeno de la división celular. Si este tipo de agente actúa, por ejemplo, sobre las fibras del huso acromático, ásteres o en los centrómeros, ocasionará que uno o varios cromosomas no emigren de manera normal dando lugar a que una mayor cantidad de material genético pudiera envolverse en un micronúcleo adicional de gran tamaño. La figura 18 describe con mayor detalle uno de los modelos que plantean el origen de los micronúcleos durante la división celular.

En la literatura no se han encontrado referencias sobre la inducción de micronúcleos ni tampoco muerte celular e índice mitótico causado por Azinfos-metílico. En lo que a Oxidemeton metil se refiere, Vaidya y Nayana-Patankar (1980), realizaron estudios de micronúcleos en ratas expuestas a Metasistox. Ellos encontraron diferencias entre las ratas expuestas y los testigos, sin embargo, a diferencia de este trabajo, ellos evaluaron micronúcleos en eritrocitos policromáticos, pero no lo hicieron en células binucleadas.

Concluyen finalmente que Oxidemeton metil (Metasistox) es un compuesto mutagénico, aunque los mecanismos de acción no quedan bien aclarados.

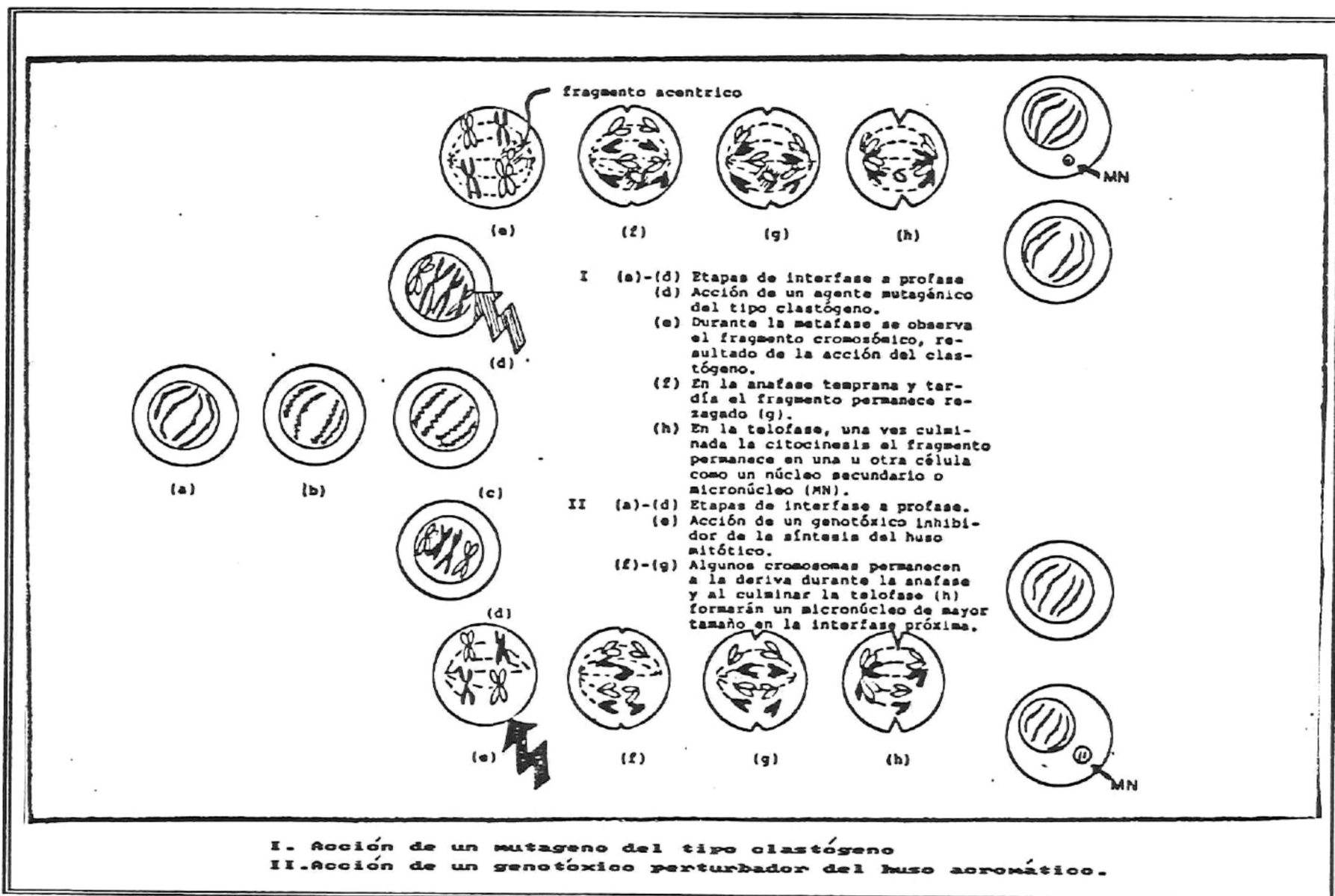


Figura 18.- Mecanismos de formación de micronúcleos

\* Tomado de Chávez-rosas, 1992.

Para finalizar en lo que al Azinfos-metílico se refiere, se ha observado que este compuesto induce a un incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas (AC). Resultados similares fueron reportados para cultivos de células de cricetos (hamster) y células de humanos (Alam y Kasitiya, 1975, citado en: Gallo y Lawryk, 1991). Sin embargo, Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini (1992), al utilizar el sistema de prueba de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) en linfocitos humanos, no encontraron diferencias significativas en la frecuencia de intercambio entre células expuestas y los testigos. Cabe hacer la aclaración que ICH y AC son fenómenos que representan daño genético pero de diferente tipo.

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran a Azinfos metílico como un compuesto citotóxico en varios grados ya mencionados: muerte celular, alteraciones del índice mitótico y un ligero incremento en la frecuencia de micronucleos en células binucleadas, además de que incrementan significativamente la frecuencia de aberraciones cromosómicas. Los resultados obtenidos complementan a los datos de los trabajos previos, en donde sólo se evaluaron uno o dos parámetros.

En relación a Oxidemeton metil, la información que existe en torno a sus efectos mutagénicos es confusa y no ha podido ser caracterizada adecuadamente. Mientras que Pandita (1983) y Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini (1992), no encuentran evidencias que lo señalen como genotóxicos para estudios de linfocitos humanos. Vaidya y Nayan-Patakar (1980) en estudios previos concluyeron que oxidemeton metil es capaz de incrementar la frecuencia de aberraciones cromosómicas.

Diversos estudios han mostrado el potencial tóxico de Oxidemeton metil en relación a malformaciones congénitas (Romero, *et al.*, 1989; Clemens *et al.*, 1990) y diversas pruebas bacteriológicas han mostrado su potencial mutagénico (Wild, 1975; Muley *et al.*, 1987), y sus efectos sobre el medio ambiente han sido también demostrados (Natarajan, 1989; Verma y Tonk, 1984).

En el presente trabajo se presenta a Oxidemeton metil como un pesticida altamente citotóxico en períodos prolongados de exposición con la capacidad de reducir la tasa media de división celular e incrementar la frecuencia de micronúcleos en células binucleadas. Este último punto constituye la principal aportación de este estudio en la determinación los efectos genotóxicos de este compuesto

organofosforado. Ya que se carecía de antecedentes sobre las pruebas de micronúcleos para este plaguicida.

El hecho de que aparezca un ligero incremento en la frecuencia de micronúcleos en células binucleadas, células con dos micronúcleos y de diversos tamaños constituye una evidencia del potencial genotóxico que ambos pesticidas representan para las células de los humanos.

## CONCLUSIONES

1.- El uso de plaguicidas en la Zona Costa de Baja California se hace en forma masiva, e indiscriminada, en términos de: número de aplicaciones, cosechas a las que se aplican los plaguicidas, en tiempos de reingreso después de la aplicación, en cuanto a equipos de seguridad y capacidad de las personas que realizan las labores relacionadas como son transporte, venta, almacenamiento, preparación, aplicación y manejo de los desechos agrícolas de este tipo.

2.- Falta de normatividad y vigilancia por parte de las dependencias gubernamentales encargadas de hacer cumplir las leyes que rigen el uso y manejo de plaguicidas así como de campañas efectivas de educación para reducir los riesgos de envenenamientos por plaguicidas.

3.- La falta de información para los agricultores y los jornaleros que manejan los agroquímicos, acerca de los riesgos que representan las exposiciones crónicas a este tipo de compuestos.

4.- Se carece de estudios epidemiológicos que permitan evaluar de manera efectiva los efectos crónicos de la exposición laboral o accidental a plaguicidas.

En torno a las pruebas de laboratorio se concluye que:

1.- Azinfos metílico (Quiazinfos M-200) es un producto altamente tóxico que en tiempos de exposición de 72 horas produce muerte celular, disminuye la tasa media de división e incrementa la frecuencia de micronúcleos y aumenta significativamente la presencia de aberraciones cromosómicas. Con esto se demuestra su potencial como agente genotóxico y citotóxico.

2.- Oxidemeton metil (Metasistox R-25) constituye un pesticida altamente tóxico que produce muerte celular y abatimiento del índice mitótico de manera significativa a concentraciones relativamente bajas en períodos de exposición de hasta 72 horas.. Su potencial genotóxico se evidencia mediante un incremento en la frecuencia de micronúcleos en células binucleadas.

## RECOMENDACIONES

1.- Se recomienda en principio, la elaboración de programas de educación sobre el uso y manejo de plaguicidas orientado a vendedores, agricultores y jornaleros, haciendo énfasis en los riesgos que implican las intoxicaciones crónicas y su relación con el cáncer, malformaciones congénitas y problemas reproductivos, incluyendo esterilidad y abortos espontáneos.

2.- Sería conveniente realizar estudios epidemiológicos de acuerdo a lo que marca la norma técnica número 75 de la Secretaría de Salud y que hace referencia a la exposición laboral o accidental y completar tales trabajos con otros, por ejemplo con experimentos *in vitro* como los que aquí se han presentado.

3.- Hacer cumplir las leyes en materia de residuos peligrosos para controlar la deposición final de los desechos agrícolas asociados a los agroquímicos tales como los pesticidas cáducos y los recipientes desechados.

4.- Realizar estudios para evaluar el potencial mutagénico de aquellos compuestos que se sospeche representen altos riesgos para la salud de los seres humanos y organismos silvestre y domésticos.

culturing leukocytes from whole blood. *Cytogenetics*.  
2:57-60.

Barcenas, P. C. y Albert, L. A. 1990. Coceptos básicos de toxicología. En Albert, L. A. Copilador, Los plaguicidas, el Ambiente y la Salud. Centro de ecodesarrollo. México, D. F.

Baticadas, M. C. L. y Tendencias, E. A. 1991. Effect of Gusathion A on survival and shell quality of juvenile *Panearus monodon*. *Aquaculture*. 39(1):9-19.

Behera, B. C. y Bhunya, S. P. 1989. Studies on the genotoxicity of Asataf (acephate). an organophosphate inecticide, in a mammalian in vivo system. 223:287-293. *Mutation Research*.

Braithwaite. I. y Ashby, J. 1988. A non-invasive micronucleos in the rat liver. *Mutation Research*. 203:23-32.

Bunhya, S. P. y Pati, P. C. 1988. Genotoxic effect os a synthetic pyrethroid insecticide, cypermethrin, in mice in vivo. *Toxicology Letters*. 41:223-230.

Chavez, R. L. 1992. Genotoxicidad en células epiteliales del tubo digestivo de *Mytilus californianus* (Conrad, 1837) de la Bahia de Todos los Santos. Tesis de Licenciatura.

- C.I.C.O.P.L.A.F.E.S.T. 1993. *Catálogo de Plaguicidas 1991*.  
México, D. F.
- Clemens, G. R., Hartnagel, R. E., Bara, J. J. y Thyssen.  
1990. Teratological, Neurochemical and Postnatal  
Neurobehavioral Assessment of METASYSTOX-R an  
organophosphate in the Rat. *Fundamental and Applied  
Toxicology* 14:131-143.
- Cortinas de Nava, C., Espinoza, J., Vega, S., Ostrosky,  
P. y Jiménez, I. 1984. Genotoxicidad de fármacos. En  
Contreras, M. C., Cortinas de Nava, C. and Barragan, L.  
A. (Edit). 1984. *Avances en el mecanismo de acción de  
fármacos*. Masson, México. p. 1-11
- Cortinas de Nava, C. Galvan, S. C. y Galindo, C. 1980. El  
riesgo genético de las compuestos químicos. *Ciencia y  
Desarrollo*. 32:200
- Dearfield K. L., Auletta, A. E., Cimmino, M. C. y Moore. M  
M. 1991. Considerations in the U. S. Enviromental  
Protection Agency's testing approach for mutagenicity.  
*Mutation Research*. 258(3)259-283.
- Diario Oficial de la Federación Tomo CCCC No 7. México, D. F.  
Lunes 12 de Enero de 1987.
- Diario Oficial de la Federación Tomo CDLV No 13. México, D. F.

1991.

- Doull, J. 1989. Pesticide Carcinogenicity: Introduction and background. En Ragsdale, N.N. and Menzer, R.E. (Edit) Carcinogenicity and Pesticide. American Chemical Society, Washintong, D. C. 142 pp
- El Nahas, S. M., de Hondt, H. A. y Ramadan, A. I. 1988. In Vivo Evaluation of the Genotoxic Potencial of Curacron in Somatic Cell of Mice. Enviromental and Molecular Mutagenesis. 11:515-522.
- Enviromental Protection Agency. Office of Pesticide programs. 1988. The Federal Insecticide Fungicide and Rodenticide Act as amed Rev. Washington, D. C.: U.S.
- Enviromental Protection Agency. 1991. EPA's pesticide Program. OPTS/OPP, Washington.
- Evans, H. J. 1982. Chromosomal mutation in human population. Cytogenetics. Cell Genetics. 33:48-56.
- Falkvoll, K. H. 1990. The ocurrence of apoptosis, abnormal mitoses, cells dying in mitosis and micronuclei in human melanoma xenograft exposed to single dosis irradiation Strahlentherapie and Onkologie 166(7):487-492.
- Fenech, M. y Morley, A. 1985. Measurement of micronuclei in lymphocytes . Mutation Research. 147:29-36.

- Gallo, M. A. y Lawryk, J. 1991. Organic Phosphorus Pesticides. En Hayes, Jr., W. J. and Laws, Jr., E. R. 1991. (Edit). Handbook of Pesticide Toxicology. Vol. 1. pp 283-295.
- Gatembberg H. W., Wuttke K., Streffer, C. y Muller, W. U. 1991. Micronuclei in human lymphocytes irradiated in vitro or in vivo. Radiation Research. 128(3):276-281.
- Global Pesticide Campaigner. 1991. World Pesticide Poisoning Estimate Increased. Global Pesticide Campaigner. 1(3):14 15.
- Gómez-Arroyo, S., y Villalobos Pietrini, R. 1983. Chromosomal alteration induced by some chromium salts. Cytologia. 48:185-193.
- Gómez-Arroyo, S., y Villalobos Pietrini, R. 1992. Respuesta Citogenética Diferencial a Insecticidas Organofosforados obtenida según el sistema de prueba. Memorias del III Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Genética; IV Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Mutagenesis, Carcinogenesis y Teratogenesis Ambiental. 15-18 de Noviembre de 1992. Mazatlan, Sin.
- Gómez-Arroyo, S., Nroiega-Aldana, N, Osorio, A, Galicia, F. Ling, y Villalobos Pietrini, R. 1992. Sister-Chromatid

- exchange analysis in a rural population of Mexico exposed to pesticides. *Mutation Research*. (281):173-179.
- Graedel, E. T. y Crutzen, J. P. 1989. The Changing Atmosphere. *Scientific American*. Special Issues. 261:(3) 28-36.
- Heddler, J. A., Hite, M., Kirkhart, B. Mavournin, K., McGregor, J. T., Nowell, G. W. y Salomone, M. F. 1983. The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A Report of the U. S. E. P. A.. Gene-Tox Program. *Mutation Research*. 123:61-118.
- Heddner, K., Hogstedt, B., Kolning, A. M., Mark-Vandel, E., Strombeck, B. y Mitelman, A. 1982. Relationship between sister chromatid exchanges and structural chromosome aberration in lymphocytes of 100 individuals. *Hereditas*. 97:237-245.
- Heyes, Jr, W. J. 1991. Introduction. En Hayes, Jr., W. J. and Laws, Jr., E. R. 1991. (Edit). *Handbook of Pesticide Toxicology*. Vol. 1. pp 283-295.
- I. I. B. 1980. Boletín de Efectos Carcinogénicos, Teratogénicos y Mutagénicos, I.I.B, U.N.A.M.
- Ivanov, B., Praskova, L., Mileva, M., Bulanova, M. y

- Georgieva, I. 1978. Spontaneous Chromosomal Aberration Level in Human Peripheral Lymphocytes. *Mutation Research*. 52:421-426.
- Jeminson, E. W., Brown, K., Rivers, B. y Knight, R. 1984. Cytogenetics effects of cyclamates. in Acton, R.T. and Lynn, J. D. *Advances in experimental medicine and biology*. Vol. 172.91-117.
- John, P. J., Saxena, R. y Prakash, A. 1990. Comparative acute toxicity of metasystox to heteropneustes-foddolis and ophiocephalus-striatus. *National Academic Science Letters-India*. 13:427-430.
- Johnson, B. T. 1986. Potencial impact of selected agricultural contaminant on a northern prairie wetland: A microcosm evaluation *Environ. Toxicol. Chem.* 5:473-485.
- Kitos, P. A. y Suntornwat, O. 1992. Teratogenic effects of Organophosphorus Compounds. (En Chambers, J. E. y Levi, P. E. Edit. *Organophosphates. Chemistry, Fate, and Effects*. 1990. Academic Press. 387-411 pp.
- Khazraju, A-L, Al-Iraqi, R. A. y Al Saffar, Z. Y. 1984. The relative susceptibility of *Culex pipiens molestus* Forskal to certain insecticides in niniva District,

Iraq. J. Biol. Sci. Res. 15:7-12.

- La Comisión Interinstitucional para el Desarrollo e Investigación sobre contaminación Ambiental por Plaguicidas. 1985. Literatura sobre los plaguicidas en el norte de México y el Suroeste de los Estados Unidos.
- Ladhar, S. S., Grover, I. S. y Randhawa, S. K. 1989. Mutagenicity of organophosphate pesticides metasystox and rogor. Indian Journal of Experimental Biology. 28:390-391.
- Lamb IV, J. C. 1989. Pesticide Regulation related to Carcinogenicity. En Ragsdale, N. N. y Menzer, R. E. (Editors) 1989. Carcinogenicity and Pesticides. Principles, Issues, and Relationships. American Chemical Society, Washington, D. C. 165 pp.
- Lasne, C. Gu, Z.W., Venegas, W. y Chouroulinkov. I. 1985. The in vitro micronucleus assay for detection of cytogenetic effects induced by mutagen-carcinogens: comparison with the in vitro sister-chromatid exchange assay. Mutation Research. 130:273-282.
- Lerner, R. A. y Dixon, F. J. (1973). The Human Lymphocyte as an Experimental Animal. Scientific American 228(6)82-91.
- Levine, R. 1991. Recognized and possible effect of

- Pesticides in Human. En Hayes, Jr., W. J. and Laws, Jr., E. R. 1991. (Edit). Handbook of Pesticide Toxicology. Vol. 1. p 283-295.
- Loera, R. y Albert, L. A. 1990. La Contaminación y el Desarrollo de los Plaguicidas Sintéticos. En Albert, L. A. (Coord.) Los plaguicidas el Ambiente y la Salud. Centro de Ecodesarrollo. 331 pp.
- Maky-Paakkanen , J. Walles, S., Osterman, S. y Norppa, H. 1991. Single-Strand Breaks, Chromosome Aberration, Sister-Chromatid Exchanges, and Micronuclei in Blood Lymphocytes Workers Exposed to Stirene During thye Production of Reinforced Plastics. Enviromental and Molecular Mutagenesis 17:27-31.
- Mathew, G. Rahiman, M. A. y Vijayalaxmi, K. K. 1990. In vivo genotoxic effect in mice of Metacid 50, an organophosphurus insecticide. Mutagenesis. 5:147-149.
- Matsumoto, M., Ando, M. y Ohta, Y. 1988. mutagenicity of monochlorodibenzofurans detected in the enviromental. Toxicology Letters. 40:21-28.
- Mattel, M. G., Ayme, S., Mattel, J. F., Aurrán, Y y Giraud, F. 1979. Distribution of spontaneous chromosomes breaks in man. Cytogenetics. Cell. Genet. 23:95-102.

- Mattison, D. R., Bogumil, R. J., Chapin, R., Hatch, M., Hendrickx, A., Jarrel, J. LaBarbera, A. L., Schrader, S. M. y Selevan, S. 1991. Introduction and Overview. En Baker, R. S. and Wilkinson, F. C. (Edit) The Effect of Pesticides on Human Health. Princenton Scientific Publisher Co., Inc. 5-33 pp.
- Meisner L. F., Belluck, D. A. y Roloff, B. D. 1992. Cytogenetics Effects of Alachlor and/or Atrazine In Vivo and In Vitro. Enviromental ans Molecular Mutagenesis. 19:77-82.
- Melo-Manzur, S. M. 1993. Conceptos Generales sobre Plaguicidas. En Memorias del curso de diagnóstico, tratamiento y registro e intoxicaciones por plaguicidas. Culiacan, Sin. 29-30 de Nov. 1993.
- Meng, Z., Q. y Zhang, L. Z. 1990. Observation of frequencies of limphocythes with micronuclei in humanperipheral blood cultures from workers in a sulphuric acid factory. Enviromental and Molecular Mutagenesis 15:218-220.
- Migliore, L., Parrini, M., Sbrana, I., Biagini, C., Battaglia, A. y Loprieno, N. 1991. Micronucleated lymphocytes in people ocupationally exposed to potential

- environmental contaminant: the age effect. *Mutation Research*. 256:13-20.
- Moreno, F. M. 1991. Intoxicaciones por Plaguicidas (Investigación Bibliográfica) Tesina. F. de C., U.A.B.C.
- Moses, M. 1992. Cosecha Dolorosa. Campesinos y Pesticidas parte II. Pesticide Education Center. 144 pp
- Muley, D. V., Akarate, S. R., Kulkarni, D. A. y Rao, K. R. 1987. Acute toxicity of metasytox to wedge clam, *Donax cuneatus* from west coast. *Fish Technol., Soc. Fish. Technol. Cochin*. 24:27-30.
- Mullie, W. C., Verwey, P. J., Berends, A. G., Sene, F., Koeman, J. H. y Everts, J. W. 1991. The impact of Furadan 3G (carbofuran) applications on aquatic macroinvertebrates in irrigated rice in Senegal. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 20:177-183.
- Nagao, M. y Sugimura, T. (1978). Environmental Mutagens and Carcinogens. *Ann. Rev. Genet.* 12:117-159.
- Natarajan, J. M. 1989. Changes in the carbohydrate metabolites during acute and chronic exposure of air-breathing fish *channa striatus* to oxidemeton-methyl (metasytox). *Comparative Physiology and Ecology* 14:181-184.

- Nordenson, I., Mild, H. K., Ostman, y Ljungberg, H. 1988. Chromosomal effects in lymphocytes of 400 kV-substation workers. *Radiat Environ Biophys* 27:39-47.
- Norman, A., Bass, D. and Roe, D. 1985. Screening human population for chromosome aberration. *Mutation Research*. 14:155-160.
- Pascoe, S. A. y Stemp, G. (1990). A modified method and staining technique for the in vitro micronucleus test in human lymphocytes using cytochalasin B. *Mutation Research*. 234:253-255.
- Pandey, N., Gundevia, F., Prem, A. S. y Ray, P. K. 1990. Studies on the genotoxicity of endosulfan, an organochlorine insecticide, in mammalian germ cells. *Mutation Research*. 242:1-7.
- Pandita, T. K. 1983. Chromosomal effects in lymphocytes of Metasystox R-25. *Mutation Research*. 124:97-102
- Preiss, U., Engelhard, G., Oehlmann, L. Wagner, K. y Wallnofer, P. R. 1986. Metabolism of demeton S-methyl sulfoxide (metasystox r) in cell suspension cultures of sugar-beet. *Chemosphere*. 15:961-970.
- Restrepo, I. 1988. *Naturaleza Muerta. Los plaguicidas en México*. Edit. Andromeda. 236 pp.

- Ramasawami, M. 1990. Adaptative trends in lipids levels of liver and muscle of *Sarotherodon mossambicus* (peters) exposed to sevin. *J. Ecobiology* 2:56-61.
- Rendon von Ostem, J y Albert, L. A. 1990. Efectos tóxicos a largo plazo de los plaguicidas. En Albert, L. A. Copilador, Los plaguicidas, el Ambiente y la Salud. Centro de Ecodesarrollo. México, D. F.
- Rincon Valdez, J. y Loera, R. 1986. La legislación sobre Plaguicidas en México. *Problemas de Contaminación en México.* 1:6-14.
- Romero, P., Barnett. P. G. y Midtling, J. E. 1989. congenital anomalies associated with maternal exposure to oxidemeton-methyl. *Enviromental Research.* 50:256-261.
- S.E.D.U.E. 1988. Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente. *Diario Oficial.* 23-25.
- S. A. R. H. 1991. Principales productos químicos aplicados en la zona. Documento no publicado.
- S. A. R. H. 1994. Avances del plan de cultivo. Documento no publicado.
- Scarfi, M. R., Bersani, F., Cossarizza, A., Castellani, G., Cadossi, R., Franceschetti, G. y Franceschi, C. 1991. Spontaneous and mithomycin-C induce micronuclei in human

- lymphocytes exposed to extremely low frequency pulsed magnetic field. Biochemical and Biophysical Research Communication. 176:194-200.
- S.S.A., 1987. Ley General de Salud. Dirección de Asuntos Jurídicos. México D. F.
- Sherkar, P. Y. y Kulkarni, K. M. 1988. Comparative evaluation of some organophosphate pesticide toxicity to the fish *Channa orientalis*. Environ. Ecol. 6:877-880.
- Siedenburg, K. 1991. Charting the demise of the dirty dozen. Global Pesticide Campaigner. 1(3):14-15.
- Smith, J. y Bates C. 1989. Cancer and Pesticide Exposure. En Ragsdale, N. N. y Menzer, R. E. (Editors) 1989. Carcinogenicity and Pesticides. Principles, Issues, and Relationships. American Chemical Society, Washington, D. C. 165 pp.
- Stone, D., Lamson, E., Chang, Y. S. y Pickering, K. W. 1969. Cytogenetics Effect of Cyclamates on Human Cell in vitro. Science. 164:568-569.
- Surrales J., Carbonell, E., Puig, M., Xamena, N., Creus, A. y Marcus, R. 1990. Induction of mitotic micronuclei by the pyrethroid insecticide fenvalerate in cultured human lymphocytes. Toxicology Letters. 54:151-155.

- Tawn, J. E. 1987. The frequency of chromosomal aberration in a control population. *Mutation Research*. 182:303-308.
- Tripathy, N. K. y Patnaik, K. K. 1992. Studies on the genotoxicity of monocrotophos in somatic and germ-line cell of *Drosophila*. *Mutation Research*. 278:23-29.
- Verma, S. R. y Tonk, I. P. 1984. Biomonitoring of the contamination of water by a sublethal concentration of pesticides. A system analysis approach. *Acta hidrochim. hidrobiol.* 12:399-409
- Vaidya, V. G. y Nayan Patankar. 1980. Studies on the cytogenetic effects of oxidemetonmethyl in the human leukocyte and mouse micronucleos test system. *Mutation Research*. 78:385-387.
- Villalobos-Pietrini, R., Gomez-Arroyo, S., Altamirano-Lozano M. A., Orosco, P. y Rios, P. 1989. Efectos citogenéticos de algunos celosoves. *Rev. Int. de Contam. Ambient.* 5:41-48
- Vilenchik, M. 1987. Fundamentos biológicos del envejecimiento y la longevidad. Ed. MIR. Moscú. 391 pp.
- Whorton, M. D. y Foliart, D. E. 1983. Mutagenecity, Carcinogenicity and reproductive effects of Dibromochloropropane (DBCP). *Mutation Research*. 123:13-30.

- Wild, D. 1975. Mutagenicity studies on organophosphorus insecticides. *Mutat. Res.* 32:133-150.
- Wilkinson, C. F. 1991. Introduction and Overview. En Baker, R. S. and Wilkinson, F. C. (Edit) *The Effect of Pesticides on Human Health.* Princenton Scientific Publisher Co., Inc. 5-33 p.
- Wyllie, A. H., Kerr, J. F. R. y Currie, A. R. 1980. Cell Death: The Significance of Apoptosis. *International Review of Cytology* 68(2):251-305.